

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2018-719  
(22) Přihlášeno: 19.12.2018  
(40) Zveřejněno: 01.07.2020  
(Věstník č. 27/2020)  
(47) Uděleno: 09.12.2021  
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: 19.01.2022  
(Věstník č. 3/2022)

G01N 33/50 (2006.01)  
G01N 33/52 (2006.01)  
G01N 33/574 (2006.01)  
G01N 33/82 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

KUMAR, Rajendran Naresh, et al. Protective role of 20-OH ecdysone on lipid profile and tissue fatty acid changes in streptozotocin induced diabetic rats. *European journal of pharmacology*, 2013, 698.1-3: 489-498; ISSN: 0014-2999; JIANG, Yanrui, et al. An intrinsic tumour eviction mechanism in *Drosophila* mediated by steroid hormone signalling. *Nature Communications*, 2018 (1.12.2018), 9.3293: 1-9; ISSN: 2041-1723; KONOVALOVA, N. P., et al. Ecdysterone modulates antitumor activity of cytostatics and biosynthesis of macromolecules in tumor-bearing animals. *Izvestiia Akademii nauk. Seriya biologicheskaja*, 2002, 6: 650-658; ISSN: 1026-3470; str. 530 – 535; LAFONT, R.; DINAN, L. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: and update. *Journal of insect science*, 2003, 3.1; E-ISSN: 1536-2442; str. 9 – 15, tab. 1, 2, 3, 5. WO 2018/197708 A1; WO 2010/040345 A2; DE 102012204823 A1.

(73) Majitel patentu:

Dr. Karel Sláma, Praha 6, Vokovice, CZ

(72) Původce:

Dr. Karel Sláma, Praha 6, Vokovice, CZ

(74) Zástupce:

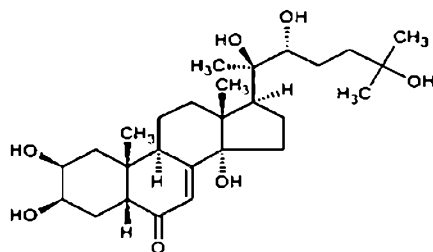
HARBER IP s.r.o., Dukelských hrdinů 567/52,  
170 00 Praha 7, Holešovice

(54) Název vynálezu:

**Způsob stanovení rizika vzniku maligních nádorů**

(57) Anotace:

Řešení se týká způsobu stanovení rizika vzniku maligních nádorů *in vitro* pomocí stanovení látky Ia v odebraném vzorku krve subjektu a porovnáním s jeho prahovou hodnotou.



(Ia)

## Způsob stanovení rizika vzniku maligních nádorů

### Oblast techniky

5

Předkládaný vynález se týká použití známé látky při způsobu stanovení rizika vzniku maligních nádorů. Využití předkládaného vynálezu je v oblasti lékařství a farmacie.

### 10 Dosavadní stav techniky

Výzkum hlavního růstového vitamínu, antirachitického vitamínu D spadá do období 30. let minulého století. Složitými výzkumy bylo zjištěno, že chemická struktura tohoto vitamínu mohla být v určité souvislosti se strukturou 7-dehydrocholesterolu. Výsledkem rozsáhlého testování pak byly nalezeny chemické látky typu sekosterolů, které byly nazvané vitamín D2 (ergokalciferol) a D3 (cholecalciferol). Tyto sloučeniny byly málo účinné a poskytovaly biologicky aktivní vitaminózní složky teprve po ozáření paprsky ultrafialového záření. Chemická stavba vitamínu D1 nebyla dodnes přesně určena, protože byla zběžně pojmenována jenom jako produkt UV-ozáření vitamínu D2. Stejně jako jiné látky odvozené od cholesterolu, byly tyto vitamíny zařazené mezi látky rozpustné výhradně v tukových rozpouštědlech. Jejich výskyt byl proto nasměrován především na živočišné tuky, jako je máslo nebo tresčí olej. Kromě pozdějšího klinického zjištění dodatečné hydroxylace vitamínu D3 v játrech (D3-triol), zůstaly uvedené základní vědomosti o antirachitickém růstovém vitamínu D po celou dobu 20. století a vlastně až do dnešní doby beze změny (Wolf, G. 2004. J. Nutr.134, 1299-1302).

25

O 30 let později, objevil náhodou při pokusu o izolaci hmyzího svlékáčeho hormonu německý chemik P. Karlson poprvé strukturu polyhydroxylovaného derivátu 7-dehydrocholesterolu, který nazval ekdyson (Karlson, P., 1966: Naturwissenschaften 53, 445-453). Tato látka byla obecně pokládána vědeckou komunitou za hormon prothorakální žlázy, stimulující vývojové cykly spojené se svlékáním hmyzu (ekdyse). Ironií osudu, fytochemici v různých částech světa popsali téměř současně přítomnost tohoto "hmyzího hormonu" v různých druzích rostlin. Některé rostliny, jako na příklad kapradina *Polypodium vulgare*, obsahovala v 1 gramu oddenků stejné množství ekdysonu jako 500 kg kukel bource morušového, ze kterých izoloval ekdyson P. Karlson (Jizba, J. a ostatní, 1967: *Tetrahedron Letters* 18, 1689-1691). Rozsáhlé pokusy v letech 1970-1985 ukázaly, že polyhydroxylované deriváty 6-keto, 7-dehydrocholesterolu, obsažené hojně v různých druzích nižších i vyšších rostlin, mají význačné anaboličké růstové účinky u různých druhů bezobratlých živočichů, obratlovců a savců včetně člověka (Sláma, K. a R. Lafont, 1995: *European Journal of Entomology* 92, 355-378). Výsledky mých vlastních pokusů na hmyzu ukázaly, že prothorakální žláza nehraje žádnou roli v regulaci hmyzího vývoje a také že ekdyson nemá vliv na vyvolání ekdyse. Dále se ukázalo, že ekdyson není žádný hormon, protože jeho biologické účinky jsou v rozporu s definicí živočišného hormonu (Sláma, K. 1998: *Ann. Ent. Soc. Amer.* 91, 168-174). Všechny tyto výsledky poukazyvaly na to, že látky typu ekdysonu, to znamená polyhydroxylovaného 6-keto, 7-dehydrocholesterolu, nemají statut živočišného hormonu, ale jsou velice důležité jako růstové faktory většiny živých organismů, včetně mikroorganismů, hub, rostlin, bezobratlých živočichů i obratlovců a také pro růst kostí a svalů u lidí (Sláma, K. & A. Zhylitskaya, 2016: *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 181-182, 56-67).

### 50 Podstata vynálezu

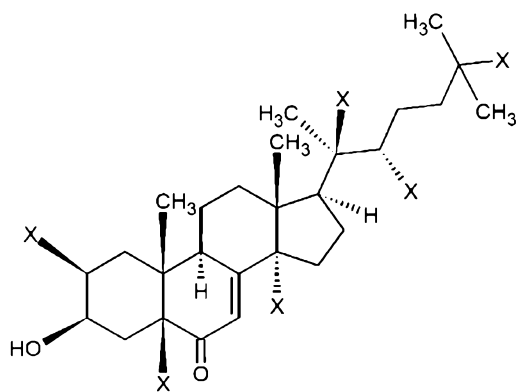
Na základě dlouholetého studia regulace regeneračních pochodů u hmyzu jsem přišel k novému závěru, že vitamín D byl před sto lety chybně identifikován, protože chemická věda tehdy ještě neznala a nedovedla identifikovat částečně ve vodě rozpustné, polyhydroxylované deriváty cholesterolu. Výsledky nových pokusů ukázaly, že dlouhou dobu zanedbávaný a nedokonale

55

identifikovaný, antirachitický vitamín nazývaný zde vitamín D<sub>1</sub> představuje ve skutečnosti polyhydroxylovaný 6-keto, 7-dehydrocholesterol strukturního vzorce (I), který byl mnohem později náhodou objeven při výzkumu svlékáčích hormonu hmyzu. Dodnes jsou ve farmakologii mylně pokládány za antirachitický vitamín D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> secosteroly, které je nutno aktivovat UV-zářením a dodatečnou hydroxylací v játrech (vitamín D<sub>3</sub> triol). Na základě rozsáhlých pokusů s regenerací tkání u hmyzu jsem zjistil, že dosavadní neznalost skutečných vitaminózních účinků tohoto "hmyzího hormonu", ve skutečnosti špatně identifikovaného před sto lety vitamínu D<sub>1</sub>, je příčinou mnoha nevyléčitelných chorob zaviněných nedostatkem tohoto vitamínu D<sub>1</sub> v krvi. Protože avitaminóza se nedá léčit bez znalosti skutečného vitamínu, spočívá dosavadní neschopnost lékařské vědy vysvětlit poruchy růstu a regenerace podle mých výsledků získaných na bezobratlých živočiších a také zástupcích obratlovců spočívá v tom, že profesionální chemici a biochemici stále notoricky trvají na tom, že v rostlinách velice rozšířený, polyhydroxylovaný 6-keto, 7-dehydrocholesterol je hmyzí hormon a tím brání ve výzkumu jeho skutečné, vitaminózní biologické podstaty (Kumpun, S. a ostatní, 2011: *Food Chemistry* 125,1126-1234; Lafont, R. a ostatní, 2011, In: Gilbert, L. I. (Editor). *Insect Endocrinology*. Elsevier B.V. Amsterdam, The Netherlands. 588 pp.).

Hlavní přínos mých vědeckých prací spočívá v experimentálních důkazech, že ekdysteroidy zahrnují živočišný vitamín D<sub>1</sub> potřebný pro zdárný průběh regeneračních pochodů. Hmyzí buňky obsahují 37 % genů, které jsou stejné jako geny přítomné v lidském genomu (Devillers, J., 2013: CRC Press, Boca Raton, Florida, 387pp). Nedávno bylo zjištěno (Sláma, K. a J. A. Santiago-Blay, 2017: *Life: The Excitement of Biology* 5, 4-70), že primordiální základy a funkce hmyzích orgánů a tkání jsou orchestrovány stejnými skupinami genů jako v případě orgánů a tkání lidských. Proto se cítím plně oprávněn tvrdit, že zde doložený vliv látek obecného vzorce (I) - vitamínu D<sub>1</sub> – na zabránění maligního růstu buněk u hmyzu je platný také pro maligní růst buněk u lidí.

Podstatou vynálezu je překvapivé zjištění, že regenerující živočišné buňky potřebují ke zdárnému růstu a vývoji cytoplazmatických buněčných membrán esenciální vitamín obecného vzorce I,



(I)

kde X je nezávisle H nebo OH, přičemž alespoň jedno X je OH.

Lze to vysvětlit tím, že žijící buňky organismu jsou neustále ve vzájemném kontaktu a tvoří jednolitý integrovaný celek. Narušení této tkáňové integrity přirozeným odumřením nebo mechanickým poraněním buněk, vyvolává regenerační proces založený na mitotickém dělení okrajových buněk, které ztratily vzájemný kontakt a tkáňovou integritu. Tyto buňky se během regenerace neustále dělí a po zacelení rány se opět spojí. Vzájemná tkáňová integrita se tím obnoví a mitotické dělení se zastaví, jak je znázorněno na schematickém obrázku 1. Rostlinné, živočišné i lidské buňky potřebují látku obecného vzorce I k vybudování důležitých lipo/hydrofilních vlastností cytoplazmatické membrány odpovědné za vytvoření tkáňové sounáležitosti. Nedostatek této látky v hemolymfě hmyzu nebo v krvi jiných živočichů a člověka,

kteří si ho sami nedovedou vyrobit, brání dokonalému spojení regenerujících buněk a získání tkáňové integrity potřebné k zastavení regeneračního dělení. Proto jsou tyto organismy závislé na příjmu tohoto vitamínu v potravě složené z jiných zdrojů, které dovedou látku obecného vzorce I biosynteticky připravit (mikroorganismy, houby, nižší i vyšší rostliny, střevní symbiotická flora).

5

S výše uvedenými skutečnostmi souvisí zjištění, že nedostatek 20-hydroxyekdysonu (látky obecného vzorce I) vede ke vzniku defektivních regenerujících buněk, které se nepřestanou dělit za vzniku neobvyklých, polynukleárních syncytií, které jsou charakteristické pro maligní (zhoubné) nádory.

10

Zatímco současná lékařská věda pokládá za hlavní růstové vitamíny látky typu vitamínu D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub>, které jsou rozpustné pouze v tucích, nacházejí se v těle živočichů, vyžadují aktivaci UV zářením a jsou biologicky neúčinné pro regeneraci buněk, látky obecného vzorce I jsou částečně rozpustné ve vodě i v tucích, jsou hojně zastoupeny v rostlinné potravě a účinkují přímo, bez nutnosti UV ozáření.

15

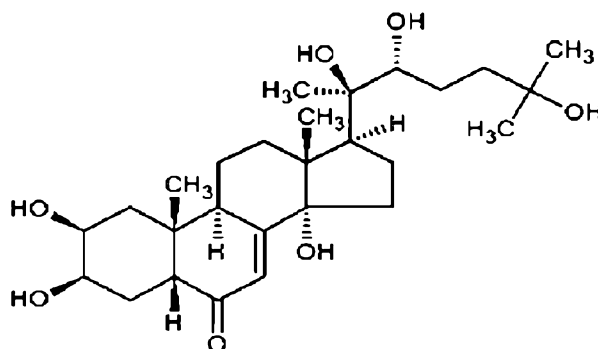
Látku obecného vzorce I lze použít při léčbě a/nebo prevenci poruch růstu a regenerace buněk nebo pro snížení hladiny krevního cukru, zejména při léčbě a/nebo prevenci diabetu, zejména diabetu II. typu.

20

Poruchami růstu a regenerace buněk se rozumí zejména ty, vybrané ze skupiny zahrnující nádorová onemocnění, poruchy růstu a regenerace kostních a svalových buněk, zejména rakovina mléčné žlázy, slinné žlázy, prostaty, pankreatu, střeva, kostí, kůže.

25

Výše uvedená látka může mít strukturní vzorec Ia.



(Ia)

30

Tato látka (20-hydroxyekdyson), byla použita jako základní látka ve většině uvedených experimentálních prací, které jsou předmětem předkládaného vynálezu, na hmyzu i na lidech.

35

Látka strukturního vzorce I může být součástí farmaceutického přípravku, obsahujícího dále alespoň jeden farmaceuticky akceptovatelný nosič, vybraný se skupiny zahrnující konzervanty, stabilizátory, smáčedla, emulgátory, rozvolňovadla, soli, ochucovadla, pufry.

40

Tento farmaceutický přípravek může dále obsahovat alespoň jedno cytostatikum, je tedy vhodný k současnému použití látky vzorce I a chemoterapeutika při léčbě nádorových onemocnění či k zamezení vzniku metastáz.

40

Výše uvedený farmaceutický přípravek je vhodný k aplikaci při léčbě a/nebo prevenci poruch růstu a regenerace buněk, zejména při léčbě a/nebo prevenci nádorových onemocnění.

Předmětem předkládaného vynálezu je způsob stanovení rizika vzniku maligních nádorů, kdy se

nejprve stanoví množství látky strukturního vzorce Ia v odebraném vzorku krve subjektu, následně se stanovené množství látky strukturního vzorce Ia porovná s jeho prahovou hodnotou rizika vzniku maligních nádorů. Prahová hodnota se získá statistickým vyhodnocením hladin látky strukturního vzorce Ia naměřených u zdravých osob (0,1 – 4 µg/ml krve) a u osob trpících maligními nádory bez suplementace látkou obecného vzorce Ia (méně než 0,01 µg/ml krve).

Při výše uvedeném způsobu stanovení rizika vzniku maligních nádorů se stanovení množství látky strukturního vzorce I v odebraném vzorku krve subjektu provede s výhodou pomocí radioimunitních testů nebo enzymatických testů ELISA, vypracovaných dříve pro stanovení obsahu ecdysteroidů v těle hmyzu (Delbecque J.-P. a K. Sláma, 1980: Z. Naturforsch 35C: 1066-1080).

### Objasnění výkresů

Obrázek 1: Schematické znázornění regeneračních pochodů uvedených v příkladu 1. Mechanicky odstraněné části epidermálních buněk regenerují tak, že buňky sousedící s odstraněnou částí (B) se začnou mitoticky dělit (C) a nahrazují chybějící tkáň. Regenerační mitotické dělení probíhá tak dlouho, dokud se dceřiné buňky opět nespojí a tkáňová integrita se znovu neobnoví (D). Po spojení buněk se další dělení zastaví a nové buňky vyloučí extracelulární stromální vrstvu, případně vyloučí novou kutikulu (E). V případě mechanické překážky se buňky epitelu začnou dělit a dělí se tak dlouho, dokud nedojde opět ke spojení a získání tkáňové integrity (F). V případě nedostatku látky strukturního vzorce I (méně než 0,01 µg/g hmotnosti těla) se buňky dále dělí a tvoří polynukleární syncytia, která jsou charakteristickou složkou maligních nádorů (viz příklad 2). Uvedený regenerační postup je platný pro tkáň a orgány živočichů včetně lidských orgánů.

Nejvíce citlivé na nedostatek látky obecného vzorce I jsou velké buňky tkání vyrábějící a exportující bílkovinné produkty (mléčné žlázy, slinné žlázy, prostata, pankreas, střevní buňky).

Obrázek 2: Vliv látky vzorce I na regeneraci vyříznutých epidermálních buněk u larev a kukel lišaje tabákového (*Manduca sexta*) v příkladu 1.

Obrázek 3: Regenerační ploška vytvořená po vyříznutí 3 x 3 mm okénka epidermálních buněk u larev lišaje tabákového v příkladu 2.

Obrázek 4: Vliv látky vzorce Ia a vitamínů D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> na růst tělní hmoty u kuřecích brojlerů z příkladu 3.

Obrázek 5: Vliv látky vzorce Ia na hladinu krevního cholesterolu (nahore) a krevní glukózy (dole) u pacientů s mírně zvýšenou hypercholesterolémií a glykemií.

### Příklady uskutečnění vynálezu

Příklad 1: Vliv látky vzorce I na regeneraci vyříznutých epidermálních buněk u larev a kukel lišaje tabákového (*Manduca sexta*)

Obrázek 2 ukazuje vliv látky vzorce I na regeneraci vyříznutých epidermálních buněk u larev a kukel lišaje tabákového (*Manduca sexta*). Vyříznutý epitel byl zakryt vrstvou želatiny obsahující 2 mg/ml látky vzorce Ia (20-hydroxyecdysone). Preparát byl potom převrstven kapkou rychletvrdnoucího kyanoakrylátového lepidla (obrázek 2 A, obrázek 2C). Regenerující buňky se začaly dělit, nahradily chybějící tkáň a po spojení s buňkami původního epitelu se dělení buněk zastavilo (obrázek 2B, obrázek 2D).

Příklad 2: Studium směsice regeneračních struktur různých vývojových stadií na těle jednoho dospělého jedince lišaje tabákového.

Regenerační plošky vytvořené po vyříznutí 3 x 3 mm okénka epidermálních buněk u larev lišaje tabákového, vyjmuté právě v období přechodného nedostatku endogenního obsahu látky vzorce Ia v těle (méně než 0,01 µg/g hmotnosti těla), jsou zobrazeny na obrázku 3. Toto období nedostatku látky vzorce Ia nastává při poklesu endogenní koncentrace tohoto vitamínu v době mezi prepupálním a kuklovým obdobím maximální přestavby tkání (histolýsa/histogeneza), kdy endogenní koncentrace látky vzorce Ia dosahují hodnot vyšších než 4 µg/g hmotnosti těla. Kombinací účinku analogu juvenilního hormonu (JH-I; methyl-10,11-epoxy-7-ethyl-3,11-dimethyl-2,6-tridekadienoát; Paroulek M. a K. Sláma, 2014: *Life: The Excitement of Biology* 2, 102-123) a látky vzorce Ia se podařilo vyvolat doposud nepozorovaný vznik směsice regeneračních struktur různých vývojových stadií na těle jednoho jedince. Je možné pozorovat epiermis dospělého hostitele (a), dospělou strukturu bez chlupů a šupin (b), kuklovou epidermis (c), druhotnou kuklovou epidermis (d) a nakonec maligní nádorovou strukturu dřívější larvální tkáně (e) vytvořené v období nedostatku látky vzorce Ia. Jedinci obsahující nádory tohoto typu (e) předčasně hynuli následkem svlékacích a růstových poruch.

Příklad 3: Vliv látky vzorce I a vitamínů D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> na růst tělní hmoty u kuřecích broilerů

Zkoumané látky (látka vzorce Ia a vitamíny D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub>) byly přidány ke komerční krmné směsi kuřecích brojlerů. V každé skupině bylo 10 kuřat (viz obrázek 4). Ve skupině 40-denních kuřat byly odebrány vzorky na stanovení obsahu látky vzorce Ia v krevní plasmě. Obsah látky byl stanoven radioimmunologickou metodou popsanou v Sláma, K. a ostatní, 1995: *Experientia* 52: 702-706). Výsledky ukazují významný anabolický vliv látky vzorce Ia na růst kostí a tělní hmoty kuřat, kdežto vitamíny D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> byly neúčinné. Bylo zjištěno, že obsah a ukládání látky vzorce I v krvi 40-denních kuřat souhlasí s jeho množstvím v potravě. Křivka označená přerušovanou čarou na obrázku č. 4 udává obsah a ukládání látky vzorce Ia v krvi 40-denních kuřat. Udané hodnoty souhlasí s koncentrací účinné látky v přijímané potravě.

Příklad 4: Stanovení účinků látky strukturního vzorce Ia na cholesterolémii a glykémii u lidí

Experimenty byly prováděny u pacientů v nemocnici a zahrnovaly rozsáhlé testy a měření účinků látky strukturního vzorce Ia - vitamín D<sub>1</sub>; 20-hydroxyecdýson – na cholesterolémii a glykémii (obrázek 5). Testovány byly dvě dvacetičlenné skupiny pacientů ve věku od 65 do 85 let s počátečními hodnotami okolo 7,2 mmolu cholesterolu na 1 l krve a 8,2 mmolu glukózy na 1 l krve. Každý pacient dostával želatinovou kapsli s 5 mg látky obecného vzorce Ia po dobu 30 dní. Kontrolní skupina (15 osob) užívala želatinové kapsle plněné čistým škrobem. Účinnou látkou Ia byl 98% přírodní produkt (20-hydroxyekdyson) izolovaný ze semen rostliny *Leuzea carthamoides* ve farmaceutickém podniku GALENA, Komárov u Opavy, známými chromatografickými metodami.

Zatímco vliv látky vzorce Ia na snížení hladiny cholesterolu při cholesterolémii se neprokázal, nicméně překvapivě byl prokázán velký vliv této látky na obsah cukru u diabetes pozdějšího věku. Výchozí hodnoty glukózy v krvi pacientů, odebrané nalačno, byly sníženy z původní průměrné hodnoty 8,7 mmol/l na koncových 4,3 mmol/l, přičemž normální hladina cukru v krvi u zdravých pacientů je v rozmezí od 2,9 do 5,2 mmol/l. Látka strukturního vzorce Ia má tedy prokazatelně přímý vliv na hladinu krevního cukru, což lze využít například v substituční léčbě cukrovky.

Jak je možno vidět v horní části grafu na obrázku 5, potravní aplikace 15 mg látky Ia denně nemělo žádný vliv na hladinu cholesterolu, procentuální odchylky pokusné skupiny se příliš nelišily od hodnot kontrolních. Naproti tomu, hladina krevního cukru se naopak znatelně snížila během podávání látky Ia, téměř o polovinu na konci 30denní aplikace (z 8,7 mmol/l na 4,5 mmol/l glukózového ekvivalentu). Tento výsledek ukazuje, že látka Ia, snad díky obecné

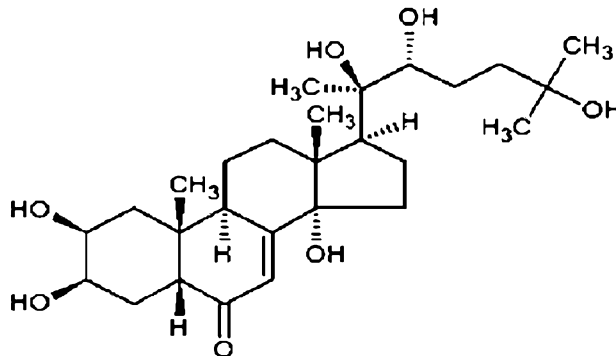
stimulaci metabolické intenzity, vykazala značný vliv na spálení přebytečné glukózy v krvi starších pacientů. Je to prokazatelný vliv na snížení stařecké diabetes II typu.

5      Příklad 5: Stanovení účinků látky strukturního vzorce I na průběh chemoterapie u ženského nádoru mléčných žláz

Dále byla látka vzorce Ia podávána ženám trpícím rakovinou mléčné žlázy, které byly po chirurgickém zákroku na mléčné žláze a 2 až 5 týdnů po ukončení prvního cyklu chemoterapie. Pacientky (15 žen ve věku 36 až 50 let) byly vybrány ze čtyř krajských nemocnic na Moravě. 10      Rozhodly se dobrovolně užívat látku obecného vzorce Ia (naprosto nejedovatá přírodní látka izolovaná ze semen *Leuzea*) v želatinových kapslích, 5 mg 3x denně po dobu 30 dní, stejně jako v případě zkoumání glykemie v příkladu 4. Bohužel, k tomuto experimentu se nám nepodařilo získat dostatek kontrolních pacientek. Pozdější pátrání a anamnézy výsledků tohoto pokusu však byly ohromující: ani jedna z onkologických pacientek přijímajících látku obecného vzorce Ia v 15      potravě nemusela podstoupit druhé kolo chemoterapie a po 5 letech byly všechny zdravé, bez nádorových metastáz. Navzdory tomu, že jsme neměli odpovídající kontroly, byli jsme ujištěni primářem jedné z nemocnic, že takový výsledek byl zcela neobvyklý. Výše uvedené výsledky potvrzují zamezení maligního buněčného růstu u lidí, což je v korelaci s výsledky zjištěnými u hmyzu. To opodstatňuje moje předložené nároky na použití látek typu I pro omezení vzniku 20      maligních metastáz a použití těchto látek k potenciaci účinků chemoterapie, nebo dokonce k jejich nahrazení.

## PATENTOVÉ NÁROKY

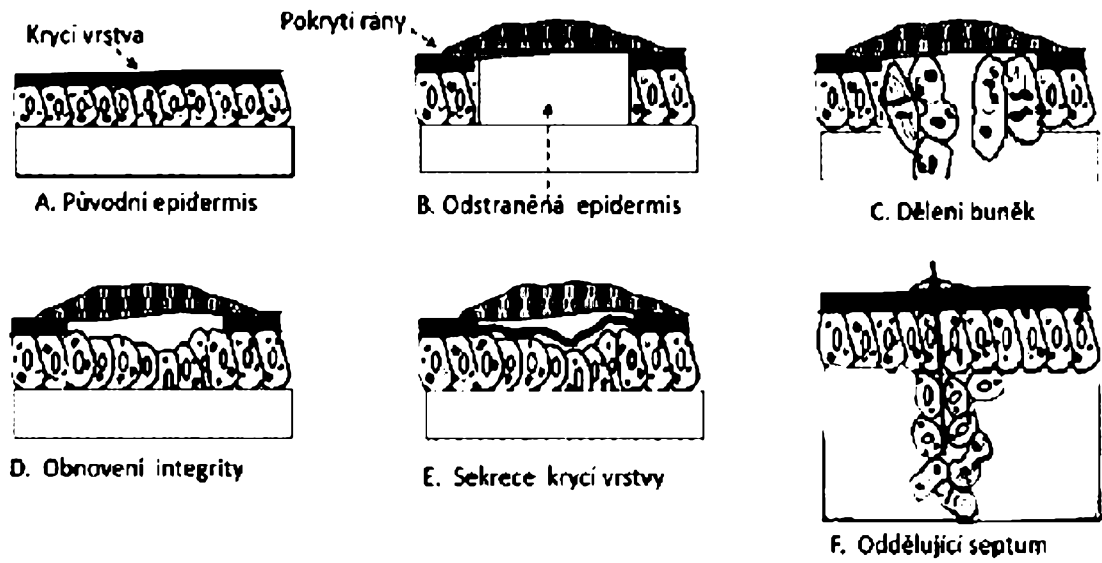
1. Způsob *in vitro* stanovení rizika vzniku maligních nádorů, **vyznačený tím**, že se nejprve stanoví množství látky vzorce Ia v odebraném vzorku krve subjektu,



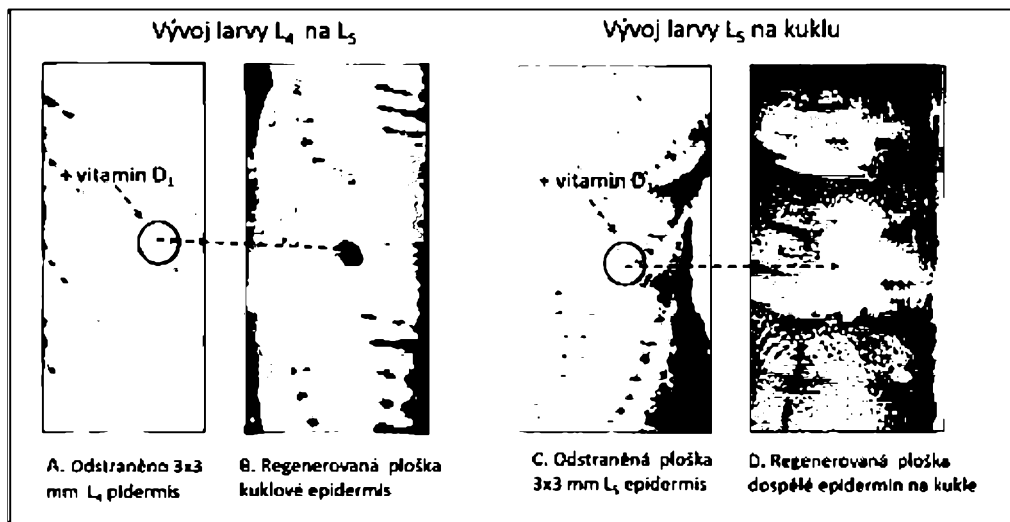
(Ia)

- 10 následně se stanovené množství látky vzorce Ia porovná s jeho prahovou hodnotou rizika vzniku maligních nádorů.

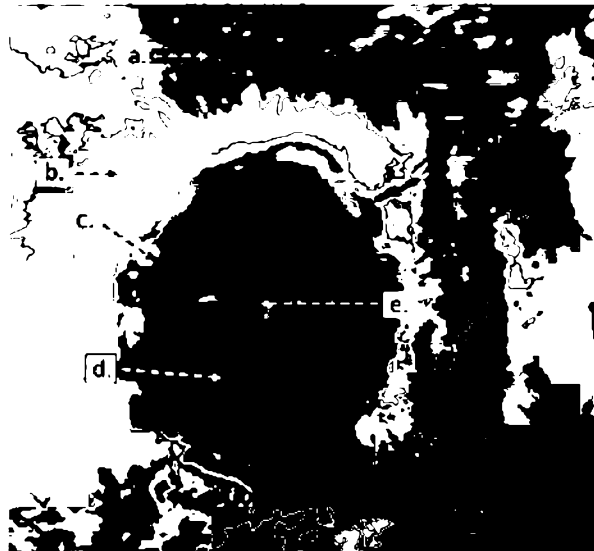
3 výkresy



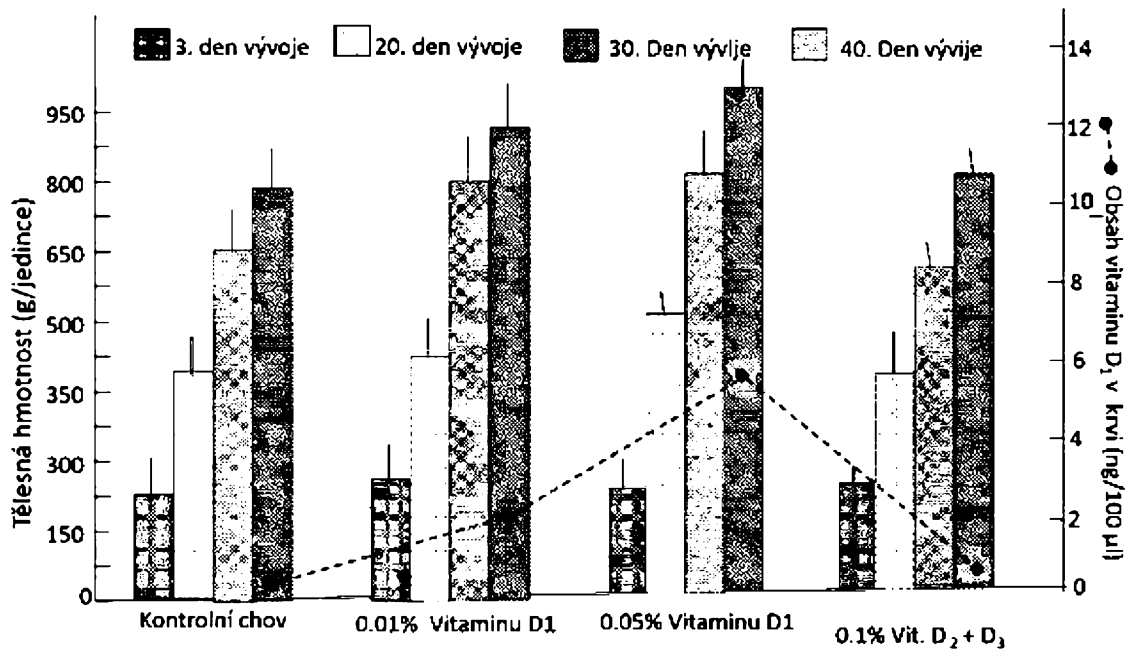
Obr. 1



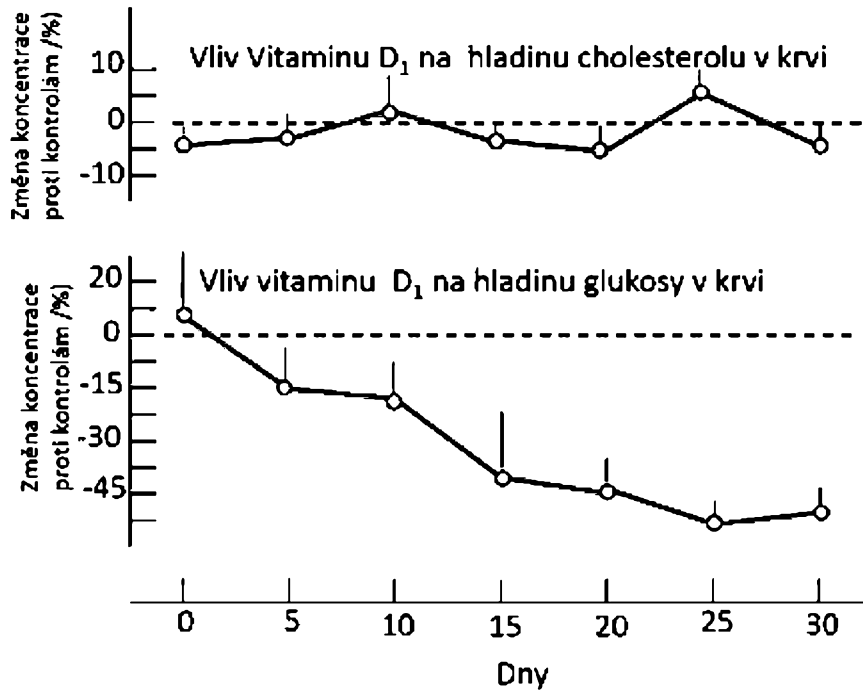
Obr. 2



Obr. 3



Obr. 4



Obr. 5