Study of Natural Killer Cells CD^{3+} CD^{56+} in Psoriasis Before and After Treatment with Narrow Band UVB

Essay

Submitted for partial fulfillment
of master degree ***Dermatology and Venereology***

By:
Mohamed Samir Abd El-Razik
M. B. B. Ch., Faculty of Medicine

Under the Supervision of

Prof. Dr. Naziha Hafez Khafagy
Professor of Dermatology and Venereology
Faculty of Medicine - Ain Shams University

Prof. Dr. Ayman Hafez Khafagy
Assistant Professor of Dermatology and Venereology
Faculty of Medicine - Ain Shams University

Dr. Afaf Abdel Alim Mostafa

Assistant Professor of Clinical Pathology
Faculty of Medicine - Ain Shams University

Faculty of Medicine
Ain Shams University
2006

دراسة الخلايا الطبيعية القاتلة فى مرض الصدفية قبل وبعد العلاج بالأشعة فوق البنفسجية (ب) ضيقـــة النطـــاق

رسالة توطئة للحصول علي درجة الماجستير
في الأمراض الجلدية والتناسلية

مقدمة من:

الطبيب/ محمد سمير عبدالرازق
بكالوريوس الطب والجراحة
جامعة القاهـــــرة

تحـت إشراف

الأستاذ الدكتور/نزيهة حافظ خفاجي
أستاذ الأمراض الجلدية والتناسلية
كلية الطب . جامعة عين شمس

الأستاذ الدكتور/ أيمن حافظ خفاجي
أستاذ مساعد الأمراض الجلدية والتناسلية
كلية الطب . جامعة عين شمس

د. عفاف عبد العليم مصطفى
أستاذ الباثولوجيا الإكلينيكية

كا ـــب
جا شمس
2006

Acknowledgment

الحمد للّه رب العالمين

First and above all my deepest gratitude and thanks to ***Allah*** *for achieving any work in my life. I would like to express my especial cordial thanks, endless gratitude and appreciation to* **Prof. Dr. Naziha Hafez Khafagy** *Professor of Dermatology and Venereology Faculty of Medicine - Ain Shams University, for her kind effort and support that made achievement of this work possible. She offered me lots of help and encouragement*

With great pleasure I am also grateful to **Prof. Dr. Ayman Hafez Khafagy** *Assistant Professor of Dermatology and Venereology Faculty of Medicine - Ain Shams University, for giving me the opportunity to work under his meticulous supervision. His honest assistance and patience make me truly indebted to him.*

The sincere and enormous effort of **Dr. Afaf Abdel Alim Mostafa** *Assistant Professor of Clinical Pathology,*

Faculty of Medicine -Ain Shams University is truly acknowledged. She gave me a lot of her valuable time to achieve the laboratory part of this work.

Mohamed Samir Abd El-Razik

Contents

Page

- **List of Abbreviations** …..……..……..

- …..……..…… **List of Tables**

- …..……..…… **List of Figures**

1 ……..…….**Introduction and Aim of the Work**

3 …….....…… **Review of Literature**
3 * Psoriasis ……..……..……
6 ……. * Aetiology and pathogenesis
* Natural killer (NK) cells CD+3CD+56 in psoriasis. 16
18 ……..* Differentiation between T cells
28 …… * Ultraviolet Radiation
28 ……..* Nature and sources
30 ……* Ultra violet phototherapy in psoriasis
32 ……* Narrow-Band UVB Phototherapy in Psoriasis
37 ……* Mechanism of action of NB-UVB in psoriasis
38 …… * Narrow band UVB phototherapy combination
39 ……* Maintenance Photo therapy Schedules
40 ……* Adverse effects of NB-UVB
42 ….* Strategies to minimize NB-UVB carcinogencity

44 ……..……**Materials and Methods**

50 ……..…….....…… **Results**
68 ……..…….....……. **Discussion**
75 …….....……. **Summary**
79 ……..…….....……. **References**
-- ……..…… **Arabic Summary**

List of Abbreviations

Area	:	A
Adenosine deaminase activity	:	ADA
Acidic and basic fibrobast growth factor		AFGF, BFGF
Antigens	:	AGS
Acquired immune deficiency syndrome	:	AIDS
Antigen presenting cell	:	APC
AIDS related complex	:	ARC
Body surface area	:	BSA
Cord blood	:	CB
Cutaneous lymphocyte associated antigen	:	CLA
Desquamation	:	D
Erythema	:	E
Epidermal growth factor	:	EGF
Electromagnetic	:	EM
Head	:	H
Heparin binding	:	HB-EGF
Hepato-cellular carcinoma	:	HCC
Hepatocyte growth factor	:	HGF
Human leucocyte antigen	:	HLA
Infiltration	:	I

Interferon gamma	:	IFN-γ
Insulin growth factor	:	IG F-1
Interleukin	:	IL
Interleukin enhanced binding factor	:	ILF
Keratines$_1$	:	K_1

List of Abbreviations (Cont.)

Keratines$_{10}$	:	K_{10}
Killing inhibitory receptors	:	KiR
Lower extremities	:	L
Lymphotacin	:	LP_{tn}
Minimal erythemal dose	:	MED
Major histocmbatibility complex	:	MHC
Murine lymphotacin	:	mLPtn
Narrow band ultraviolet B	:	NB-UVB
Natural killer	:	NK
Natural killer like T cells	:	NK-T
Periphecal blood lymphocytes	:	PBLs
Peripheral blood monocular cells	:	PBMC
Preposriatic human skin	:	PN
Psoralen ultraviolet A	:	PUVA
Squamous cell caracinoma antigen 1	:	SCC A-1
Soluble interleukin 2 receptor	:	SIL-2R
Trunk	:	T
T cell receptors	:	TCRs
T helper 1	:	Th_{-1}
T helper cell type 2	:	Th_{-2}

Tumor infiltrating lymphocytes	:	TILs
Tumor necrosis factor α	:	TNF-α
Upper extremities	:	U

List of Figures

Figure	*Subject*	*Page*
	Classification of UV and visible radiation according to wavelength	28
	Comparison between the severity of the diseases before and after treatment	55
	Frequency distribution of chronic and eruptive guttate among patients	56
	Comparison between patients before and after treatment and controls regarding mean values of CD3+	56
	Comparison between patients before and after treatment regarding mean values of PASI score	59
	Comparison between patients before and after treatment and controls regarding mean values of CD56+	61
	Comparison between patients and controls regarding mean values of CD3+56+	61
	Representative dot-plot diagrams of peripheral blood cells stained with PE conjugated anti-CD3 monoclonal antibodies and PE conjugated anti CD56 monoclonal antibodies.	66

List of Tables

Table	*Subject*	*Page*
	Observations implicating T cells in psoriasis pathogenesis	15
	The scoring system and calculation of PASI	48
	Data of patients with psoriasis before treatment	52
	Data of patients with psoriasis after treatment	53
	Five healthy controls	54
	Classification of ten patients of psoriasis according to severity before and after treatment	54
	Mean and S.D of NK cells in patients before and after treatment with narrow band UVB	57
	Significance of NK cells and PASI score in patients and controls	58
	Significance of NK cells and PASI score among patients before and after treatment	60
	Correlation between CD^{3+}, CD^{56}, NK-T cells CD^{3+} CD^{56+} and other parameters in patients before and after treatment	62

List of Tables (Cont.)

Table	*Subject*	*Page*
	Correlation of CD3+CD56+ before treatment and other parameters	64
	Correlation of CD3+CD56+ after treatment and other parameters	63
	Correlation of PASI score before treatment and other parameters	67
	Correlation of PASI score after treatment and other parameters	67

الملخص العربي

الصدفية هي على الأرجح مرض مناعي حيث تقوم خلايا T بدور الوسيط فى حدوثه، ويفترض أن الخلايا الطبيعية القاتلة والخلايا الطبيعية القاتلة المشابهة لعمل خلايا T تلعب دوراً هاماً فى حدوث المرض وأن عدد الخلايا الطبيعية القاتلة يقل بشكل واضح فى هذا المرض.

الخلايا الطبيعية القاتلة هي قطاع من الخلايا الليمفاوية السامة التي تعبر عن علامات ورموز التنشيط CD_{96}, CD_{16} وعلامات التثبيط CD_{94}, CD_{158a} والتي من الممكن أن تكون منشطة أو مثبطة اعتماداً على عوامل الارتباط.

ويعتبر الدور الرئيسي للخلايا الطبيعية القاتلة هو التعرف والعمل على إنحلال الخلايا المصابة بالفيروسات والخلايا الخبيثة والتي لا تجسد أو تعبر عن التناغم النسيجي الرئيسي، والخلايا الطبيعية القاتلة المشابهة لخلايا T هي خلايا ليمفاوية تجسد مستقبلات الخلايا الطبيعية القاتلة ولكن بخلاف الخلايا الطبيعية القاتلة فهي تجسد أيضاً مستقبلات خلايا T مثل CD_3 ومستقبلات خلايا T ألفا وبيتا و V بيتا.

وتعتبر الأشعة الفوق بنفسجية ضيقة النطاق (ب) علاج مؤثر وراسخ فى علاج الصدفية ، ويستخدم مصباح خاص TLo1 فى هذه الأشعة وتقوم الأشعة الفوق بنفسجية (ب) بتقليل عدد الخلايا الطبيعية القاتلة وتكاثر

الخلايا الليمفاوية والتنظيم المناعي لإنتاج السيتوكاينز من خلال Th_1, Th_2 وقد تم استخدام مؤشر قياس مساحة الصدفية ودرجة شدة المرض PASI لإعطاء قياس كمي موضوعي عن شدة مرض الصدفية بعد العلاج بالأشعة.

والهدف من هذه الدراسة هو دراسة تأثير الأشعة الفوق بنفسجية ضيقة النطاق (ب) على الخلايا الطبيعية القاتلة فى مرض الصدفية قبل وبعد العلاج، وقد شملت الدراسة عشرة مرضي بالصدفية وخمسة حالات ضابطة وقد تراوح عمر المرضي بين عشرين وخمسة وثلاثين عاماً بمتوسط عمر 25.96±5.6133 وقد رُوعِى التناسب والتكافؤ بين المرضى والحالات الضابطة بالنسبة للمرحلة العمرية.

وقد تم أخذ عينات دم من مرضي الصدفية قبل وبعد العلاج بالأشعة فوق البنفسجية ضيقة النطاق (ب) وقياس CD3+, CD56+ ,CD56+ CD3+ وقد أظهرت نتائج الدراسة وجود انخفاض ملحوظ فى عدد خلايا CD3+ CD56+ فى عينات دم مصابين بمرض الصدفية وأن نسبة هذه الخلايا قد زاد بعد العلاج بالأشعة فوق البنفسجية ضيقة النطاق (ب) ولكن ظلت أقل من العدد الموجود بالحالات الضابطة، وقد تبين عدم وجود خلاف ملحوظ فى نسبة خلايا CD3+ أو خلايا CD56+ بين المرضي والحالات الضابطة.

لقياس شدة مرض الصدفية قبل وبعد العلاج بالأشعة فوق البنفسجية ذات النطاق (ب) باستخدام مؤشر قياس PASI تبين عدم وجود حالات مرضية شديدة أو متوسطة بعد العلاج كما اختفت الأعراض من ثلاثة مرضى (30%) تماماً وتحسنت حالة السبعة مرضى الآخرين (70%) وأصبحت الأعراض بسيطة.

وبالنظر إلى حقيقة كثرة الأسباب التي تؤدي إلى حدوث مرض الصدفية فإن ذلك يفسر الاختلاف فى النتائج والدراسات المختلفة. وحيث إننا لم نقم بدراسة الخلايا الطبيعية القاتلة فى الجلد لا نستطيع أن نستثني أن النقص الحادث فى الخلايا الطبيعية القاتلة فى دم مرضى الصدفية قد حدث نتيجة اختلافات موجهة من الخلايا الطبيعية القاتلة لإصابات الجلد المرضية. ويتطلب عمل دراسات إضافية لإيضاح الدور المباشر للخلايا الطبيعية القاتلة فى جلد المرضى المصابين بمرض الصدفية.

Discussion

Psoriasis is an immunologically mediated, probably autoimmune disease in which T helper type 1 cytokine play an important role ***(Cameron et al., 2002)***. Other diseases with similar immunological characteristics include rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, type 1 diabetes mellitus and systemic lupus erythematosus (SLE) ***(Berner et al., 2000)***. It has been suggested that natural killer (NK) and natural killer-T (NK-T) cells may play an important role in the pathogenesis of these diseases and the number of circulating NK cells are significantly reduced in these conditions ***(Kastrukoff et al.,1998)***.

NK cells are subpopulation of cytotoxic lymphocytes that express the activation markers CD16, CD56 and the inhibitory marker CD158a, and CD94 which can be either inhibitory or stimulatory depending on the ligand. The main function of natural killer cells is to recognize and lyse virally infected cells and malignant cells which don't express major histocompatibility complex (MHC) class 1 alleles ***(Lamier and Seaman, 2000)***.

NK-T cells are lymphocytes that express NK receptors but unlike NK cells also express T-cell receptors such as CD3, T-cell receptor-alpha and beta and the V beta receptors ***(Ellwaut and Kronenberg, 2000)***.NK-T cells may be cytotoxic and immunoregulatory but are capable of more significant cytokine production than NK cells, including

secretion of IFN-gamma. Both cell types have been implicated in the pathogenesis of autoimmune disease ***(Lanier and Seaman, 2000)***.

Narrowband UVB is an established and effective treatment for psoriasis ***(British Photo Dermatology Group, 1997)***. NB-UVB uses a special lamp (the Philips TL01 lamp) which is virtually a monochromatic source with a peak narrow band emission at 312 nm and a minor peak at 305nm ***(Clark et al., 2000)***.

In skin, TL-0l radiation is absorbed by DNA and urocanic acid ***(Clingen et al., 1995)*** and alters antigen-presenting cell activity ***(El-Ghorr et al., 1994)***. In psoriatic patients TL-0l phototherapy lowers peripheral natural killer cell activity ***(Juckian et al., 1995)***, lymphoproliferation and immunoregulatory cytokine production by both Th1 (IL-2. IFN-y) and Th2 (IL, -10) T-cell populations ***(Jones et al., 1996)***. The ability of TL-0l radiation systemically to depress major components of cell-mediated immune function is thus likely to be linked to its beneficial effect in several inflammatory skin diseases. The PASI score has been used to give an objective quantification of severity of psoriasis after treatment with NB-UVB ***(Storbeck et al., 1993)***

The aim of our work was to study the effect of NB-UVB on natural killer cells CD3+CD56+ in patients with psoriasis before and after treatment. We have measured the number of NK and NK T cells in the peripheral blood of patients with psoriasis.