proLékaře.cz | 27.7.2025

Přirozené protilátky proti α(1,3) galaktosylovému epitopu v séru nemocných s maligními nádory

Hamanová M.[1], Zdražilová Dubská L.[2], Valík D.[2], Lokaj J.[3]

[1]BioVendor – Laboratorní medicína, a. s., Brno
[2]Masarykův onkologický ústav, Oddělení laboratorní medicíny, Brno
[3]Ústav klinické imunologie a alergologie, Lékařská fakulta MU, Brno

SOUHRN

Východisko: Přirozené protilátky proti sacharidovým antigenům jsou součástí lidských sér; nejvíc je jich namířeno proti α-galaktosylovému epitopu *(Galα1-3Galβ1-4GlcNAc-R)*. Experimentální a úvodní klinické studie ukazují na možnost využití antigalaktosylových protilátek pro imunoterapii onkologických pacientů preparáty glykolipidů obsahujících α-galaktosylový epitop. Předpokladem tohoto terapeutického postupu je přítomnost dostatečného množství těchto protilátek v sérech nemocných s maligními nádory. V literatuře jsou zmínky o výskytu těchto protilátek u onkologických pacientů pouze ojedinělé. Údaje o jejich množství a o izotypové charakteristice u různých nádorových onemocnění chybí.
Materiál a metody: Byl vypracován ELISA-test se syntetickým disacharidem *Galα1-3Galβ* vázaným na polyakrylamid, který umožňuje kvantitativní průkaz antigalaktosylových protilátek v izotypech IgM, IgG a IgA. Tímto testem byla vyšetřena séra od 57 nemocných s mamárním, kolorektálním, pankreatickým karcinomem a melanomem a výsledky byly srovnány s výskytem těchto protilátek u 145 zdravých osob.
Výsledky: Koncentrace antigalaktosylových protilátek v séru (anti-Gal) je závislá na pohlaví: IgM anti-Gal jsou u zdravých žen ve vyšších titrech než u zdravých mužů ($p < 0{,}01$). V séru pacientů s mamárním karcinomem, kolorektálním karcinomem, karcinomem pankreatu a maligním melanomem jsou přítomny přirozené protilátky proti galaktosylovému epitopu v koncentracích podobných jako u zdravých osob, a to v izotypech IgG, IgM a IgA. U pacientů, mužů, s kolorektálním karcinomem byly zjištěny koncentrace IgA anti-Gal vyšší než u zdravých mužů ($p < 0{,}01$).
Závěr: Antigalaktosylové protilátky jsou přítomny v sérech nemocných s maligními nádory a v sérech zdravých osob ve srovnatelných koncentracích i izotypech.

KLÍČOVÁ SLOVA

alfa(1,3) galaktosylový epitop – přirozené protilátky – anti-Gal – ELISA – imunoterapie zhoubných nádorů

ABSTRACT

Hamanová M., Zdražilová Dubská L., Valík D., Lokaj J.: Natural antibodies against α(1,3) galactosyl epitope in the serum of cancer patients
Background: Natural antibodies against saccharide antigens are found in the human serum; most of them are directed against α-galactosyl epitope (*Galα1-3Galβ1-4GlcNAc-R*). Experimental and initial clinical studies show the potential for use of anti-galactosyl antibodies in the immunotherapy of cancer patients with glycolipids containing the α-galactosyl epitope. This therapeutic approach is based on the presence of these antibodies in the serum of cancer patients. Only scarce literature data is available on the incidence of these antibodies in cancer patients. Data is lacking on their amounts and isotype characteristics in different types of cancer.
Material and methods: An ELISA test with a polyacrylamide-conjugated synthetic disaccharide, *Galα1-3Galβ*, has been designed for quantitative detection of anti-galactosyl IgM, IgG, and IgA antibody isotypes. This test was used to screen the sera from 57 patients with breast, colorectal, or panceatic cancer or malignant melanoma and from 145 healthy controls.
Results: The serum concentration of anti-galactosyl antibodies (anti-Gal) is gender dependent: anti-Gal IgM antibodies are present in higher titres in healthy women than in healthy men ($p < 0.01$). Patients with breast, colorectal, or pancreatic cancer or malignant melanoma had comparable serum levels of anti-Gal IgM, IgG, and IgA antibody isotypes to healthy controls. Male patients with colorectal cancer had higher anti-Gal IgA antibodies than healthy men ($p < 0.01$).
Conclusion: Comparable concentrations and isotypes of anti-galactosyl antibodies are found in the serum of cancer patients and healthy controls.

KEYWORDS

alpha(1,3) galactosyl epitope – natural antibodies – anti-Gal – ELISA – cancer immunotherapy

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 63, 2014, č. 2, s. 130–133

proLékaře.cz | 27.7.2025

ÚVOD

Základem protinádorové léčby je chirurgické odstranění nádoru, radioterapie a chemoterapie. Stále více se však uplatňuje imunoterapie, která tuto konvenční léčbu doplňuje a někdy i nahrazuje. Významné postavení při ní mají protilátky, zvláště monoklonální, namířené proti nádorovým antigenům. Jejich účinnost je zvyšována konjugací s toxiny, radionuklidy, polymery [1]. Novým přístupem je využití přirozených protilátek proti galaktosylovému epitopu, které jednak mohou zprostředkovat destrukci nádorové buňky, jednak umožňují imunogennost nádorových antigenů [2]. Tyto přirozené protilátky byly původně prokazovány jako xenoaglutininy s králičími erytrocyty [3]. Epitop, proti kterému jsou namířeny, byl identifikován jako galaktosyl Galα1-3Galβ1-4GlcNAc-R [4]. Antigalaktosylové protilátky (anti-Gal) se vyskytují pouze u člověka, lidoopů a u opic Starého světa, u nichž došlo v průběhu evoluce k inaktivaci genu pro glykosylační enzym a tato struktura se tudíž u nich netvoří. V lidském séru tvoří asi 1% sérového IgG (tj. 20–100 ug/ml) a jsou přítomny ve všech podtřídách IgG a také v IgM a v IgA. Jejich tvorba je indukována fyziologickou střevní mikroflórou [5]. V experimentální imunologii se používají geneticky modifikované myši (C57BL/6–H-2bxd α1,3GT KO), které galaktosylový epitop nemají a protilátky proti němu tudíž tvoří [6].

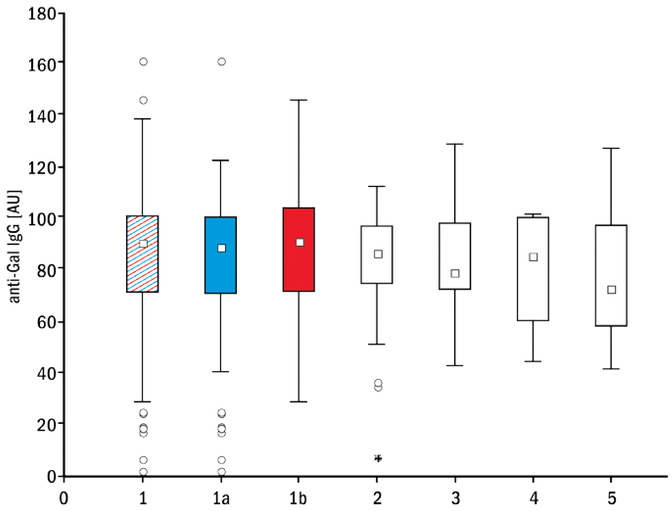
V literatuře jsou ojedinělé údaje o aberantní expresi galaktosylového epitopu v některých maligně transformovaných buňkách [7]. Tuto strukturu je však možno nádorům dodat: původní metodika je založena na transfekci nebo transdukci genu pro α-1,3-galaktosyltransferasu [2], jako vhodnější se jeví přímé vpravení α-gal glykolipidu do nádorové tkáně [8]. Nabízí se tak nový způsob imunoterapie nádorů, kdy by bylo využito interakce preformovaných přirozených antigalaktosylových protilátek s nádorovými buňkami exprimujícími galaktosylový epitop. Využití experimentálních údajů v klinické onkologii předpokládá především důkaz o přítomnosti dostatečného množství těchto protilátek v sérech nemocných s maligními nádory. V literatuře jsou pouze ojedinělé zmínky, že se tyto protilátky u onkologických pacientů vyskytují [9, 10]. Informace o jejich hladině u různých nádorových onemocnění a o izotypové charakteristice těchto protilátek však zatím chybí. Vypracovali jsme ELISA-test, který umožňuje kvantitativní průkaz antigalaktosylových protilátek v izotypech IgM, IgG a IgA. V předložené práci uvádíme výsledky vyšetření antigalaktosylových protilátek v sérech nemocných s mamárním karcinomem, kolorektálním karcinomem, karcinomem pankreatu a melanomem a srovnáváme je s výskytem těchto protilátek u zdravých osob.

MATERIÁL A METODY

K vyšetření byla použita séra pacientů Masarykova onkologického ústavu v Brně z odběrů krve v rámci standardních diagnostických postupů v souladu s požadavky etické komise. Séra byla získána od pacientů po potvrzení diagnózy na MOÚ bez ohledu na klinické stadium choroby. Byly zpracovány vzorky od 22 pacientek se zhoubným novotvarem prsu, od 20 pacientů se zhoubným novotvarem tlustého střeva, od 6 pacientů s novotvarem slinivky břišní a od 9 pacientů se zhoubným melanomem. Kontrolní séra byla získána od věkově odpovídajících zdravých dobrovolníků (61 mužů a 84 žen) s jejich informovaným souhlasem. Krev byla odebírána venepunkcí standardním způsobem, sérum bylo získáno po půlhodinové koagulaci při pokojové teplotě centrifugací a uchováváno při -20 °C.

Naše metodika, umožňující kvantitativní stanovení antigalaktosylových protilátek v IgM, IgG a IgA, je založena na enzymové imunoeseji, detekčním antigenním reagens je syntetický disacharid Galα1-3Galβ kovalentně vázaný na poly[N-(2-hydroxyethyl)akrylamid] (Lectinity Holdings, Inc., Moskva, Rusko).

Polystyrenové mikrotitrační destičky (Nunc MaxiSorp, Roskilde, Denmark) jsou potaženy antigenním reagens: na jamku 100 µl antigenu v koncentraci 5 µg/ml v 0,1M uhličitanovém pufru pH 9,6; inkubace při 4 °C přes noc, promytí promývacím roztokem Tris-NaCl-Tween 20 (Aesku Diagnostics GmbH, Wendelsheim, Germany). K blokování je používán 0,1M PBS s 1% BSA, pH 7,4 (150 µl na jamku, 1,5 hodiny při 37 °C). Séra jsou ředěna 1 : 40 roztokem PBS-BSA-Tween (0,1M PBS pH 7,4 s 1% BSA a 5% Tweenem 20). Naředěná séra jsou napipetována po 100 µl do jamek v dubletech a inkubována 2 hod. při 37 °C. Po promytí promývacím roztokem jsou do jamek přidána po 100 µl antiséra značená peroxidázou, inkubace trvá 1 hod. při pokojové teplotě. K průkazu IgM, IgG a IgA jsou použita antiséra IgM/HRP, IgG/HRP a IgA/HRP (Dako Cytomation, Glostrup, Denmark). Po odstranění nenavázaných protilátek promývacím roztokem je do jamek přidán v množství 100 µl substrát (TMB Substrate Chromogen, DakoCytomation, USA), inkubace trvá 7 minut při pokojové teplotě a reakce je zastavena 1 M H_2SO_4. Optická denzita je měřena na fotometru MRXII (Dynex) při 450 nm. Výsledky jsou uvedeny v arbitrárních jednotkách (A. U.), které jsou vypočítány z kalibrační křivky sestrojené z hodnot titrace směsi sér od zdravých dárců krve AB + Rh +. Jako 100 A. U. je vzata hodnota optické denzity standardního séra ředěného 1 : 40.



Graf 1. Antigalaktosylové protilátky IgG v sérech 145 zdravých osob (1 – muži i ženy, 1a – muži, n = 61, 1b – ženy, n = 84) a pacientů s nádory (2 – 22 pacientek se zhoubným novotvarem prsu, 3 – 20 pacientů se zhoubným novotvarem tlustého střeva, 4 – 6 pacientů s novotvarem slinivky břišní a 5 – 9 pacientů se zhoubným melanomem)
Krabicový graf z více proměnných zahrnuje 25–75 % naměřených hodnot; ☐ = medián; I = rozsah hodnot neodlehlých; ○ = odlehlé hodnoty; + = extrémy.

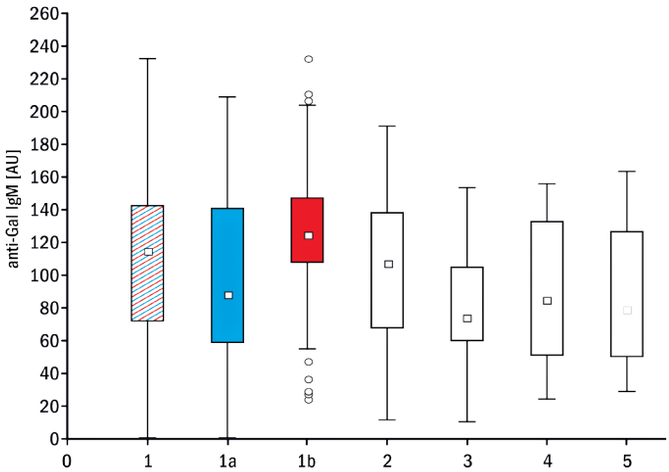
Fig 1. Anti-galactosyl IgG antibodies in the serum of 145 healthy controls
(1 – males and females, 1a – males, n = 61, 1b – females, n = 84) and 57 cancer patients (2 – 22 females with breast cancer, 3 – 20 patients with colorectal cancer, 4 – 6 patients with pancreatic cancer, and 5 – 9 patients with malignant melanoma).
Box plot for multiple variables includes 25–75% measured values; ☐ = median; I = non-outlier range; ○ = outliers; + = extremes.

proLékaře.cz | 27.7.2025

Ke statistickému zpracování výsledků bylo použito software STATISTIKA (Stasoft, Inc), verze 7.

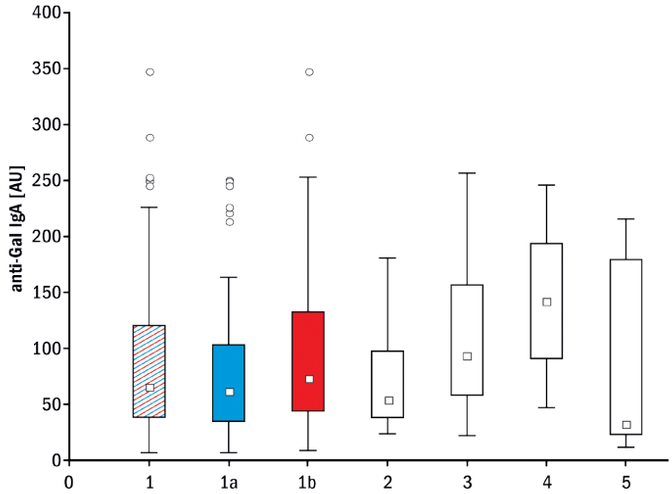
VÝSLEDKY

Hladiny antigalaktosylových protilátek (anti-Gal) v izotypech IgG, IgM a IgA jsou znázorněny v grafech 1, 2 a 3. Je zřejmé, že jak u kontrolních zdravých osob, tak u onkologických pacientů existuje výrazný kvantitativní rozptyl.
Koncentrace **IgG anti-Gal** jsou u zdravých osob a u pacientů srovnatelné, bez statistických rozdílů mezi jednotlivými skupinami (graf 1).
Koncentrace **IgM anti-Gal** (graf 2) jsou u zdravých žen statisticky významně vyšší než u zdravých mužů ($p < 0,01$). U žen s karcinomem prsu jsou IgM anti-Gal ve srovnání s ženami z kontrolní skupiny sice v nižších koncentracích, ale statisticky nevýznamně ($p = 0,065$).
V případě **IgA anti-Gal** (graf 3) jsme zaznamenali vyšší koncentrace u pacientů s karcinomem pankreatu, počet pacientů k interpretaci je však nízký, n = 6. Při analýze pacientů, mužů, s kolorektálním karcinomem (n = 15) jsme naměřili vyšší koncentrace IgA anti-Gal ve srovnání s muži z kontrolní skupiny (statistická významnost $p < 0,01$). Rozdíly v koncentraci celkových IgA byly u těchto skupin statisticky nevýznamné.



Graf 2. Antigalaktosylové protilátky IgM v sérech 145 zdravých osob (1 – muži i ženy, 1a – muži, n = 61, 1b – ženy, n = 84) a pacientů s nádory (2 – 22 pacientek se zhoubným novotvarem prsu, 3 – 20 pacientů se zhoubným novotvarem tlustého střeva, 4 – 6 pacientů s novotvarem slinivky břišní a 5 – 9 pacientů se zhoubným melanomem).
Krabicový graf z více proměnných zahrnuje 25–75 % naměřených hodnot; ☐ = medián; I = rozsah hodnot neodlehlých; ○ = odlehlé hodnoty, + = extrémy.
Koncentrace IgM anti- Gal jsou u zdravých žen statisticky významně vyšší než u zdravých mužů ($p < 0,01$).

Fig 2. Anti-galactosyl IgM antibodies in the serum of 145 healthy controls
(1 –0 males and females, 1a – males, n = 61, 1b – females, n = 84) and 57 cancer patients (2 – 22 females with breast cancer, 3 – 20 patients with colorectal cancer, 4 – 6 patients with pancreatic cancer, and 5 – 9 patients with malignant melanoma).
Box plot for multiple variables includes 25–75% measured values; ☐ = median; I = non-outlier range; ○ = outliers; + = extremes.
Anti-Gal IgM antibody concentrations are statistically significantly higher in healthy women than in healthy men ($p < 0.01$).



Graf 3. Antigalaktosylové protilátky IgA v sérech 145 zdravých osob (1 – muži i ženy, 1a – muži, n = 61, 1b – ženy, n = 84) a pacientů s nádory (2 – 22 pacientek se zhoubným novotvarem prsu, 3 – 20 pacientů se zhoubným novotvarem tlustého střeva, 4 – 6 pacientů s novotvarem slinivky břišní a 5 – 9 pacientů se zhoubným melanomem).
Krabicový graf z více proměnných zahrnuje 25–75% naměřených hodnot; ☐ = medián; I = rozsah hodnot neodlehlých; ○ = odlehlé hodnoty, + = extrémy.
U pacientů, mužů, s kolorektálním karcinomem (n = 15) jsou koncentrace IgA anti-Gal statisticky významně vyšší ($p < 0,01$) než u mužů zdravých. Podobný rozdíl je i u karcinomu pankreatu (vyšetřeno však pouze 6 pacientů).

Fig 3. Anti-galactosyl IgA antibodies in the serum of 145 healthy controls
(1 – 0 males and females, 1a – males, n = 61, 1b – females, n = 84) and 57 cancer patients (2 – 22 females with breast cancer, 3–20 patients with colorectal cancer, 4 – 6 patients with pancreatic cancer, and 5 – 9 patients with malignant melanoma).
Box plot for multiple variables includes 25 –75% measured values; ☐ = median; I = non-outlier range; ○ = outliers; + = extremes.
Anti-Gal IgA antibody concentrations are statistically significantly higher in male patients with colorectal cancer (n = 15) than in healthy men ($p < 0.01$). A similar difference was observed between male patients with pancreatic cancer (n = 6 only) and healthy men.

DISKUSE

Možnost využití přirozených protilátek proti galaktosylovému epitopu (anti-Gal) rozšiřuje repertoár současné imunoterapie onkologických pacientů. Mechanismus protinádorového účinku je v tomto případě dvojí. Za prvé, nádorová buňka exprimující galaktosylový epitop (jako jeden z projevů maligní konverse nebo po arteficiálním vpravení) po vazbě antigalaktosylových protilátek přítomných v séru pacienta může být zničena hyperakutní rejekcí, způsobenou komplement-dependentní cytolýzou a buněčnou cytotoxicitou závislou na protilátkách (ADCC). I když u pacientů s nádorovými chorobami defekty aktivačních drah komplementového systému přítomny nejsou, problém může být v relativní rezistenci nádorových buněk k membránovému lytickému komplexu. Ta je podmíněna abnormální expresí regulačních proteinů komplementu, zejména CD46, CD55, CD59 na maligně transformovaných buňkách, ale také solubilním faktorem H [11, 12]. Na experimentálních modelech se tento problém daří překonat [13]. Za druhé, tyto anti-Gal protilátky, opsonizují nádo-

proLékaře.cz | 27.7.2025

rové buňky, které mají ve své membráně galaktosylový epitop, zprostředkovávají vazbu nádoru na buňky předkládající antigen (APC), využívajíce jejich receptoru pro Fc fragment imunoglobulinu (FcγR). Uvádí se, že endocytóza nádorových buněk opsonizovaných IgG prostřednictvím FcγR na dendritických buňkách vede ke zkřížené prezentaci antigenních peptidů a efektivní imunitní reakci na úrovni jak protilátkové, tak buněčné. Mimořádně významné je to, že se imunitní reakce rozvíjí i proti dalším nádorovým antigenům [2, 8, 14, 15].

Uplatnění poznatků získaných na experimentálních modelech v klinické onkologii předpokládá především potvrzení, že pacienti s nádory mají tyto protilátky v dostatečném množství. V literatuře jsou o tom zmínky ojedinělé [2, 9, 10, 14]. Naše výsledky jsou s nimi ve shodě, ale dostupné údaje rozšiřují. Dokládáme, že tyto protilátky jsou přítomny v izotypech IgM, IgG a IgA v množství srovnatelném se zdravými osobami i u pacientů s karcinomem prsu, s kolorektálním karcinomem, s karcinomem pankreatu a s melanomem. Hlubší analýzu zasluhuje naše zjištění statisticky významně vyšších koncentrací IgA anti-Gal u pacientů s kolorektálním karcinomem. V této souvislosti jsou pozoruhodná sdělení Itzkowitze et al. [16] o antigenních alteracích v tkáních kolorektálního karcinomu týkajících se exprese inkompatibilních antigenů krevních skupin a Chena et al. [17] o tvorbě imunoglobulinů i nelymfoidními buňkami nádorů. S ohledem na potenciální terapeutické využití přirozených antigalaktosylových protilátek v onkologii by bylo vhodné zaměřit cytologické vyšetření i na aberantní expresi galaktosylového epitopu na buňkách nádorů. V souvislosti s možnými molekulárními změnami maligně transformovaných buněk je však třeba uvažovat také o strukturách, imitujících galaktosylový epitop, např. peptidech [18].

Lze předpokládat, že intervence založená na interakci galaktosylového epitopu v nádorových buňkách s antigalaktosylovými protilátkami séra by se mohla uplatnit kromě léčby nádorů v pokročilém stadiu také při neoadjuvantní terapii, např. před resekcí tumoru a že by mohla přispět i k omezování metastatického šíření nádorového procesu [8]. S pozorností je proto třeba čekat na výsledky klinických studií, které ohlásili Mandles et al. (lymfom) [14] a Rossi et al. (karcinom plic a prsu) [19]. První slibné údaje uvádí Whalen et al. [20]. V klinické studii koncipované jako I. fáze byl aplikován do nádorového ložiska jedenácti pacientům s velmi pokročilým stadiem karcinomu pankreatu, tlustého střeva, prostaty, ledvin, vaječníků, preparát glykolipidů s galaktosylovým epitopem. Prodloužené přežívání takto léčených pacientů vede autory k názoru, že byla navozena účinná protinádorová imunitní reakce.

Literatura

1. Waldmann TA. Immunotherapy: past, present and future. *Nature Med*, 2003;9:269–277.
2. Galili U, LeTemple DC. Natural anti-Gal antibody as a universal augmenter of autologous tumor vaccine immunogenicity. *Immunology Today*, 1997;18(6):281–285.
3. Tönder O, Natvig JB, Matre R. Antibodies in human sera to rabbit erythrocytes. *Immunology*, 1967;12:629–637.
4. Galili U, Rachmilewitz EA, Peleg A, Flechner I. A unique natural human IgG antibody with anti-α-galactosyl specificity. *J exp Med,* 1984;160:1519–1531.
5. Galili U. Anti-Gal: an abundant human natural antibody of multiple-pathogeneses and clinical benefits. *Immunology,* 2013;140:1–11.
6. Galili U. Evolution and pathophysiology of the human natural anti--Gal antipody. *Springer Semin Immunopathol*, 1993;15:155–171.
7. Castronovo V, Colin C, Parent B, Foidart JM, Mahieu P. Possible role of human anti-gal antibodies in the natural antitumor defense system. *J Natl Cancer Inst*, 1989;81:212-216.
8. Galili U, Wigglesworth K, Abdel-Motal UM. Intratumoral injection of α-gal glycolipids induces xenograft – like destruction and conversion of lesions into endogenous vaccines. *J Immunol,* 2007;178:4676–4687.
9. Tremont-Lukas IW, Avila JL, Hernandez D, Vasquez J, Teixeira GM, Rajas M. Antibody levels against alpha-galactosyl epitopes in sera of patients with squamous intraepithelial lesions and early invasive cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*, 1997;64:207–212.
10. Larkin JMG, Norsworthy PJ, A'Hern RP, Eisen TG, Gore ME, Porter CD. Anti-αGal- dependent complement-mediated cytotoxicity in metastatic melanoma. *Melanoma Res,* 2006;16:157–163.
11. Markiewski MM, Lambris JD. Is complement good or bad for cancer patients? A new perspective on an old dilema. *Trends Immunol,* 2009;30:286–292.
12. Fishelson Z, Donin E, Zell S, Schultz S, Kirschfink M. Obstacles to cancer immunotherapy: expression of membrane complement regulatory proteins (mCRPs) in tumors. *Mol Immunol,* 2003;40:109–123.
13. Hellrung DJ, Kisselev S, Link CJ. Co-expression of [alpha] (1,3) galactosyltransferase and Bacillus thurigiensis PIPLC enhances hyperacute rejection of tumor cells. *Cancer. Immunol Immunother*, 2007;56:25–35.
14. Manches O, Plumas J, Lui G, Chaperot L, Molens JP, Sotto JJ, Bensa JJ, Galili U. Anti-Gal mediated targeting of human B-lymphoma cells to antigen-presenting cells: a potential method for immunotherapy using autologous tumor cells. *Haematologica*, 2005;90:625–634.
15. Rossi GR, Mantino MR, Unfer RC, Seregina TM, Vahanian N, Link CJ. Effective treatment of preexisting melanoma with whole cell vaccines expressing α(1,3)-galactosyl epitopes. *Cancer Res*, 2005;65:10555–10561.
16. Itzkowitz SH, Yuan M, Ferell LD, Palekar A, Kim YS. Cancer-associated alterations of blood group antigen expression in human colorectal polyps. *Cancer Res*, 1986;46:5976–5984.
17. Chen Z, Qiu X, Gu J. Immunoglobulin expression in non-lymphoid lineage and neoplastic cells. *Amer J Pathol,* 2009;174:1139–1148.
18. Sandrin MS, Vaughan HA, Xing PX, McKenzie IF. Natural human anti-Gal(1,3)Gal antibodies react with human mucin peptides. *Glycoconj J*, 1997;14:97–105.
19. Rossi GR, Unfer RC, Seregina T, Link CJ. Complete protection against melanoma in absence of autoimmune depigmentation after rejection of melanoma cells expressing α(1-3) galactosyl epitope Cancer. *Immunol Immunother,* 2005;54:999–1009.
20. Whalen GF, Sullivan M, Wasseff W, Galili U. Cancer immunotherapy by intratumoral injection of α-gal glycolipids. *Anticancer Res,* 2012;32:3861–3868.

Poděkování: *Podpořeno granty MHCZ – DRO – MMCI00209805, RECAMO.CZ.1.05/2.1.00/03.0101, ACIU LM2011017 a MZ ČR- NR/9035-4.*

Do redakce došlo dne 15. 1. 2014.

Adresa pro korespondenci:
Prof. MUDr. Jindřich Lokaj, CSc.
Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU
Pekařská 53
656 91 Brno
e-mail: jlokaj@med.muni.cz