

## Periferel lökositlerde CD35, CD46, CD55 ve CD59 düzeyleri\*

Ayşegül Uğur Kurtoglu<sup>1</sup>, Sevcan Uğur<sup>2</sup>, Belkıs Koçtekin<sup>3</sup>, Aydan Karagül<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Kliniği, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Romatoloji Bilim Dalı, Antalya

<sup>3</sup>Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kan Merkezi, Antalya

<sup>4</sup>Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Antalya

## Özet

**Giriş:** Kompleman aktivasyonunun, hedef molekül dışında bulunan çevre dokulara zarar vermesini kompleman düzenleyici proteinler engeller. Özellikle CD35, CD46, CD55 ve CD59 hastalıklarla ilişkilendirilen kompleman düzenleyici proteinlerdir. Bu proteinlerin genetik varyasyonlarına bağlı olarak enfeksiyon, tromboz, otoimmün hastalıkların oluştuğu bir çok çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda sağlıklı Türk toplumunda periferel lökositlerde CD35, CD46, CD55 ve CD59 proteinlerinin ekspresyon düzeylerini ölçtük.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma yaşları 17-39 arasında değişen, 20 sağlıklı gönüllüde yapıldı. Alınan kan örnekleri CD35, CD46, CD55 ve CD59 antikorları kullanılarak, 1 saat içinde flow sitometrik olarak analiz edildi. CD35, CD46, CD55 ve CD59'u pozitif bulunan nötrofil, monosit ve lenfositler % olarak belirtildi.

**Bulgular:** CD35 düzeyinin en fazla nötrofillerde (%92), monosit (%84) ve en az oranda da lenfositlerde (%17) olduğu gözlemlendi. CD35 düzeyi lenfositlerde, monosit ve nötrofile göre anlamlı derecede düşük tespit edildi ( $p<0.05$ ). Lenfosit, monosit ve nötrofillerde CD46 düzeylerinin yaklaşık %99 oranında olduğunu tespit ettik. Nötrofil ve monosit yüzeyinde yaklaşık %100, lenfositlerde %85 oranında CD55 ekspresyonu vardı. CD55 düzeyi lenfositlerde, monosit ve nötrofile göre anlamlı derecede düşük tespit edildi ( $p<0.05$ ). Nötrofillerin yüzeyinde %100, lenfosit ve monositlerde %70-80 oranında CD59 varlığını tespit ettik. CD59 düzeyinin monosit ve lenfositlerde, nötrofillere göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Kompleman düzenleyici proteinlerin ekspresyonu toplumlara göre değişiklik göstermektedir. Endemik olarak sık görülen hastalıkların etyopatogenezini araştırırken kompleman düzenleyici proteinlerin ekspresyon varyasyonlarının düşünülmesi gereklidir.

**Anahtar Kelimeler:** Kompleman düzenleyici proteinler, sağlıklı populasyon, periferel lökositler

## Abstract

**Objective:** Complement regulatory proteins prevent the harmful effects of complement activation to the surrounding tissues other than target molecule. Particularly CD35, CD46, CD55, and CD59 are complement regulatory proteins that are related to diseases. Many studies were reported infectious, thrombotic, and autoimmune diseases developing due to genetic variations of these proteins. In this study we measured the expression levels of CD35, CD46, CD55, and CD59 on peripheral leucocytes in healthy Turkish population.

**Materials and Methods:** The study was held in 20 healthy volunteers whose ages range from 17 to 39. Blood samples were analysed by flow cytometry within one hour by using CD35, CD46, CD55, and CD59 antibodies. CD35, CD46, CD55, and CD59 positive neutrophils, monocytes, lymphocytes were mentioned as percentages.

**Results:** The highest CD35 level was found on neutrophils (92%), monocytes (84%) and the lymphocytes were the least (17%). CD35 levels were significantly lower on lymphocytes, compared to monocytes and neutrophils ( $p<0.05$ ). The CD46 level was detected approximately 99% on lymphocytes, monocytes, and neutrophils. The CD55 level was approximately 100% on neutrophils and monocytes whereas it was detected 85% on lymphocytes. CD55 levels were significantly lower on lymphocytes compared to monocytes and neutrophils ( $p<0.05$ ). The CD59 levels was detected 100% on neutrophils whereas it was detected 70-80% on both lymphocytes and monocytes. CD59 levels were significantly lower on monocytes and lymphocytes compared to neutrophils ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** Expression of complement regulatory proteins varies within different populations. Variations of complement regulatory expressions should be kept in mind during investigating endemic diseases.

**Key words:** Complement regulatory proteins, healthy population, peripheral leucocytes

## Genel Tıp Derg 2017;27(1):23-27

Alınan: 29.08.2016 / 07.09.2016 / Yayınlanma: 30.01.2017

Yazışma adresi: Ayşegül Uğur Kurtoglu, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Kliniği, Antalya

E-posta: ugurkurtoglu@yahoo.com

## Giriş

Kompleman sistemi; mikroorganizmalar, immune kompleksler, apoptotik hücreler vb moleküllere karşı vücudumuzun savunma mekanizmasıdır (1). Kompleman aktivasyonu klasik-lektin-alternatif yollar olmak üzere 3 yolak ile sağlanır. Bir seri zimojen-proteazların oluşturduğu litik makromolekül olan membran atak kompleksi (MAK) ile kompleman sisteminin etkileri meydana gelir (2). Bu litik etkinin hedef hücrelere yönlendirilmesi ve inflamasyon alanında bulunan diğer hücrelere zarar vermesinin önlenmesi kompleman düzenleyici proteinler tarafından kontrol edilir. Özellikle CD35 (kompleman reseptör 1, CR1), CD46 (membrane cofactor protein, MCP), CD55 (decay accelerating factor, DAF) ve CD59 (protectin) hastalıklarla ilişkilendirilen kompleman düzenleyici proteinlerdir (3). CD35, dolaşımda bulunan immun komplekslerin temizlenmesini sağlar (4). CD46, C3b-C4b basamağını etkileyerek kompleman aktivasyonunu ilerlemesini düzenler (5). CD55, C3 konvertazın oluşumunu engeller (6). CD59 ise kompleman aktivasyonunda C9 basamağında etki göstererek litik makromolekülün oluşmasını önler (7). Literatürde yineleyen enfeksiyonlar, ileri yaşa bağlı Alzheimer, otoimmün hastalıklar, membranoproliferatif glomerülonefrit, atipik hemolitik üremik sendrom, yaşa bağlı maküler dejenerasyon, herediter angioödem, paroksimal nokturnal hemoglobinüri (PNH), sistemik lupus eritematozus (SLE) vb. birçok hastalığın etyopatogenezinde kompleman düzenleyici proteinlerin rolü vurgulanmaktadır (8-10).

Son yıllarda kompleman sisteminin komponentleri ve düzenleyicileri için genetik varyasyonlar olduğunu bildiren çalışmalar dikkati çekmektedir. Bu varyasyonların kompleman ilişkili hastalıkların etyopatogenezinde rol oynadığı belirtilmektedir (11-13). Bazı enfeksiyon ajanların, otoimmün hastalıkların etnik kökeni farklı toplumlarda daha sık görülmesinin nedeni bu düzenleyici proteinlerin genetik varyansına bağlı olabilir. Çalışmamızda sağlıklı kişilerden alınan kan örneklerinde lökositlerinyüzeyde CD35, CD46, CD55 ve CD59 düzeylerini ölçerek toplumumuzda bu proteinlerin düzeylerini belirledik.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışma yaşları 17-39 arasında değişen 20 sağlıklı gönüllüde yapıldı. Etik kurul onayı alınan çalışmamıza ka-

tılan tüm kişilere bilgilendirme yapılarak onam formu düzenlendi. K2-EDTA tüpüne alınan periferik kan örneklerinden 1 saat içinde flow sitometri yöntemi ile periferik lökositlerde kompleman düzenleyici proteinlerin (CD35, CD46, CD55 ve CD59) düzeyleri ölçüldü.

## Periferik Lökositlerde Analiz

BD FACS Canto çalışma tüplerine ölçülecek her protein için ayrı ayrı CD35 (PE Mouse Anti-Human), CD46 (FITC Mouse Anti-Human), CD55(PE Mouse Anti-Human) ve CD59 (FITC Mouse Anti-Human) antikorları 20 µL koyuldu. Her bir tüpe 50 µL örnek numunedan ilave edildi. Vortex işleminden sonra 15 dakika karanlık ortamda bekletilen örnekler lyse solüsyonu ile muamele edildi. Wash solüsyonu ile yıkanan örneklerden FACS Canto II, Becton-Dickinson flow sitometri cihazında nötrofil, lenfosit ve monositler için Forward Scatter-A/ Side Scatter-A'da ayrı ayrı kapılar alınarak, bu hücrelerde CD35, CD46, CD55 ve CD59 düzeyleri ölçüldü.

## İstatistiksel Yöntem

Veriler IBM SPSS Statistics 20 (SPSS/IBM, Chicago, IL, USA) kullanılarak analiz edildi. Örneklemi tanımlamak için mean, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum gibi tanımlayıcı istatistikler kullanıldı. Normal dağılıma uygunluk varsayımı Shapiro-Wilk testi ile incelendi ve değişkenlerin normal dağılım varsayımını sağlamadığı saptandı. İki den fazla bağımsız grup için uygun olan Kruskal Wallis testi kullanıldı. İstatistiki olarak anlamlı fark bulunan değişkenlerde farkı yaratan grupları belirlemek amacıyla Bonferroni düzeltmesi ile Mann Whitney U testi yapıldı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

Periferik kan örneklerinde lökositler üzerinde ekspresyon edilen CD35, CD46, CD55 ve CD59 proteinleri % olarak **Tablo 1**'de gösterilmiştir. CD35 düzeyi lenfositlerde, monosit ve nötrofile göre anlamlı derecede düşük tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Monosit-nötrofil CD35 düzeyleri arasında fark bulunmadı (**Şekil 1**). Lenfosit-monosit ve nötrofillerde CD46 düzeylerinde farklılık tespit edilmedi (**Şekil 2**). CD55 düzeyi lenfositlerde, monosit ve nötrofile göre anlamlı derecede düşük tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Monosit-nötrofil CD55 düzeyleri arasında fark bulunmadı (**Şekil 3**). CD59 düzeyi monosit ve lenfositlerde, nötrofil-

lere göre anlamlı derecede düşük tespit edildi ( $p<0.05$ ). Monosit-lenfosit CD55 düzeyleri arasında fark bulunmadı (Şekil 4).

**Tablo 1.** Periferal lökosit ve eritrositler de %CD35, CD46, CD55 ve CD59 düzeyleri.

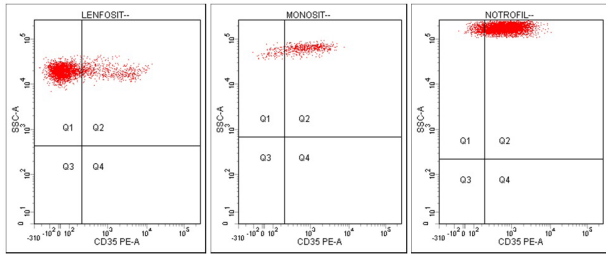
<sup>a</sup> $p<0.05$ : lenfosit CD35- monosit venötrofil CD35,

<sup>b</sup> $p<0.05$ : lenfosit CD55- monositvenötrofil CD55,

<sup>c</sup> $p<0.05$ : lenfosit CD59- nötrofil CD59,

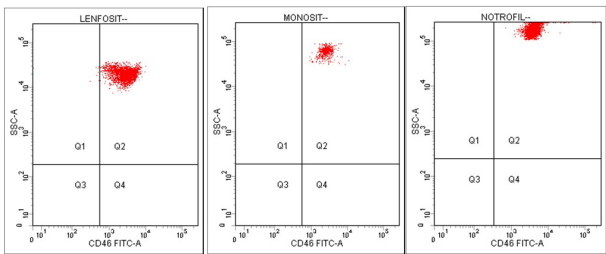
<sup>d</sup> $p<0.05$ : monosit CD59 nötrofil CD59.

%	Mean	SD	Median	Min	Max
Lenfosit35	16,6	2,9	16,0	13,0	22,5 <sup>a</sup>
Monosit35	84,8	7,8	86,0	68,0	97,4
Nötrofil35	92,2	7,2	93,6	77,7	99,8
Lenfosit55	84,3	6,3	84,7	73,3	94,7 <sup>b</sup>
Monosit55	99,6	,9	99,8	95,8	100,0
Nötrofil55	100	0	100	100	100,0
Lenfosit59	69,6	9,4	67,0	55,8	88,0 <sup>c</sup>
Monosit59	82,5	6,4	82,5	72,4	95,7 <sup>d</sup>
Nötrofil59	100	0	100	99	100
Lenfosit46	99,6	,4	99,8	98,7	100,0
Monosit46	99,6	,8	99,8	96,7	100,0
Nötrofil46	99,6	,8	99,8	96,7	100,0

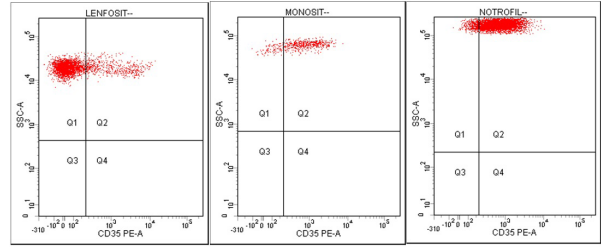


**Şekil 1.** Periferal lökositler de %CD35 düzeyleri.

(\* $p<0.05$ : lenfosit CD35 - monosit ve nötrofil CD35,)

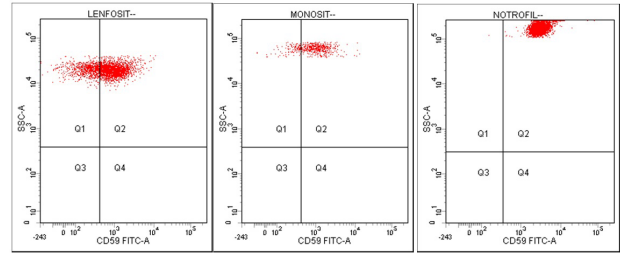


**Şekil 2.** Periferal lökositler de %CD46 düzeyleri.



**Şekil 3.** Periferal lökositler de %CD55 düzeyleri.

(\* $p<0.05$ : lenfosit CD55 - monosit ve nötrofil CD55)



**Şekil 4.** Periferal lökositler de % CD59 düzeyleri.

(\* $p<0.05$ : lenfosit CD59 - nötrofil CD59, \*\*  $p<0.05$ : monosit CD59 - nötrofil CD59)

## Tartışma

Kompleman sistemi 40'dan fazla proteinin görev aldığı vücudumuzun savunmasını sağlayan bir kaskaddir. Kompleman aktivasyonu olurken hedef molekül dışındaki sağlam dokuların zarar görmesini kompleman düzenleyici proteinler engeller. Son yıllarda birçok hastalığın etyopatogenezinde kompleman sisteminin özellikle de bu düzenleyici proteinlerin önemi belirtilmektedir (14).

CD35 eritrosit, lökosit ve glomerular podositlerde bulunan glikoprotein yapısında bir moleküldür. CD35, C3b ve C4b'nin reseptörüdür. Dolaşımda bulunan C3b ve C4b ile kaplı immun kompleksler ile bağlanarak, bu komplekslerin karaciğer ve dalağa taşınmasında görev alır. CD35 eksikliğinde dolaşımdan temizlenemeyen immun kompleksler dokularda birikir (15). CD35 polimorfizmi SLE, HIV, HCV gibi otoimmün ve kronik enfeksiyöz hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. CD35 polimorfizmi eritrosit yüzeyinde bulunan reseptör sayısı veya farklı molekül ağırlıklı formlarının olmasından kaynaklanır (16). Zhu ve ark'ları ileri yaşta görülen Alzheimer hastalığının etyopatogenezinde CR1 gen polimorfizminin etkili olduğunu belirtmişlerdir (17). Opi ve ark'ları Afrikalı toplumlarda eritrositlerdeki CD35 düzeylerinin varyasyon gösterdiğini

belirttikleri çalışmalarında Afrika'da malaryanın endemik olarak görülme nedeninin CR1 varyasyonu olduğunu vurgulamışlardır (18). Cockburn ve ark'ları malaryanın endemik olduğu Papau Yeni Gine'de sağlıklı populasyonun %80'ninin eritrositlerinde CR1 eksikliğinin olduğunu göstermişlerdir (12). Kalunian ve ark'ları SLE'li hastalarda membrane bağlı kompleman aktivasyon ürünlerinin diagnostik performansını karşılaştırdıkları çalışmalarında eritrositlerde CR1 düzeylerinin SLE hastalarında ( $16.1 \pm 0.5$  %) sağlıklı kişiler ( $20.7 \pm 0.5$  %)’e göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir (19). Çalışmamızda CD35 düzeyinin en fazla nötrofillerde, sonra sırasıyla monosit ve en az oranda da lenfositlerde olduğunu tespit ettik.

CD46 kompleman aktivasyonunu düzenleyen ve C3b/C4b-bağlı, çekirdekli hücre yüzeylerinde yaygın şekilde eksprese edilen bir glikoproteindir. Host hücrelerinde kompleman yolu ile oluşacak zedelenmeyi önlemek için alternatif yolun konvertaz (C3/C3b) aktivitesini regüle eder (20). Literatürde 60 dan fazla hastalığın MCP mutasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Atipik hemolitik sendrom ve trombotik mikroanjiopatik hastalık en sık tanımlanan mutasyonları arasındadır. Son yıllarda SLE, glomerülonefritler vs otoimmün hastalıkların MCP ile ilişkisi tanımlanmıştır (21). Cliffort ve ark'ları Avustralyalı çocuklarda yapmış oldukları çalışmada kızamık aşısı yapılmış olmasına rağmen yeterli antikor yanıtının sağlanamamasını CD46'nın genetik varyasyonu sonucu yetersiz CD46 ekspresyonuna bağlı olduğunu bildirmişlerdir (22). Çalışmamızda lenfosit, monosit ve nötrofillerde CD46 düzeylerinin yaklaşık %99 oranlarında olduğunu, eritrositlerde ise CD46'nın hiç olmadığını tespit ettik.

CD55, C3 ve C5 konvertaz enzimlerinin aktivitesini regüle ederek kompleman aktivasyonunu kontrol eder (23). CD55 PNH, immün kompleks aracılı artrit, malaria, HIV gibi çeşitli viral enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir (24). Örneğin Coxsackie B virüsü için CD55'in reseptör görevi olduğunu, enfeksiyonun gelişiminde DAF'ın önemini vurgulayan çalışmalar mevcuttur (25). Zhou ve ark Çin'de 425 kişide yaptıkları çalışmada 2009 yılında görülen H1N1 influenza A pandemisinde hastalığın şiddetinin konakçının CD55 gen polimorfizmine göre değiştiğini belirtmişlerdir. CD55'in respiratuar epitel hücrelerini kompleman aktivasyonundan koruduğunu, genetik olarak CD55'in az ekspresyonunda hastalığın şiddetinin arttığını vurgulamaktadırlar (26). Hamdoun ve ark'ları Mısır'da yaptıkları

çalışmalarında sağlıklı kişilerde eritrositlerde CD55 düzeyini %96 oranında tespit etmişlerdir (27). Çalışmamızda nötrofil ve monositlerin yüzeyinde yaklaşık %100, lenfositlerde %85 oranında CD55 varlığını tespit ettik.

CD59, C9'un C5b-8 kompleksine bağlanmasını önleyerek, membran saldırı kompleksinin oluşumunu engeller (28). CD59'un multipl skleroz, PNH, varizola zoster enfeksiyonları vs hastalıklarla olan ilişkisini belirten çalışmalar mevcuttur (29-30). Hamdoun ve ark'ları sağlıklı kişilerde eritrosit CD59 düzeyini %84 oranında bulmuşlar 27. düzeylerini Çalışmamızda nötrofil yüzeyinde yaklaşık %100, lenfosit ve monositlerde %70-80 oranında CD59 varlığını tespit ettik.

Kompleman düzenleyici proteinler genetik varyasyonları nedeniyle enfeksiyon, kanser, otoimmün hastalıklar, Alzheimer gibi bir çok hastalığın etyopatogenezinde önemli role sahiptirler. Endemik olarak sık görülen hastalıkların etyopatogenezini araştırırken kompleman regülatör proteinlerin ekspresyonun varyasyonlarının düşünülmesi gereklidir.

## Kaynaklar

1. Kristina A. Stoermer, Thomas E. Morrison. Complement and Viral Pathogenesis. Virology 2011; 411: 362-73.
2. Michael C. Carroll. Complement and Humoral Immunity. Vaccine 2008; 26: 128-33.
3. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K et al. Complement - a key system for immune surveillance and homeostasis. Nat Immunol 2010; 11: 785-97.
4. Java A, Liszewski MK, Hourcade DE et al. Role of complement receptor 1 (CR1; CD35) on epithelial cells: A model for understanding complement-mediated damage in the kidney. Mol Immunol 2015;67:584-95.
5. Yamamoto H, Fara AF, Dasgupta P, et al. CD46: the 'multitasker' of complement proteins. Int J Biochem Cell Biol 2013;45:2808-20.
6. Ferrer MF, Scharrig E, Alberdi L, et al. Decay-Accelerating Factor 1 Deficiency Exacerbates Leptospiral-Induced Murine Chronic Nephritis and Renal Fibrosis. PLoS One 2014; 9: e102860.
7. Cai B, Xie S, Liu F, et al. Rapid Degradation of the Complement Regulator, CD59, by a Novel Inhibitor. J Biol Chem 2014; 289:12109-25.
8. Watson R, Wearmouth E, McLoughlin AC, et al. Autoantibodies to CD59, CD55, CD46 or CD35 are not associated with atypical haemolytic uraemic syndrome (aHUS). Mol Immunol 2015; 63: 287-96.

9. DeZern AE, Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a complement-mediated hemolytic anemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2015;29:479-94.
10. Cicardi M, Bork K, Caballero T, et al. Evidence-based recommendations for the therapeutic management of angioedema owing to hereditary C1 inhibitor deficiency: consensus report of an International Working Group. *Allergy* 2012;67:147-57.
11. Wang Q, Zhao HS, Li L. Association between complement factor I gene polymorphisms and the risk of age-related macular degeneration: a Meta-analysis of literature. *Int J Ophthalmol* 2016;3:298-305.
12. Cockburn IA, Mackinnon MJ, O'Donnell A, et al. A human complement receptor 1 polymorphism that reduces *Plasmodium falciparum* rosetting confers protection against severe malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:272-7.
13. Kalunian KC, Chatham WW, Massarotti EM, et al. Measurement of cell-bound complement activation products enhances diagnostic performance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2012;64:4040-7.
14. Klaska I, Nowak JZ. The role of complement in physiology and pathology. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2007;61:167-77.
15. Melhorn MI, Brodsky AS, Estanislau J, et al. CR1-mediated ATP release by human red blood cells promotes CR1 clustering and modulates the immune transfer process. *J Biol Chem* 2013;288:31139-53.
16. Birmingham DJ, Irshaid F, Gavit KE, et al. polymorphism in the type one complement receptor (CR1) involves an additional cysteine within the C3b/C4b binding domain that inhibits ligand binding. *Mol Immunol* 2007; 44: 3510-16.
17. Zhu XC, Yu JT, Jiang T, et al. CR1 in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol* 2015;55:753-65.
18. Opi DH, Uyoga S, Orori EN, et al. Red blood cell complement receptor one level varies with Knops blood group,  $\alpha$ -thalassaemia and age among Kenyan children. *Genes Immun* 2016;17:171-8.
19. Kalunian KC, Chatham WW, Massarotti EM, et al. Measurement of cell-bound complement activation products enhances diagnostic performance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2012;64:440-7.
20. Liszewski MK, Kemper C, Price JD, et al. Emerging roles and new functions of CD46. *Springer Semin Immunopathol* 2005;27:345-58.
21. Liszewski MK, Atkinson JP. Complement regulator CD46: genetic variants and disease associations. *Hum Genomics* 2015;9:7.
22. Clifford HD, Hayden CM, Khoo SK, et al. CD46 measles virus receptor polymorphisms influence receptor protein expression and primary measles vaccine responses in naive Australian children. *Clin Vaccine Immunol* 2012;19:704-10.
23. Obaid JM, Abo El-Nazar SY, Ghanem AM, et al. Expression of CD55 on red blood cells of  $\beta$ -thalassemia patients. *Hemoglobin*. 2014;38:339-44.
24. Karpus ON, Kiener HP, Niederreiter B, et al. CD55 deposited on synovial collagen fibers protects from immune complex-mediated arthritis. *Arthritis Res Ther*;17:6. doi: 10.1186/s13075-015-0518-4.
25. Riabi S, Harrath R, Gaaloul I, et al. Study of Coxsackie B viruses interactions with Coxsackie Adenovirus receptor and Decay-Accelerating Factor using Human CaCo-2 cell line. *J Biomed Sci*. 2014 May 21;21:50. doi: 10.1186/1423-0127-21-50.
26. Zhou J, To KK, Dong H, et al. A functional variation in CD55 increases the severity of 2009 pandemic H1N1 influenza A virus infection. *J Infect Dis*;206:495-503.
27. Hamdoon MN, Fattouh M, El-Din AN, et al. The potential role of cell surface complement regulators and circulating CD4+ CD25+ T-cells in the development of autoimmune myasthenia gravis. *Electron Physician* 2016;8:1718-26.
28. Tegla CA, Cudrici C, Patel S, et al. Membrane attack by complement: the assembly and biology of terminal complement complexes. *Immunol Res* 2011;51:45-60.
29. Brodsky RA. Complement in hemolytic anemia. *Blood* 2015; 126:2459-65.
30. Wang W, Wang X, Yang L, et al. Modulation of host CD59 expression by varicella-zoster virus in human xenografts in vivo. *Virology* 2016;491:96-105.