



ARTIGO ORIGINAL

Alto nível de expressão de homocitrulina está correlacionado com ceratose seborreica e envelhecimento da pele^{☆,☆☆}



Juping Chen ^{a,b}, Jun Liu ^a, Zheng Wang ^{a,c}, Jiandan Xu ^a, Jia Tao ^a e Hualing Li ^{b,d,e,*}

^a Departamento de Dermatologia, Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou, PR, China

^b Institute of Translational Medicine, Faculdade de Medicina, Yangzhou University, Yangzhou, PR, China

^c Departamento de Patologia, Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou, PR, China

^d Jiangsu Key Laboratory of Experimental and Translational Non-coding RNA research, Yangzhou, China

^e Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou, China

Recebido em 28 de março de 2022; aceito em 16 de julho de 2022

PALAVRAS-CHAVE

Carbamiliação de proteínas;
Ceratose seborreica;
Envelhecimento da pele;
Homocitrulina

Resumo

Fundamentos: A homocitrulina (HCit) está envolvida em processos patológicos de algumas doenças. Entretanto, o papel e a função da HCit (CBL) na pele humana permanecem amplamente obscuros.

Objetivo: Investigar a correlação do nível de expressão da HCit em ceratose seborreica, envelhecimento da pele e seu significado clínico.

Métodos: Análise imuno-histoquímica foi utilizada para analisar os níveis de expressão de HCit em lesões cutâneas de pacientes com ceratose seborreica (CS), na pele não afetada (distante 0,5 cm da lesão de CS) e na pele normal de indivíduos saudáveis do grupo controle. O teste ELISA foi usado para detectar o nível sérico de CBL em pacientes com CS e indivíduos saudáveis de diferentes idades.

Resultados: A HCit estava localizada principalmente no núcleo das células epidérmicas. Na pele de controles saudáveis, a expressão de HCit aumentou com a idade e apresentou correlação positiva com a idade (coeficiente de correlação 0,806; $p=0,0002$). O nível de expressão da HCit nas lesões de CS foi maior do que na pele de controles saudáveis ($Z = -3,703$; $p=0,0002$). O nível sérico de CBL em indivíduos saudáveis e em pacientes com CS aumentou com a idade (coeficiente de correlação 0,5763; $p=0,0032$; 0,682; $p=0,004$, respectivamente). O nível sérico de CBL em pacientes com CS foi maior do que em indivíduos saudáveis ($Z = -2,19$; $p=0,030$).

DOI referente ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2022.07.002>

[☆] Como citar este artigo: Chen J, Liu J, Wang Z, Xu J, Tao J, Li H. High expression level of homocitrulline is correlated with seborrheic keratosis and skin aging. An Bras Dermatol. 2023;98:324–30.

^{☆☆} Trabalho realizado no Central Laboratory, Affiliated Hospital of Yangzhou University, YZ, China.

* Autor para correspondência.

E-mail: 2274292599@qq.com (H. Li).

Limitações do estudo: Pequeno tamanho da amostra de soros.

Conclusão: Alto nível de expressão da HCit está correlacionado com ceratose seborreica e envelhecimento da pele, e HCit pode ser um dos potenciais biomarcadores do envelhecimento da pele.

© 2022 Sociedade Brasileira de Dermatologia. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

O envelhecimento da pele é um processo longo e complexo e representa a manifestação externa do envelhecimento.¹ Cientistas desenvolveram o SCINEXA, um sistema de escore clínico para o envelhecimento da pele. Ele avalia o envelhecimento da pele com base em cinco índices: pigmentação irregular, rugas da pele, flacidez da pele, tecido adiposo reduzido e tumores cutâneos benignos.² A ceratose seborreica (CS) é o tumor cutâneo benigno mais comum, e uma das lesões que indicam o envelhecimento cutâneo. Em geral, a CS também é conhecida como papiloma de células basais é um tumor intraepidérmico benigno, causado por atraso na maturação dos queratinócitos.³ A incidência de CS aumenta com a idade.⁴

Com o aumento da idade, as células imunes residentes na pele gradualmente envelhecem, um processo que enfraquece a capacidade de reparação do tecido cutâneo. Além disso, fatores externos como radiação ultravioleta, poluição do ar e fatores internos como diabetes *mellitus* e doenças vasculares aceleram ainda mais o envelhecimento dos tecidos cutâneos. Durante o ciclo de vida de um organismo, as proteínas são expostas a vários estresses metabólicos, causando mudança gradual nas propriedades estruturais e funcionais dos tecidos cutâneos. Esse fenômeno é desencadeado principalmente por modificações não enzimáticas pós-translacionais de proteínas (nePTMs, *non-enzymatic post-translational protein modifications*), como reações de glicosilação e carbamilação.⁵ A reação de carbamilação é um processo no qual um cianato e seu isômero estrutural, ou seja, o isocianato, combinam-se com grupos funcionais livres de proteínas, peptídeos ou aminoácidos livres.⁶ Na reação de carbamilação, diferentes grupos funcionais interagem e produzem diferentes derivados carbamilados; essa reação ocorre preferencialmente no grupo ϵ -amino da lisina e forma N(6)-carbamoil-L-lisina (CBL), comumente conhecida como homocitrulina (HCit)⁷ – o produto mais característico derivado da reação de carbamilação de proteínas. Estudos anteriores relataram que a reação de carbamilação de proteínas está envolvida em processos patológicos de doenças crônicas, como doença renal crônica, aterosclerose e artrite reumatoide.^{8–10} Por outro lado, poucos estudos investigaram o papel da reação de carbamilação de proteínas no processo de envelhecimento da pele. Gorisse et al.¹¹ analisaram quantitativamente o conteúdo de HCit em extratos de pele total e isolaram proteínas de colágeno tipo I de pele humana, de bovinos e de camundongos. Eles descobriram que a concentração de HCit aumenta significativamente com o aumento da idade. Os autores realizaram uma avaliação com imunofluorescência da epiderme e derme

obtidas de indivíduos de 20 a 80 anos de idade. Os resultados indicam que nos tecidos cutâneos de indivíduos de 80 anos, as proteínas de colágeno tipo I da epiderme e da derme exibem fluorescência mais forte, mostrando maior deposição de proteínas carbamiladas nesse grupo.

Carracedo et al.¹² analisaram proteínas carbamiladas no sangue de indivíduos saudáveis. Eles descobriram que no grupo de indivíduos idosos (60 a 79 anos), o nível de proteína carbamilada era maior do que no grupo de indivíduos jovens (20 a 39 anos) e no grupo de indivíduos de meia-idade (40 a 59 anos). Todos esses resultados indicam que existe correlação entre HCit, idade e senescência. A CS é tumor muito comum em dermatologia, e alguns estudos relataram que a CS ocorre por mutação do fator de crescimento de fibroblastos 3 (FGFR3).^{13,14} Christian Hafner et al. descobriram que 57% dos pacientes com CS tinham mutação no FGFR3; além disso, verificou-se que a mutação do FGFR3 estava significativamente associada ao aumento da idade, e as frequências da mutação do FGFR3 eram significativamente maiores na região da cabeça e pescoço, porém menores no tronco e nos membros dos pacientes. Isso indica que a CS ocorre por exposição aos raios UV e envelhecimento local da pele. Além disso, a CS está mais correlacionada com a idade.⁴ A doença de Alzheimer é manifestação do envelhecimento em seres humanos. Kang M J et al. descobriram que as proteínas precursoras de amiloide (APP, *amyloid precursor proteins*) estão relacionadas com a doença de Alzheimer. Eles chegaram a um consenso de que a “placa senil” no cérebro é um marcador especial da doença de Alzheimer, e a mesma é formada em decorrência do acúmulo da proteína β -amiloide (um produto de degradação), produzida por um processo proteolítico sequencial de clivagem de APP.¹⁵ Em estudo conduzido por Li Y et al., as APP foram maiores em pacientes com CS e aumentaram com a idade dos pacientes.¹⁶ Esses estudos mostram que a CS não é apenas uma manifestação do envelhecimento da pele, mas também está relacionada com o envelhecimento humano. Atualmente, o envelhecimento tem muitas manifestações e métodos de detecção, mas não apresenta nenhum indicador objetivo especial para avaliação laboratorial. A fim de fornecer evidências mais favoráveis e estabelecer a correlação entre HCit e envelhecimento da pele, os autores investigaram os diferentes níveis de expressão de HCit em pacientes com CS e na pele normal de controles saudáveis para determinar se a HCit pode refletir a diferença entre peles envelhecidas e não envelhecidas. Os autores também determinaram se houve variação do nível sérico de CBL entre indivíduos saudáveis e pacientes com CS, comparando ainda os níveis de expressão sérica de CBL entre indivíduos saudáveis e pacientes com CS de diferentes idades com base nos predecessores.

Tabela 1 Dados demográficos dos grupos estudados

	Indivíduos saudáveis		Pacientes com CS	
	Pele	Soro	Pele	Soro
n	16	16	19	16
Idade (anos)				
Média (DP)	61,4 (13,6)	56,9 (18,2)	50,2 (17,7)	54,6 (17,1)
Sexo, n (%)				
Masculino	16 (100%)	16 (100%)	19 (100%)	16 (100%)
Feminino	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Região onde a pele foi coletada	Região mamária		Região mamária	
Fotodano	Não		Não	

As amostras de pele e soro não foram coletadas dos mesmos indivíduos. CS, ceratose seborreica.

Materiais e métodos

Coleta de espécimes clínicos

Este estudo foi realizado entre setembro de 2018 e junho de 2020. As lesões cutâneas e a pele não afetada em pacientes com CS, confirmada por histopatologia, foram tratadas no Departamento de Dermatologia do Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu, China. As amostras de pele de controles saudáveis (sem qualquer doença de pele) de diferentes idades foram coletadas do Departamento de Cirurgia Plástica do Affiliated Hospital of Yangzhou University Yangzhou, Jiangsu, China. Todas as amostras foram analisadas pelo mesmo dermatologista. Em relação às amostras de pele, havia 19 pacientes com CS no grupo experimental, e suas idades variaram de 41 a 82 ($61,4 \pm 13,6$) anos; por outro lado, havia 16 indivíduos saudáveis no grupo controle, e suas idades variaram de 23 a 82 ($50,2 \pm 17,7$) anos. As lesões cutâneas, a pele não afetada em pacientes com CS e a pele de controles saudáveis de diferentes idades foram todas amostras de pele da região mamária colhidas de indivíduos do sexo masculino. A pele não afetada foi coletada a 0,5 cm da lesão de CS. Todas as amostras de soro foram coletadas no Departamento de Dermatologia e Centro de Exame Físico do Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu, China. As amostras de soro foram coletadas de homens; entre eles, 16 eram indivíduos saudáveis: oito deles estavam na faixa etária de 30 a 49 anos, com média de idade de $39,5 \pm 6,3$ anos. Oito indivíduos tinham mais de 60 anos, com média de idade de $74,25 \pm 6,27$ anos. Em 16 pacientes com CS com amostras de soro, oito estavam na faixa etária de 30 a 49 anos, com média de idade de $38,5 \pm 5,15$ anos. Os oito restantes tinham mais de 60 anos, com média de idade de $70,6 \pm 7,85$ anos (tabela 1).

Foram excluídos deste estudo os pacientes portadores de doenças crônicas, como hipertensão, diabetes *mellitus* e cardiopatias. Além disso, pacientes com outras doenças como doença renal, doenças autoimunes ou tumores malignos também foram excluídos. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica do Affiliated Hospital of Yangzhou University, Jiangsu, China (aprovação nº NO2018525). Todas as amostras foram coletadas de pacientes que assinaram o termo de consentimento informado.

Análise imuno-histoquímica

Após a coleta os fragmentos de pele foram emblocados em parafina e submetidos a cortes histológicos. Em seguida, esses cortes foram submetidos a vários processos, como desparafinização, desidratação, reparo antigênico, bloqueio de peroxidase endógena, bloqueio de soro, anticorpo primário HCit (anticorpo policlonal de coelho anti-humano, Covalab Company, Bron, região de Rhone-Alpes, França). A concentração de uso do anticorpo HCit foi de 1:60. Anticorpo secundário anti-coelho de cabra (Beijing Zhongshan Goldenbridge Biotechnology Co. Ltd., Pequim, China), cromóforo 3,3'-diaminobenzidina (DAB), contra-coloração com hematoxilina, desidratação, transparência, e montagem em lâminas de vidro para observação. Finalmente, as imagens foram obtidas e o nível de expressão da HCit foi analisado por dois dermatopatologistas. A expressão imuno-histoquímica de HCit foi observada em microscópio com a objetiva de pequeno aumento (Olympus Corporation, Tóquio, Japão): dez campos microscópios de grande aumento ($400 \times$) foram selecionados aleatoriamente para observação em cada secção, e o escore foi determinado de acordo com a intensidade da coloração e a porcentagem de células positivas na epiderme que foi pontuada de 0-4 pontos: < 5%, 0 ponto; 5%-25%, 1 ponto; 25%-50%, 2 pontos; 50%-75%, 3 pontos; \geq 75%, 4 pontos. A intensidade da coloração foi pontuada de 0-3 pontos: sem coloração, 0; amarelo-claro, 1; amarelo-acastanhado, 2; castanho cor-de-chocolate, 3. Esses pontos foram multiplicados para obter o escore final. e quanto maior o escore, mais forte era a expressão positiva de HCit.

Ensaio imunossorvente ligado a enzima (ELISA)

HCit é um tipo de derivado proteico carbamilado, que ocorre preferencialmente no grupo ϵ -amino da lisina e forma N(6)-carbamiloil-L-lisina,⁷ também chamada de carbamil-lisina (CBL). A quantidade de CBL em amostras proteicas pode representar o nível de carbamilação das proteínas, comumente conhecido como HCit. Amostras de sangue foram coletadas de indivíduos saudáveis e pacientes com CS de diferentes idades. Após a centrifugação das amostras de sangue, os sobrenadantes foram armazenados em geladeira a -80°C ou utilizados diretamente no experimento

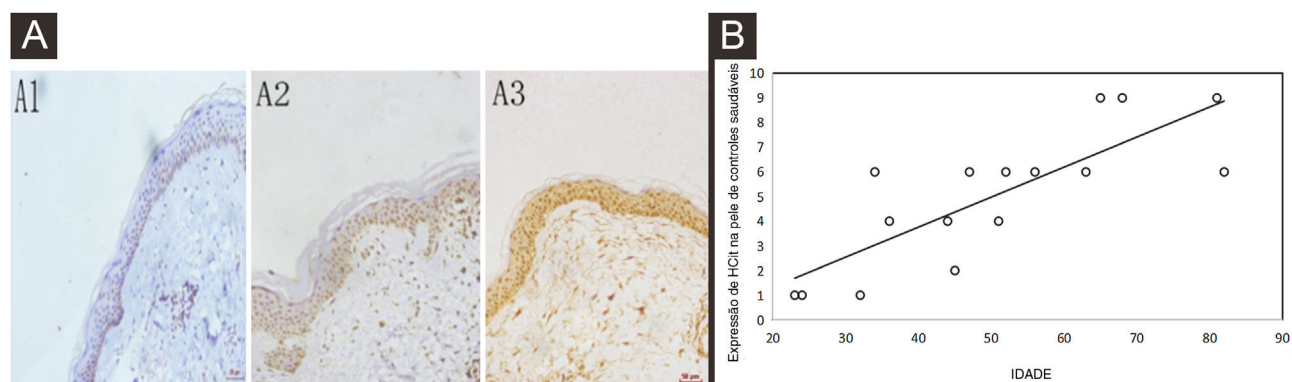


Figura 1 Expressões de homocitrusina na pele de controles saudáveis de diferentes idades. Dez campos microscópicos de grande aumento ($400\times$) foram selecionados aleatoriamente para observação em cada secção, e o escore foi computado de acordo com a intensidade da coloração e a porcentagem de células positivas na epiderme que foi pontuada de 0 a 4 pontos: < 5%, 0 pontos; 5%-25%, 1 ponto; 25%-50%, 2 pontos; 50%-75%, 3 pontos; $\geq 75\%$, 4 pontos. A intensidade da coloração foi pontuada de 0 a 3 pontos: sem coloração, 0; amarelo-claro, 1; amarelo-acastanhado, 2; castanho cor-de-chocolate, 3. Os pontos foram multiplicados para obter o escore final e, quanto maior o escore, mais forte era a expressão de HCit. Os dados medidos foram expressos como média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$). (A), Imagens representativas da análise imuno-histoquímica de diferentes idades (A1: 32 anos; A2: 51 anos; A3: 81 anos). (B), Gráfico de correlação representativa entre a idade e o escore imuno-histoquímico da pele de controles saudáveis de diferentes idades. O coeficiente de correlação foi 0,806; $p=0,0002$. Os dados foram analisados utilizando a correlação de Pearson. HCit, homocitrusina.

Tabela 2 Comparação da expressão de homocitrusina em lesões de ceratose seborreica e pele de controles saudáveis, lesão de ceratose seborreica e pele não afetada

Grupo	Casos	Escore da expressão de HCit	p-valor
Lesão de CS	19	9 (6,9)	
Pele não afetada	19	9 (9, 9)	0,056
Pele de controles saudáveis	16	6 (3,5, 6)	0,0002

A pele não afetada foi coletada a 0,5 centímetros da lesão de pele CS.
HCit, homocitrusina; CS, ceratose seborreica.

seguinte. A amostra de teste e o padrão de CBL-BSA foram adicionados a uma placa revestida com anticorpo anti-CBL (carbamil-lisina; Cell Biolabs Corporation, San Diego, Califórnia, EUA), e essa placa foi incubada a 37°C por 2 horas. O conteúdo de CBL foi determinado comparando a curva amostral com a curva padrão, obtida do padrão CBL-BSA.⁷

Análise estatística

O *software* SPSS 22.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, EUA) foi utilizado para análise e processamento dos dados. Os dados que exibiam distribuição normal foram expressos como média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm \text{D.P.}$). Um teste *t* de amostra independente ou teste *t* pareado foi realizado para a comparação dos dois grupos. Os dados que exibiam distribuição não normal foram expressos como M (P25, P75). O teste *U* de Mann-Whitney foi realizado para comparar duas amostras independentes. A correlação entre variáveis contínuas foi determinada utilizando o coeficiente de correlação de Spearman. Uma curva característica de operação do receptor (ROC, *receiver operating characteristic*) foi usada para analisar o valor diagnóstico de HCit para CS. Além disso, o índice de Youden da curva ROC também foi usado para determinar os valores críticos de precisão,

sensibilidade e especificidade. Neste experimento, $p < 0,05$ indicou diferença estatisticamente significativa.

Resultados

A expressão de HCit em pele saudável dos controles aumentaram com a idade pela análise imuno-histoquímica.

Ao realizar a imuno-histoquímica na pele de controles saudáveis, foi verificado que os núcleos dos queratinócitos apresentavam coloração marrom-amarelada, e a intensidade da coloração aumentou com a idade dos indivíduos (fig. 1A). Além disso, o escore imuno-histoquímico foi correlacionado com a idade dos indivíduos, com coeficiente de correlação de 0,806; $p=0,0002$ (fig. 1B).

A expressão do HCit em lesões de CS foi maior do que na pele de controles saudáveis pela análise imuno-histoquímica.

A expressão de HCit em lesões de CS foi superior à da pele de controles saudáveis ($Z = -3,703$; $p=0,0002$; tabela 2, fig. 2A e B). A expressão de HCit nas lesões de pele dos pacientes com CS não foi correlacionada com a idade dos pacientes (coeficiente de correlação=0,165; $p=0,499$). A curva ROC da HCit previu o diagnóstico de CS; o valor da área sob a curva (AUC, *area under the curve*) foi 0,8520;

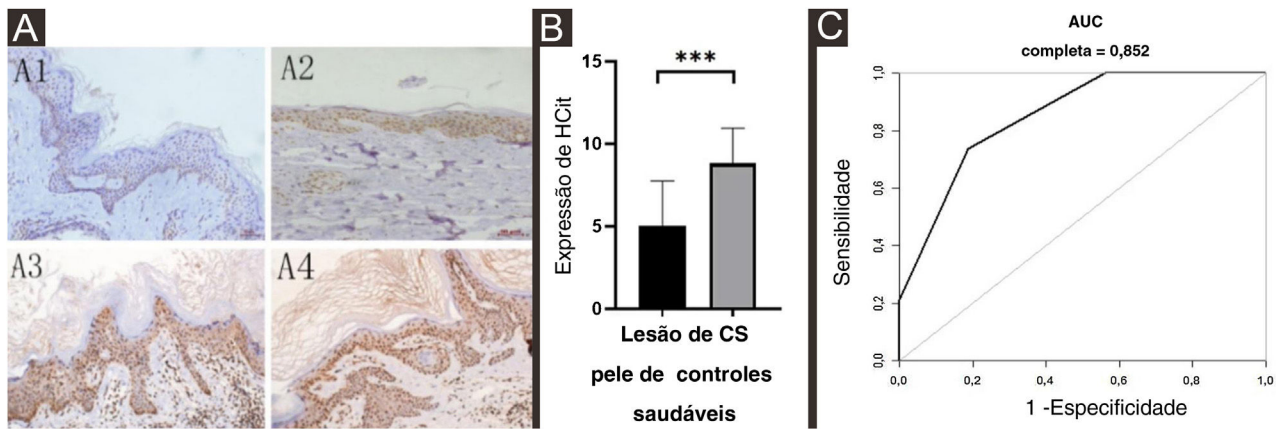


Figura 2 Níveis de expressão de HCit na pele de controles saudáveis e lesões de CS. Dez campos microscópicos de grande aumento ($400\times$) foram selecionados aleatoriamente para observação em cada seção e o escore foi computado de acordo com a intensidade da coloração e a porcentagem de células positivas na epiderme que foi pontuada de 0 a 4 pontos: < 5%, 0 pontos; 5%-25%, 1 ponto; 25%-50%, 2 pontos; 50%-75%, 3 pontos; $\geq 75\%$, 4 pontos. A intensidade da coloração foi pontuada de 0 a 3 pontos: sem coloração 0 pontos, amarelo-claro 1, amarelo-acastanhado 2, castanho cor-de-chocolate, 3. Os pontos foram multiplicados para obter o escore final e, quanto maior o escore, mais forte era a expressão de HCit. Os dados medidos foram expressos como média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$). (A), Imagens representativas da análise de imuno-histoquímica da pele de controles saudáveis e lesão de CS (A1, A3 representam imagens da imuno-histoquímica da pele de controle saudável e lesão de CS aos 51 anos, respectivamente). A2, A4 representam imagens da imuno-histoquímica da pele de controle saudável e lesão de CS aos 80 anos de idade, respectivamente). (B) Cada barra representa a média do escore da imuno-histoquímica \pm D.P. e dados comparados entre dois grupos utilizando o teste *t* de Student (***) $p < 0,001$). (C), Imagem representativa da curva ROC da HCit para o diagnóstico de CS. HCit, homocitrulina; CS, ceratose seborreica; Curva ROC, curva característica de operação do receptor.

o valor de corte foi 0,6119; o valor da sensibilidade foi 0,7368; e o valor da especificidade foi 0,8125 (fig. 2C).

Não houve diferença significativa na expressão do HCit entre a lesão de CS e a pele não afetada pela análise imuno-histoquímica.

Como a tabela 2 e a figura 3 indicam, não houve diferença significativa na expressão de HCit na lesão da pele e na pele não afetada dos pacientes com CS ($t = -2,041$; $p = 0,056$). A expressão de HCit na pele não afetada não foi correlacionada com a idade dos pacientes (coeficiente de correlação = 0,033; $p = 0,894$).

O nível sérico de CBL nos pacientes com CS foi maior do que em indivíduos saudáveis utilizando o método ELISA.

O nível sérico de CBL em indivíduos saudáveis foi correlacionado com a idade dos indivíduos (coeficiente de correlação = 0,5763; $p = 0,0032$; fig. 4A). O nível sérico de CBL em pacientes com CS também foi correlacionado com a idade dos indivíduos (coeficiente de correlação 0,682; $p = 0,004$; fig. 4B). Em indivíduos saudáveis e pacientes com CS de faixa etária semelhante, o nível sérico de CBL foi de $1,61 \pm 0,33$ e $1,85 \pm 0,29$, respectivamente, com diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($z = 2,19$; $p = 0,030$; fig. 4C).

Discussão

O envelhecimento da pele é processo complexo e de evolução longa, que progride gradualmente com a idade. Embora o envelhecimento da pele tenha muitas manifestações, não há índice objetivo para medi-lo até

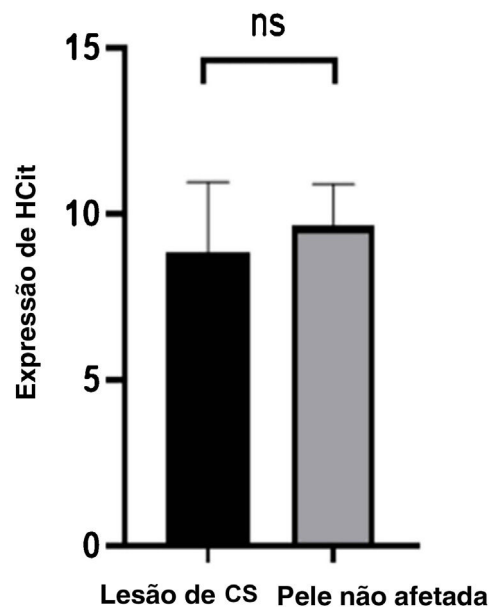


Figura 3 Expressão de HCit em lesão de CS e pele não afetada. O escore foi realizado de acordo com a intensidade da coloração e a porcentagem de células positivas na epiderme (método como mostrado na fig. 1). Os dados medidos foram expressos como média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$). Cada barra representa a média do escore da imuno-histoquímica \pm D.P. Os dados foram analisados usando o teste *t* de Student (NS, sem diferença significativa). HCit, homocitrulina; CS, ceratose seborreica.

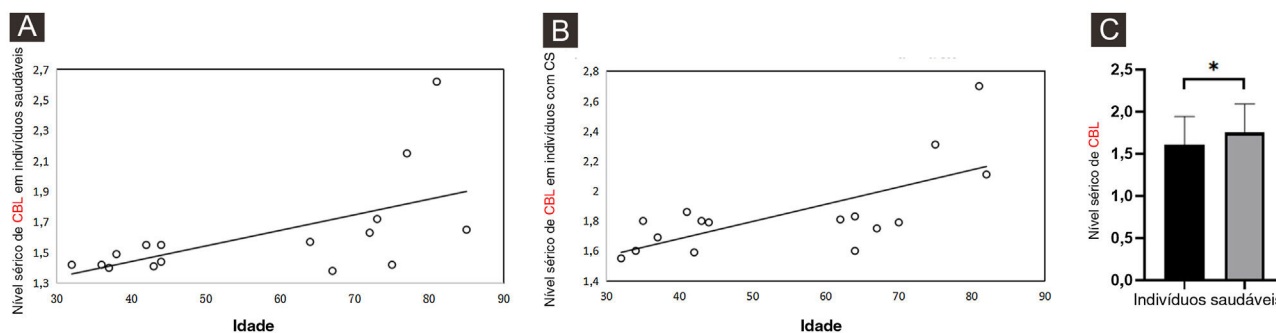


Figura 4 Comparação do nível sérico de CBL em indivíduos saudáveis e em pacientes com CS por ELISA. Os sobrenadantes das amostras de soro de 16 indivíduos saudáveis, 16 pacientes com CS foram coletados para análise por ELISA. (A), Correlação representativa entre o nível sérico de CBL com a idade de indivíduos saudáveis; coeficiente de correlação 0,5763; $p=0,0032$. Os dados foram analisados utilizando a correlação de Pearson. (B), Correlação representativa entre o nível sérico de CBL com a idade dos pacientes com CS; coeficiente de correlação 0,682; $p=0,004$. Os dados foram analisados utilizando a correlação de Pearson. (C), Cada barra representa a média do nível sérico de CBL \pm D.P. em indivíduos saudáveis e pacientes com CS. Os dados foram analisados usando testes U ($*p < 0,05$). CBL, carbamilação da proteína lisina; CS, ceratose seborreica; ELISA, ensaio imunossorvente ligado à enzima.

o momento. No presente estudo, os autores descobriram que os níveis de HCit (CBL) na pele e no soro de indivíduos saudáveis de diferentes idades estavam positivamente correlacionados com a idade dos indivíduos. Além disso, a expressão da HCit em pacientes com CS foi maior do que em indivíduos saudáveis. O nível de CBL no soro dos pacientes com CS foi maior do que em indivíduos saudáveis. A HCit pode ser usada para prever o diagnóstico de CS, o que implica que a HCit pode ser um dos potenciais biomarcadores do envelhecimento da pele.

A reação de carbamilação é processo no qual uma molécula de cianeto e seu isômero estrutural, o isocianato, combinam-se com grupos funcionais livres de proteínas, polipeptídeos ou aminoácidos livres.⁶ Essa reação geralmente ocorre com os grupos lisina ϵ -amino, formando N(6)-carbamoil-L-lisina (CBL). O nome comum para esse composto é homocitrulina (HCit), o produto mais característico da reação de carbamilação.⁷ Estudos anteriores relataram que a reação de carbamilação da proteína ocorre em pacientes com doenças crônicas, como doença renal crônica, aterosclerose e artrite reumatoide,⁸⁻¹⁰ mas apenas poucos estudos abordaram a relação entre a reação de carbamilação da proteína e o envelhecimento da pele. Gorisse et al.¹¹ descobriram que o nível de HCit em extratos de pele total aumentou significativamente com a idade dos indivíduos. Além disso, o nível do colágeno tipo 1 também aumentou significativamente com a idade dos indivíduos. A pele analisada de seres humanos, bovinos e ratos.

Caracedo et al.¹² analisaram proteínas carbamiladas no sangue de indivíduos saudáveis. Eles descobriram que os níveis de proteína carbamilada no sangue estavam correlacionados com a idade dos indivíduos; portanto, quanto mais avançada a idade dos indivíduos, maior era o nível de HCit. Os resultados do presente estudo são semelhantes aos dos estudos anteriores, que indicam que a HCit está correlacionado à idade e ao envelhecimento. Na reação de carbamilação de proteínas, as propriedades estruturais e funcionais das proteínas e sua interação com as células são alteradas, levando ao envelhecimento molecular da proteína.¹⁷ As moléculas de colágeno e elastina na pele têm longo período de meia-vida e contêm mais lisina e

hidroxilisina, que são os alvos preferidos para a reação de carbamilação.¹⁸ Estudos anteriores relataram que, após a reação da carbamilação, a estrutura da hélice terciária das proteínas do colágeno tipo I mudou ligeiramente. Isso prejudica a capacidade do colágeno tipo 1 de se transformar em fibras normais e também diminui sua estabilidade térmica, o que leva a alterações na matriz extracelular. Todos esses eventos interferem com a homeostase dos tecidos. Além disso, a proteína de colágeno também desempenha papel fundamental na estruturação do tecido conjuntivo, participando do evento-chave do mecanismo de defesa do hospedeiro – a ativação dos glóbulos brancos. No entanto, o colágeno carbamilado perde a capacidade de estimular a oxidação dos neutrófilos pela via de sinalização da integrina LFA-1 e da quinase de adesão focal (p125^{FAK}), que se sabe estar envolvida no desenvolvimento de inflamação e infecção.^{19,20} Portanto, a reação de carbamilação de proteínas causa alterações próprias do envelhecimento da pele, como flacidez, rugas e inflamação.

Muitos estudos mostraram que a CS é manifestação local do envelhecimento da pele.^{13,16} Além de determinar a diferença na expressão da HCit entre indivíduos saudáveis de diferentes idades, foram selecionados pacientes com CS como participantes do estudo. Os autores descobriram que a expressão da HCit nas lesões de pele CS era maior do que na pele de controles saudáveis, e o nível de CBL no soro dos pacientes com CS era maior do que o de indivíduos saudáveis. Os autores também observaram que a HCit poderia prever o diagnóstico de CS, o que demonstrou ainda mais a correlação entre a HCit e o envelhecimento da pele. As principais limitações do presente estudo são o pequeno tamanho da amostra sérica, necessitando que o tamanho da amostra seja ampliado em estudos futuros.

Conclusão

A CS é lesão comum na dermatologia. Sua incidência aumenta com a idade,⁴ e é manifestação do envelhecimento da pele. O alto nível de expressão de HCit está correlacionado com a CS e o envelhecimento da pele, e a HCit pode ser

um dos potenciais biomarcadores de CS e envelhecimento da pele.

Suporte financeiro

O presente estudo recebeu suporte financeiro da Wu Jie-Ping Clinical Medicine Foundation (320.6750.19089-31) e dos principais projetos da Natural Science Foundation of the Jiangsu Higher Education Institutions of China (Concessão nº 18KJA320014).

Contribuição dos autores

Juping Chen: Aprovação da versão final do manuscrito; revisão crítica da literatura; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica do manuscrito; elaboração e redação do manuscrito; concepção e planejamento do estudo.

Jun Liu: Obtenção, análise e interpretação dos dados; elaboração e redação do manuscrito; análise estatística.

Zheng Wang: Participação efetiva na orientação da pesquisa.

Jiandan Xu: Participação efetiva na orientação da pesquisa.

Jia Tao: Participação efetiva na orientação da pesquisa.

Hualing Li: Aprovação da versão final do manuscrito; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica do manuscrito; concepção e planejamento do estudo.

Conflito de interesses

Nenhum.

Agradecimento

Os autores gostariam de agradecer ao Dr. Youzhi Feng, Dr. Xiaoping Yu (Departamento de Cirurgia Plástica, Centro de Exames Físicos, Affiliated Hospital of Yangzhou University) por fornecer as amostras de pele e soro de controles saudáveis.

Referências

- Bocheva GS, Slominski RM, Slominski AT. Immunological aspects of skin aging in atopic dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2021;22:5729.
- Roshdy HS, Soliman MH, El-Dosouky II, Ghonemy S. Skin aging parameters: a window to heart block. *Clin Cardiol.* 2018;41:51–6.
- Bahrani E, Sitthinamsuwan P, Mccalmont TH, Pincus LB. Ki-67 and p16 immunostaining differentiates pagetoid bowen disease from “microclonal” seborrheic keratosis. *Am J Clin Pathol.* 2019;151:551–60.
- Kwon SO, Hwang EJ, Bae JH, Park HE, Lee JC, Youn JI, et al. Seborrheic keratosis in the Korean males: causative role of sunlight. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2003;19:73–80.
- Jaisson S, Pietrement C, Gillery P. Protein carbamylation: chemistry, pathophysiological involvement, and biomarkers. *Adv Clin Chem.* 2018;84:1–38.
- Kalim S. Protein carbamylation in end stage renal disease: is there a mortality effect? *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2018;27:454–62.
- Wang Z, Nicholls SJ, Rodriguez ER, Kummu O, Hörrkö S, Barnard J, et al. Protein carbamylation links inflammation, smoking, uremia and atherogenesis. *Nat Med.* 2007;13:1176–84.
- Long J, Vela Parada X, Kalim S. Protein carbamylation in chronic kidney disease and dialysis. *Adv Clin Chem.* 2018;87:37–67.
- Yadav SPS, Sandoval RM, Zhao J, Huang Y, Wang E, Kumar S, et al. Mechanism of how carbamylation reduces albumin binding to FC γ Rn contributing to increased vascular clearance. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2021;320:F114–29.
- Trejo-Zambrano MI, Gómez-Bañuelos E, Andrade F. Redox-mediated carbamylation as a hapten model applied to the origin of antibodies to modified proteins in rheumatoid arthritis. *Antioxid Redox Signal.* 2022;36:389–409.
- Gorisse L, Pietrement C, Vuiblet V, Schmelzer CEH, Köhler M, Duca L, et al. Protein carbamylation is a hallmark of aging. *Proc Natl Acad Sci.* 2016;113:1191–6.
- Carracedo J, Ramírez-Carracedo R, Toda IM, Vida C, Alique M, Fuente MD, et al. Protein carbamylation: a marker reflecting increased age-related cell oxidation. *Int J Mol Sci.* 2018;19:1495.
- Hafner C, Hartmann A, van Oers JM, Stoehr R, Zwarthoff EC, Hofstaedter F, et al. FGFR3 mutations in seborrheic keratoses are already present in flat lesions and associated with age and localization. *Mod Pathol.* 2007;20:895–903.
- Wollina U. Recent advances in managing and understanding seborrheic keratosis. *F1000Res.* 2019;8. F1000 Faculty Rev-1520.
- Kang MJ, Abdelmohsen K, Hutchison ER, Mitchell SJ, Grammatikakis I, Guo R, et al. HuD regulates coding and noncoding RNA to induce APP--> Abeta processing. *Cell Rep.* 2014;7:1401–9.
- Li Y, Wang Y, Zhang W, Jiang L, Zhou W, Liu Z, et al. Overexpression of amyloid precursor protein promotes the onset of seborrheic keratosis and is related to skin ageing. *Acta Derm Venereol.* 2018;98:594–600.
- Ma YH, Tonelli M, Unsworth LD. Effect of carbamylation on protein structure and adsorption to self-assembled monolayer surfaces. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2021;203:111719.
- Taga Y, Tanaka K, Hamada C, Kusubata M, Ogawa-Goto K, Hattori S. Hydroxyhomocitrulline is a collagen-specific carbamylation mark that affects cross-link formation. *Cell Chem Biol.* 2017;24:1276–84, e3.
- Nicolas C, Jaisson S, Gorisse L, Tessier FJ, Niquet-Léridon C, Jacolot P, et al. Carbamylation and glycation compete for collagen molecular aging in vivo. *Sci Rep.* 2019;9:18291.
- Jaisson S, Lorimier S, Ricard-Blum S, Sockalingum GD, Delevallée-Forte C, Kegelaer G, et al. Impact of carbamylation on type I collagen conformational structure and its ability to activate human polymorphonuclear neutrophils. *Chem Biol.* 2006;13:149–59.