










ARTIGO ORIGINAL

IL-1 β e IL-17 em biopsias de pele de lúpus eritematoso cutâneo: a imuno-histoquímica poderia indicar tendência ao envolvimento sistêmico? ☆, ☆ ☆



Barbara Hartung Lovato ^{a,*}, Leticia Fogagnolo ^a, Elemir Macedo de Souza ^b, Larissa Juliana Batista da Silva ^a, Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho ^b, Maria Leticia Cintra ^a e Fernanda Teixeira ^a

^a Departamento de Patologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

^b Departamento de Dermatologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

Recebido em 3 de novembro de 2022; aceito em 1 de fevereiro de 2023

PALAVRAS-CHAVE

Citocinas;
IL-17;
Imuno-histoquímica;
Interleucina-1beta;
Lúpus eritematoso cutâneo;
Lúpus eritematoso sistêmico

Resumo

Fundamentos: Apenas uma fração dos pacientes com lúpus eritematoso cutâneo (LEC) eventualmente evoluirá para doença sistêmica (lúpus eritematoso sistêmico – LES).

Objetivo: Encontrar biomarcadores inflamatórios que possam prever a progressão do LEC para LES utilizando ensaios imuno-histoquímicos (IHQ).

Métodos: Marcadores IHQ para respostas citotóxicas, inflamatórias e anti-inflamatórias e métodos morfométricos foram aplicados a cortes histológicos de biopsias de pele emblocadas em parafina, obtidas de lesões de 59 pacientes com lúpus discoide, lúpus subagudo e lúpus tímido. Para o diagnóstico de LES, os pacientes foram classificados pelos sistemas do American College of Rheumatology (ACR-82) e do Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC-12).

Resultados: As amostras de pele de pacientes com LEC/LES⁺ apresentaram maior expressão de IL-1 β (ACR-82: $p=0,024$; SLICC-12: $p=0,0143$) e número significativamente maior de células marcadas com granzima B e perforina (ACR-82: $p=0,0097$; SLICC-12: $p=0,0148$). Biopsias de indivíduos com LEC/LES⁻ apresentaram maior expressão de IL-17 (ACR-82: $p=0,0003$; SLICC-12: $p=0,0351$) e correlação positiva entre a densidade de células positivas para granzima A, e para FoxP3⁺ (ACR-82: $p=0,0257$; SLICC-12: $p=0,0285$) e células CD8 positivas (ACR-82: $p=0,0075$; SLICC-12: $p=0,0102$), bem como entre células positivas para granzulina e CD8 (ACR-82: $p=0,0024$; SLICC-12: $p=0,0116$).

Limitações do estudo: Os pacientes foram avaliados em momento específico de sua evolução e de acordo com a presença ou não de doença sistêmica. Não podemos prever quantos mais, de cada grupo, teriam evoluído para LES nos anos seguintes.

DOI referente ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2023.02.007>

☆ Como citar este artigo: Lovato BH, Fogagnolo L, Souza EM, Silva LJ, Velho PE, Cintra ML, et al. IL-1 β and IL-17 in cutaneous lupus erythematosus skin biopsies: could immunohistochemicals indicate a tendency towards systemic involvement? An Bras Dermatol. 2024;99:66-71.

☆☆ Trabalho realizado na Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: bhlovato@gmail.com (B.H. Lovato).

Conclusões: Nesta coorte, os achados IHQ sugeriram que pacientes com tendência a doença sistêmica apresentarão forte reatividade à IL-1 β , enquanto aqueles com envolvimento puramente cutâneo tenderão a expressar IL-17 de maneira mais intensa.

© 2023 Publicado por Elsevier España, S.L.U. em nome de Sociedade Brasileira de Dermatologia. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

Dentre os critérios listados tanto pelo *American College of Rheumatology* (ACR-82) quanto pelo *Systemic Lupus International Collaborating Clinics* (SLICC-12) para o diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico (LES), quatro estão relacionados a alterações na pele e mucosas.^{1,2} Lúpus eritematoso cutâneo (LEC) é um dos achados mais evidentes, mas apenas uma fração dos pacientes com LEC irá eventualmente desenvolver LES: entre os pacientes com lúpus eritematoso discoide (LED), o subtipo mais comum de LEC, a frequência de progressão para LES varia de 0% a 28%.³ As características que levam o médico a suspeitar que isso possa acontecer incluem o número e a gravidade das lesões cutâneas, o título de anticorpos antinucleares e a presença de sintomas sistêmicos no início da doença.⁴ A possibilidade de progressão para LES causa ansiedade em pacientes com lúpus cutâneo. É importante, então, tentar determinar quais pacientes têm maior risco de progressão para doença sistêmica.

Pesquisas anteriores mostraram a importância das vias pró-inflamatórias e citotóxicas na gênese do lúpus eritematoso, geralmente comparando os subtipos de LEC. Entretanto, poucos estudos têm se concentrado nas diferenças entre pacientes com LEC/LES⁺ e aqueles LEC/LES⁻. O objetivo do presente estudo foi encontrar biomarcadores inflamatórios que pudessem prever a progressão do LEC para LES. Com esse propósito, foram utilizados ensaios imuno-histoquímicos (IHQ) em biópsias de pele de pacientes com LEC ([tabela suplementar 1](#)).

Métodos

Biópsias de pele de 59 pacientes com LEC atendidos no Ambulatório de Dermatologia entre 1995 e 2012 foram incluídas se: 1) registros médicos completos estivessem disponíveis; 2) o diagnóstico tivesse sido confirmado por exame clínico e histopatológico, incluindo imunofluorescência direta, quando indicada; e 3) houvesse tecido suficiente no bloco de parafina para novos cortes histológicos. Esses foram tratados por métodos convencionais de IHQ, utilizando Polymers (Kit Novolink, Novocastra Laboratories, Newcastle-upon-Tyne, Reino Unido) ou o método de estreptavidina-biotina-peroxidase de rábano (LSAB-HRP, código 0609, Dako Cytomation, Glostrup, Dinamarca). Cortes histológicos de linfonodos, apêndice e tonsilas foram usados como controles. Anticorpos primários, método de recuperação e sistema de detecção empregados são detalhados na [tabela suplementar 2](#).

Biomarcadores foram utilizados para avaliar respostas citotóxicas, inflamatórias e anti-inflamatórias. Para a análise de ICAM-1, CD4, CD8, CD25, CD56, granzima A, granzima

B, granulinsina, perforina e FOXP3, foram escolhidos três campos (400 \times) com maior densidade de células inflamatórias e sem artefatos. Suas imagens digitais foram adquiridas e analisadas com o auxílio do *software* Image J (programa de processamento de imagem baseado em Java, Wayne Rasband, NIH, Bethesda, EUA, disponível em <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Tanto as células imunomarcadas quanto as demais, presentes no mesmo campo, foram contadas. A expressão de cada marcador foi então definida como a razão entre o número de células imunomarcadas e o número total de células contadas. Para os marcadores IL-6, IL-1 β , IL-17, IL-18 e IL-10, foi utilizado o método de análise descrito por Popovic et al.⁵

A média de idade dos 59 pacientes foi de 39 anos; 55 eram do sexo feminino (93,2%); 21 tinham LED, 21 tinham lúpus tímido (LT) e 17 tinham lúpus subagudo (LSA). Dezenove por cento dos pacientes com LED e LT apresentaram características clínicas de envolvimento sistêmico, como classificado pelos critérios do ACR-82 e SLICC-12. Em relação aos pacientes com LSA, 47% foram classificados como sistêmicos de acordo com a classificação SLICC-12; em contraste, 70,5% dos mesmos pacientes foram classificados como tendo envolvimento sistêmico pelas diretrizes do ACR-82 ([tabela 1](#)). Essa diferença ocorreu porque o SLICC-12 não inclui a fotossensibilidade como critério, enquanto o ACR-82 não considera critérios de sinovite e teste de Coombs positivo.

Para análise estatística, foi utilizado o *software* SAS 9.0[®]. A análise exploratória dos dados foi realizada por meio de medidas sumárias (média, desvio padrão, mínimo, mediana, máximo, frequência e percentual). Os grupos (pacientes com LES⁺ e LES⁻) foram comparados pelo teste exato de Fisher, qui-quadrado ou Mann-Whitney. A correlação entre as variáveis numéricas foi avaliada por meio do coeficiente de Spearman. O nível de significância adotado foi de 5%.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da instituição (n^o 1214/2010), no qual foram observados todos os princípios da Declaração de Helsinque.

Resultados

Em todas as amostras, as células foram imunomarcadas por todos os anticorpos ([tabela suplementar 1](#)), mas para alguns marcadores houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos LEC/LES⁺ e LEC/LES⁻, como detalhado na [tabela 2](#).

Em pacientes LEC/LES⁺, classificados por ambos os sistemas, houve maior expressão de IL-1 β ([fig. 1A e B](#); ACR-82: $p=0,024$; SLICC-12: $p=0,0143$), em comparação com pacientes LEC/LES⁻. Em relação aos marcadores de resposta T citotóxica, os pacientes com LEC/LES⁺ apresentaram número significativamente maior de células marcadas com

Tabela 1 Dados demográficos e clínicos dos pacientes, segundo subtipos de LEC e presença de LES

| Subtipo de LEC | ACR-82 | | SLICC-12 | |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | LES ⁺ n (%) | LES ⁻ n (%) | LES ⁺ n (%) | LES ⁻ n (%) |
| LED (n = 21) | 4 (19) | 17 (80,9) | 4 (19) | 17 (80,9) |
| Média de idade, anos | 31 | 45 | 31 | 45 |
| Sexo, feminino (%) | 100 | 82,3 | 100 | 82,3 |
| FAN positivo (%) | 25 | 0 | 25 | 0 |
| Anti-DNA (%) | 75 | 0 | 75 | 0 |
| Anti-Sm positivo (%) | 25 | 0 | 25 | 0 |
| SAL (n = 17) | 12 (70,5) | 5 (29,4) | 8 (47,05) | 9 (52,9) |
| Média de idade, anos | 40 | 40 | 39 | 41 |
| Sexo, feminino (%) | 75 | 100 | 75 | 89 |
| FAN positivo (%) | 100 | 60 | 100 | 78 |
| Anti-DNA positivo (%) | 42 | 0 | 51 | 0 |
| Anti-Sm positivo (%) | 17 | 0 | 25 | 0 |
| LT (n = 21) | 4 (19,04) | 17 (80,9) | 4 (19,04) | 17 (80,9) |
| Média de idade, anos | 40 | 35 | 39 | 35 |
| Sexo, feminino (%) | 100 | 94 | 100 | 94 |
| FAN positivo (%) | 100 | 30 | 100 | 30 |
| Anti-DNA positivo (%) | 25 | 0 | 25 | 0 |
| Anti-Sm positivo (%) | 0 | 0 | 0 | 0 |

LEC, lúpus eritematoso cutâneo; LED, lúpus eritematoso discoide; LSA, lúpus subagudo; LT, lúpus túmido; ACR, *American College of Rheumatology*; SLICC, *Systemic Lupus International Collaborating Clinics*; LES, lúpus eritematoso sistêmico.

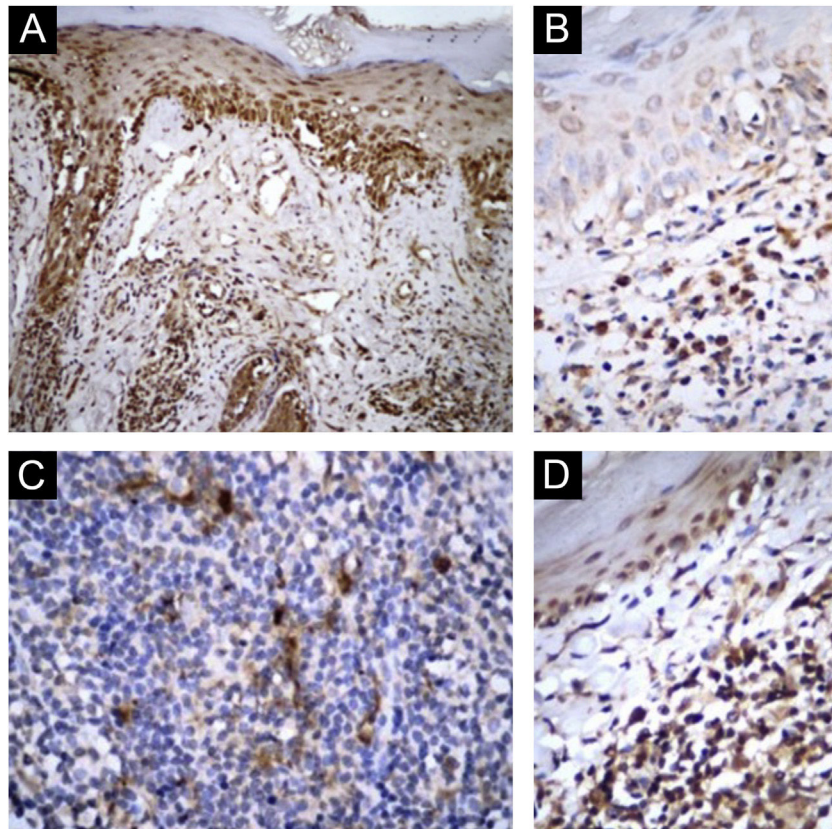


Figura 1 Achados imuno-histoquímicos. (A-B) IL-1 β . (C-D) IL-17. A-C, pacientes com LES; B-D, pacientes com lesões de lúpus eritematoso puramente cutâneo (Aumento original: A = 100 \times ; B-D = 400 \times).

Tabela 2 Diferenças imuno-histoquímicas entre pacientes LEC/LES⁺ e LEC/LES⁻, de acordo com as classificações ACR-82 e SCLICC-12

| ACR-82 | | | |
|---|----------------------------------|----------------------------------|---------|
| | LEC/LES ⁺ (n = 20) | LEC/LES ⁻ (n = 39) | p-valor |
| IL-1β (células epidérmicas), n (%) | | | 0,024 |
| 1 (pequeno) | 2 (10) | 5 (12,8) | |
| 2 (moderado) | 2 (10) | 16 (41) | |
| 3 (acentuado) | 16 (80) | 18 (46,2) | |
| IL-1β (intersticial) | | | < 0,05 |
| 0 | 0 | 3 | |
| 1 (pequeno) | 3 | 10 | |
| 2 (moderado) | 16 | 23 | |
| 3 (acentuado) | 1 | 3 | |
| IL-17 (células epidérmicas) | | | < 0,05 |
| 1 (pequeno) | 0 | 5 | |
| 2 (moderado) | 5 | 8 | |
| 3 (acentuado) | 15 | 26 | |
| IL-17 (intersticial) | | | 0,0003 |
| 1 (pequeno) | 17 (85) | 14 (35,9) | |
| 2 (moderado a acentuado) | 3 (15) | 25 (64,1) | |
| % de células com imunomarcção de CD56 em três campos (média ± DP) | 7,2 ± 3,1 | 0,013 5,6 ± 3,9 | |
| % de células com imunomarcção de ICAM em três campos (média ± DP) | 47,5 ± 6,7 | 0,0095 41,8 ± 7,7 | |
| SCLICC-12 | | | |
| | LEC/LES ⁺ (n = 16) | LEC/LES ⁻ (n = 43) | p-valor |
| IL-1β (células epidérmicas) | | | 0,0143 |
| 1 (pequeno) | 0 (0) | 7 (16,3) | |
| 2 (moderado) | 2 (12,5) | 16 (37,2) | |
| 3 (acentuado) | 14 (87,5) | 20 (46,5) | |
| IL-1β (intersticial) | | | < 0,05 |
| 1 (pequeno) | 2 (12,5) | 14 (32,6) | |
| 2 (moderado) | 13 (81,3) | 26 (60,5) | |
| 3 (acentuado) | 1 (6,3) | 3 (7) | |
| IL-17 (células epidérmicas) | | | < 0,05 |
| 1 (pequeno) | 0 | 0 | |
| 2 (moderado) | 14 (87,5) | 33 (76,7) | |
| 3 (acentuado) | 2 (12,5) | 10 (23,3) | |
| IL-17 (intersticial) | | | 0,0351 |
| 1 (pequeno) | 12 (75) | 19 (44,2) | |
| 2 (moderado a acentuado) | 4 (25) | 24 (55,8) | |

LEC, lúpus eritematoso cutâneo; LED, lúpus eritematoso discoide; LSA, lúpus subagudo; LT, lúpus túmido; ACR, American College of Rheumatology; SLICC, Systemic Lupus International Collaborating Clinics; LES, lúpus eritematoso sistêmico.

granzima B e perforina (tabela 3) do que os pacientes com LEC/LES⁻ (ACR-82: p=0,0097; SLICC-12: p=0,0148).

Pacientes classificados por ambos os sistemas como LEC/LES⁻ apresentaram maior expressão de IL-17 (fig. 1C e D; ACR-82: p=0,0003; SLICC-12: p=0,0351). Além disso, houve correlação positiva entre a densidade de células granzima A e FoxP3 positivas (ACR-82: p=0,0257; SLICC-12: p=0,0285) assim como com as células CD8 positivas (ACR-82: p=0,0075; SLICC-12: p=0,0102), bem como entre células granzima e CD8 positivas (ACR-82: p=0,0024; SLICC-12: p=0,0116). Também houve correlação

negativa entre a densidade de células positivas para granzima e os seguintes critérios de LES (SLICC-12): sinovite (p=0,0466), hipocomplementemia (p=0,0408) e anticorpo anti-Sm (p=0,0252).

Discussão

Os macrófagos, entre outras células, secretam IL-1β por meio de diferentes estímulos, principalmente o interferon-alfa (IFN-α). A importância de uma resposta pró-

Tabela 3 Diferenças imuno-histoquímicas na correlação de Spearman entre pacientes LEC/LES⁺ e LEC/LES⁻, de acordo com as classificações ACR-82 e SCLICC-12

| Variável | LEC/LES ⁺ | |
|---|----------------------|-----------------------|
| | P (ACR-82), n = 20 | P (SCLICC-12), n = 16 |
| Correlação de Spearman | | |
| Correlação entre perforina e granzima B | 0,0097 | 0,0148 |
| Variável | LEC/LES ⁻ | |
| | P (ACR-82), n = 39 | P (SCLICC-12), n = 43 |
| Correlação de Spearman | | |
| Correlação entre FoxP3 e granzima A | 0,0257 | 0,0285 |
| Correlação entre CD8 e granzima A | 0,0075 | 0,0102 |
| Correlação entre CD8 e granulicina | 0,0024 | 0,0116 |

-inflamatória estimulada por IFN tipo I, particularmente IFN- α , em pacientes com LES, é corroborada por parâmetros clínicos, como sintomas sistêmicos (febre e fadiga), histopatologia da pele e achados de necropsia.⁶⁻⁹ Wenzel et al. mostraram que pacientes com lesões discóides disseminadas ou LSA apresentavam níveis séricos aumentados de IFN tipo I, o que pode indicar risco aumentado de desenvolver doença sistêmica.¹⁰ Na pele, o IFN pode estimular a síntese e a superexpressão de receptores de citocinas que promovem o influxo de células imunes e o desenvolvimento de lesões.¹¹ Na presente amostra, essa resposta pró-inflamatória em indivíduos com LEC/LES⁺ foi identificada pela expressão de IL-1 β em biopsias de pele. Zhou et al. encontraram níveis séricos aumentados de IL-1 β em pacientes com LES avaliados por citometria de esferas,¹² mostrando atividade desregulada das células T.

Em contraste, em pacientes com LEC/LES⁻, o marcador de resposta inflamatória foi a IL-17. Estudos examinando o papel da IL-17 no lúpus eritematoso, para investigar a eficácia de medicamentos imunobiológicos anti-IL-17, relataram aumento na expressão de IL-17 em lesões de pacientes com LSA e LED e na pele não afetada de pacientes com LES, em comparação com controles saudáveis.^{8,13} Na presente amostra, a expressão de IL-17 foi significativamente maior em pacientes com LEC/LES⁻, sugerindo que medicamentos anti-IL-17 poderiam ser eficazes para lesões de LEC.

Em pacientes LEC/LES⁺ com qualquer subtipo de LEC, identificamos resposta T citotóxica pelo aumento da expressão de granzima B e perforina, necessários para a penetração nas células-alvo. Granzima B é fortemente expressa na cicatrização de lesões de LEC e está significativamente aumentada em comparação com LSA e controles saudáveis.¹⁴ Grassi et al. demonstraram que a expressão de células granzima B positivas era mais frequente na histopatologia da pele de pacientes com LES⁺, em comparação com pacientes puramente com LEC, sugerindo que a granzima B é marcador de citotoxicidade chave em indivíduos com LES.¹⁵ Seu papel na gênese de múltiplas manifestações de LES também é corroborado pelos níveis mais altos de granzima B sérica solúvel em pacientes com LES.¹⁶

Em pacientes com LEC/LES⁻, a correlação positiva entre a densidade de células positivas para CD8, granzima A e granulicina destaca a importância da citotoxicidade na pato-

gênese das lesões cutâneas. Estudos anteriores mostraram predominância de células CD8⁺ nas lesões de pacientes com LED, enquanto em outros subtipos de pele mais frequentemente associados a doenças sistêmicas, como LSA, há predominância de células CD4⁺.^{17,18} Outros estudos enfatizaram apenas o papel da granzima B nas lesões do LEC, sem considerar a possível associação com doença sistêmica.^{14,18} A granzima A associada à expressão da IL-17 foi anteriormente descrita em lesões psoriásicas,¹⁹ o que pode indicar, no ambiente psoriásico, papel predominante na manutenção da inflamação, em vez de citotoxicidade.

Os pacientes da presente amostra foram avaliados em um momento específico de sua evolução, quando seus sintomas, sinais e resultados laboratoriais poderiam classificá-los como pacientes LEC/LES⁻ ou LEC/LES⁺. Não é possível prever quantos mais, de cada grupo, teriam evoluído para doença sistêmica nos próximos cinco ou dez anos. Os autores acreditam que a probabilidade de desenvolver lúpus sistêmico é maior no grupo com LSA, e não é possível excluir com segurança a possibilidade de que as diferenças encontradas possam refletir apenas aquelas entre LED/LT e LSA. É importante ressaltar que não foram realizadas análises comparativas entre os subgrupos de LEC, pois o objetivo principal do presente estudo foi avaliar as diferenças entre pacientes LEC/LES⁺ e LEC/LES⁻, independentemente do subtipo de LEC.

Conclusão

Na presente amostra, os achados IHQ sugerem que os pacientes com tendência à doença sistêmica apresentarão forte reatividade à IL-1 β , enquanto aqueles com acometimento puramente cutâneo tenderão a expressar mais intensamente a IL-17. Os achados podem ajudar, juntamente com dados clínicos, a identificar pacientes com LEC com maior probabilidade de evoluir para doença sistêmica.

Suporte financeiro

Este trabalho recebeu suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Processo n° 11/50037-2 e n° 2016/153362.

Contribuição dos autores

Bárbara Hartung Lovato: Concepção e planejamento do estudo; revisão crítica da literatura; obtenção, análise e interpretação dos dados; elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Leticia Fogagnolo: Concepção e planejamento do estudo; revisão crítica da literatura; obtenção, análise e interpretação dos dados; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Elemir Macedo de Souza: Concepção e planejamento do estudo; revisão crítica do manuscrito.

Larissa Juliana Batista da Silva: Revisão crítica da literatura; obtenção, análise e interpretação dos dados; elaboração e redação do manuscrito.

Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho: Revisão crítica da literatura; obtenção, análise e interpretação dos dados; revisão crítica do manuscrito.

Maria Leticia Cintra: Concepção e planejamento do estudo; revisão crítica da literatura; obtenção, análise e interpretação dos dados; elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Fernanda Teixeira: Revisão crítica da literatura; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Conflito de interesses

Nenhum.

Agradecimentos

A análise estatística foi realizada com o auxílio da bioestatística Cleide Aparecida Moreira Silva, da Comissão de Estatística da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Anexo. Material suplementar

Pode consultar o material adicional para este artigo na sua versão eletrônica disponível em [doi:10.1016/j.abdp.2023.09.014](https://doi.org/10.1016/j.abdp.2023.09.014).

Referências

1. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1982;25:1271-7.
2. Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64:2677-86.
3. Chong BF, Song J, Olsen NJ. Determining risk factors for developing systemic lupus erythematosus in patients with discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol.* 2012;166:29-35.
4. Wiczorek IT, Probert KJ, Okawa J, Werth VP. Systemic symptoms in the progression of cutaneous to systemic lupus erythematosus. *JAMA Dermatol.* 2014;150:291-6.
5. Popovic K, Ek M, Espinosa A, Padyukov L, Harris HE, Wahren-Herlenius M, et al. Increased expression of the novel proinflammatory cytokine high mobility group box chromosomal protein 1 in skin lesions of patients with lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2005;52:3639-45.
6. Pomara C, Neri M, Bello S, Pennella A, Turillazzi E, Fineschi V. C3a, TNF-alpha and interleukin myocardial expression in a case of fatal sudden cardiac failure during clinic reactivation of systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2010;19:1246-9.
7. Wenzel J, Zahn S, Bieber T, Tüting T. Type I interferon-associated cytotoxic inflammation in cutaneous lupus erythematosus. *Arch Dermatol Res.* 2009;301:83-6.
8. Méndez-Flores S, Hernández-Molina G, Enríquez AB, Faz-Muñoz D, Esquivel Y, Pacheco-Molina C, et al. Cytokines and effector/regulatory cells characterization in the physiopathology of cutaneous lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:7074829.
9. Zhou X, Yan J, Lu Q, Zhou H, Fan L. The pathogenesis of cutaneous lupus erythematosus: The aberrant distribution and function of different cell types in skin lesions. *Scand J Immunol.* 2021;93:e12933.
10. Wenzel J, Worenkamper E, Freutel S, Henze S, Haller O, Bieber T, et al. Enhanced type I interferon signaling promotes Th1-biased inflammation in cutaneous lupus erythematosus. *J Pathol.* 2005;205:435-42.
11. Kirchhof MG, Dutz JP. The immunopathology of cutaneous lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am.* 2014;40:455-74.
12. Zhou H, Li B, Li J, Wu T, Jin X, Yuan R, et al. Dysregulated T cell activation and aberrant cytokine expression profile in systemic lupus erythematosus. *Mediators Inflamm.* 2019;2019:8450947.
13. Tanasescu C, Balanescu E, Balanescu P, Olteanu R, Badea C, Grancea C, et al. IL-17 in cutaneous lupus erythematosus. *Eur J Intern Med.* 2010;21:202-7.
14. Wenzel J, Uerlich M, Worrenkämper E, Freutel S, Bieber T, Tüting T. Scarring skin lesions of discoid lupus erythematosus are characterized by high numbers of skin-homing cytotoxic lymphocytes associated with strong expression of the Type I interferon-induced protein MxA. *Br J Dermatol.* 2005;153:1011-5.
15. Grassi M, Capello F, Bertolino L, Seia Z, Pippione M. Identification of granzyme B-expressing CD8-positive T cells in lymphocytic inflammatory infiltrate in cutaneous lupus erythematosus and in dermatomyositis. *Clin Exp Dermatol.* 2009;34:910-4.
16. Shah D, Kiran R, Wanchu A, Bhatnagar A. Soluble granzyme B and cytotoxic T lymphocyte activity in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Cell Immunol.* 2011;269:16-21.
17. Xie Y, Jinnin M, Zhang X, Wakasugi S, Makino T, Inoue Y, et al. Immunohistochemical characterization of the cellular infiltrate in discoid lupus erythematosus. *Biosci Trends.* 2011;5:83-8.
18. Wenzel J, Zahn S, Mikus S, Wiechert A, Bieber T, Tüting T. The expression pattern of interferon-inducible proteins reflects the characteristic histological distribution of infiltrating immune cells in different cutaneous lupus erythematosus subsets. *Br J Dermatol.* 2007;157:752-7.
19. Cheuk S, Martini E, Bergh K, Chang D, Rethi B, Stähle M, et al. Granzyme A potentiates chemokine production in IL-17-stimulated keratinocytes. *Exp Dermatol.* 2017;26:824-7.