

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH
BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Aplikovaná a krajinná ekologie

Katedra: Krajinného managementu

Vedoucí katedry: prof. Ing. Tomáš Kvítek, CSc.

DISERTAČNÍ PRÁCE

Rozšíření zubní fluorózy u jelenovitých na území České
republiky

Ing. Petra Bahelková

2012

Školitel: doc. RNDr. František Sedláček, CSc.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Ráda bych poděkovala vedoucímu disertační práce doc. RNDr. Františku Sedláčkovi, CSc., za pomoc a cenné rady, které mi poskytoval v průběhu doktorandského studia. Dále bych ráda poděkovala Prof. Dr. Uwe Kierdorfovi a Prof. Dr. Horstu Kierdorfovi a Ing. Magdě Mikulové za skvělou spolupráci v celém průběhu výzkumu.

Prohlašuji, že svoji disertační práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské – diplomové práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

.....

V Českých Budějovicích, dne

ABSTRAKT

Volně žijící zvěř je vhodným bioindikátorem kontaminace ekosystémů. Pro stanovení míry znečištění fluoridy v oblasti severozápadních Čech byl jako bioindikátor zvolen volně žijící srnec obecný (*Capreolus capreolus*) a jelen lesní (*Cervus elaphus*). U obou druhů jsme porovnali koncentrace fluoridů v kostní tkáni a výskyt a závažnost zubní fluorózy na spodních čelistech z pěti okresů v severozápadní části České republiky. Čelisti byly shromážděny myslivci pro účel prezentace na chovatelských přehlídkách trofejí v letech 1996/1997 ("rané období") a 2009 ("pozdní období"). Údaje o atmosférických depozicích fluoridů (F) ukázaly, že zvěř z raného období byla vystavena výrazně vyšším hladinám fluoridů, než ta z pozdního období. Proto jsme předpokládali pokles obsahu fluoridů v kostní tkáni a snížení výskytu zubní fluorózy u obou druhů v pozdním období. Koncentrace fluoridů byly stanoveny pomocí chemické analýzy kostní tkáně dolní čelisti a hodnocení dentální fluorózy bylo provedeno makroskopicky u trvalého chrupu. V pozdním období byl zaznamenán pokles koncentrace fluoridů v kostní tkáni (srnec obecný (n = 117), medián: 350 mg F/kg sušiny kostní tkáně; jelen lesní (n = 72), medián: 288 mg F/kg sušiny kostní tkáně) oproti období ranému (srnec obecný (n = 157), medián: 3147 mg F/kg sušiny kostní tkáně, (jelen lesní (n = 127), medián: 1263 mg F/kg sušiny kostní tkáně). Výskyt zubní fluorózy v pozdním období výrazně poklesl (srnec obecný: z 93 % na 12 %; jelen lesní: z 87 % na 28 %). Pokles fluoridové depozice ve studované oblasti a v důsledku toho také snížení fluoridové expozice sledované populace zvěře, je přičítáno především realizaci zařízení pro regulaci emisí v hnědouhelných elektrárnách nacházejících se v severních Čechách. Tato zařízení byla uváděna do provozu v devadesátých letech minulého století. Studie ukazuje, že volně žijící zvěř se velmi dobře hodí pro monitoring znečištění jejích stanovišť fluoridy v delším časovém období.

Klíčová slova: fluoridy, kostní tkáň, srnec obecný, jelen lesní, fluoróza

ABSTRACT

Wild deer have been recommended as bioindicators of fluoride pollution. We compared bone fluoride concentrations and prevalence and severity of dental fluorosis in free-ranging European roe deer (*Capreolus capreolus*) and red deer (*Cervus elaphus*) from five districts in the northwestern part of the Czech Republic that had been collected by hunters and whose mandibles were presented at trophy exhibitions in the years 1996/1997 (“early period”) and 2009 (“late period”). Data on atmospheric fluoride (F⁻) deposition suggested that the deer from the early period have been exposed to markedly higher fluoride levels than those from the late period. We therefore predicted a decline in skeletal fluoride levels and prevalence of dental fluorosis for both species from the early to the late period. Fluoride concentrations were determined in the coronoid process of the mandible, and assessment of dental fluorosis was performed on the permanent cheek teeth. A pronounced drop in fluoride concentrations from the early period (roe deer (n=157), median: 3147mg F⁻/kg of dry bone; red deer (n=127), median: 1263 mg F⁻/kg of dry bone) to the late period (roe deer (n=117), median: 350 mg F⁻/kg of dry bone; red deer (n=72), median: 288mg F⁻/kg of dry bone) was recorded. Prevalence of dental fluorosis also markedly declined from the early to the late period (roe deer: from 93 % to 12 %, red deer: from 87 % to 28 %). The reduction of fluoride deposition in the study area and, in consequence, fluoride exposure of the resident deer populations, is attributed largely to the implementation of emissions control devices in the brown coal-fired power plants located in the North Bohemia from the mid 1990’s onwards. The findings of the present study demonstrate that wild deer are well suited for monitoring of temporal changes in fluoride pollution of their habitats.

Keywords: fluoride, bone tissue, roe deer, red deer, fluorosis

Obsah

1. Literární přehled	9
1.1 Fluoridy	9
1.1.1 Rozšíření fluoridů v prostředí	9
1.1.2 Příjem a metabolismus fluoridů	9
1.1.3 Fluoridy a člověk	11
1.1.3.1. Fluoridy v naší stravě	12
1.1.3.2. Fluoridce pitné vody	14
1.1.4 Toxicita fluoridů	16
1.2 Dentální fluoróza	19
1.2.1 Příčina vzniku dentální fluorózy	19
1.2.2. Příznaky dentální fluorózy	20
1.3 Srnec obecný a jelen lesní jako bioindikátor fluoridového znečištění životního prostředí	22
1.3.1 Srnec obecný (<i>Capreolus capreolus</i>)	23
1.3.2 Jelen lesní (<i>Cervus elaphus</i>)	24
1.4 Severočeský region	25
1.4.1 Tepelné elektrárny a těžba uhlí v regionu jako zdroj znečištění životního prostředí	25
2. Cíl práce	28

3. Metodika	29
3.1 Studované území	29
3.2 Sběr vzorků	33
3.3 Odhad věku zvěře	34
3.4 Chemická analýza	34
3.5 Vyhodnocení zubní fluorózy	35
3.6 Analýza dat	38
4. Výsledky a diskuze	40
4.1 Obsah fluoridů v kostní tkáni srnce obecného a jelena lesního	41
4.2 Vyhodnocení věku zvěře	46
4.3 Regionální rozdíly ve fluoridové expozici zvěře	49
4.4 Vyhodnocení výskytu zubní fluorózy v raném a pozdním období	50
5. Závěr	60
6. Použitá literatura	62

7. Seznam publikací 75

8. Přílohy 76

1. Literární přehled

1.1. Fluoridy

1.1.1. Rozšíření fluoridů v prostředí

Fluor je nejvíce reaktivní ze všech prvků a v přírodě se vyskytuje pouze ve formě sloučenin, a to v nepříliš velkém množství (Greenwood a Earnshaw, 1997; Weinstein a Davison, 2004). Fluoridy se uvolňují do biosféry přirozenou cestou zvětrávání hornin, při sopečné činnosti (vulkanická erupce a odplynění, odtok geotermální vody), a z mořských aerosolů (WHO, 2002; Weinstein a Davison, 2004; Ozsvath, 2009). Kromě toho jsou fluoridy vypouštěny do životního prostředí z různých antropogenních zdrojů. Lidská činnost vytváří fluoridové emise, které vznikají při výrobě a používání fosforečných hnojiv, při zpracování železných a neželezných rud (obzvláště hliníku), ve sklárnách, při výrobě skelných vláken, cementu, cihel, keramických výrobků a lepidel, při spalování uhlí, alkylaci katalyzované kyselinou fluorovodíkovou při rafinaci ropy a fluoridaci pitné vody (Cronin a kol., 2000; Environment Kanada, 2001; WHO, 2002; Weinstein a Davison, 2004; Ozsvath, 2009).

1.1.2. Příjem a metabolismus fluoridů

U savců je hlavní cestou příjmu fluoridů potrava a voda, kde je však obsah fluoridů značně variabilní. Co se týče vdechování, byl prokázán jen velmi malý význam rizika intoxikace fluoridy, a to v závislosti na stavu prostředí a na zvýšení atmosférické koncentrace fluoridů (Weinstein a Davison, 2004). Vstřebávání z trávicího traktu závisí na rozpustnosti požitých fluoridů, pH v trávicím traktu a přítomnosti dalších látek v potravě, které mohou s fluoridy reagovat (Ekstrand, 1996; Whitford, 1996; WHO, 2002; Weinstein a Davison, 2004; Buzalaf a Whitford, 2011). K absorpci požitých fluoridů do krevního oběhu dochází primárně v žaludku a střevech. Absorpce fluoridů z vody dosahuje až 97 %, kdežto z potravy 80 %. Absorpce se významně snižuje přítomností hliníku, fosforu, hořčíku a vápníku v gastrointestinálním traktu, neboť fluor s těmito prvky tvoří sloučeniny. Pokud je rozpustný fluorid požit současně se stravou, dochází ke značnému omezení jeho biologické dostupnosti (Kilián, 1996; Státní zdravotní ústav Praha, 1998).

Předpokládá se, že resorpce probíhá pasivní difuzí a je nepřímo úměrná hodnotě pH. Při nízkém pH se fluoridy mění na nedisociovanou molekulu kyseliny fluorovodíkové, která se snadno vstřebává. Faktory, které podporují sekreci žaludečních šťáv, zvyšují resorpci fluoridů. V žaludku je vstřebávána kyselina fluorovodíková, v tenkém střevě je však vzhledem k vyššímu pH její zastoupení nízké a naopak koncentrace a gradient F^- je zde vysoký, proto je vstřebávání fluoridů významně sníženo. V trávicím traktu se rovněž dobře vstřebávají rozpustné fluoridy jako například fluorid sodný. Rychlá resorpce vede ke zvýšení koncentrace fluoridů v krevní plazmě, kde se nachází ve formě F^- . Nejvyšších hladin v plazmě je docíleno v rozmezí 30 až 60 minut po požití. Odstranění fluoridů z krevní plazmy se děje dvěma mechanismy. Část je vylučována močí a zbytek je ukládán v kalcifikovaných tkáních (kosti, zuby). Přibližně 50 % resorbovaného fluoru je deponováno v kalcifikovaných tkáních. Exkrece fluoridů močí je ovlivňována především hodnotou pH moči. Čím je vyšší pH a objem vyloučené moči, tím je renální exkrece fluoridů vyšší, takže všechny faktory ovlivňující pH moči ovlivňují rovněž exkrece fluoru z organismu (Shils a kol., 1999).

Fluor tvoří nerozpustné sloučeniny s více prvky. Jsou to buď jednoduché soli s Ca, Mg, Fe nebo komplexní sloučeniny Ca a P, jako například krystaly fluoroapatitu $Ca_5(PO_4)_3F$, které jsou obsaženy v kostech, v zubech a zejména v zubní sklovině. Fluor má zásadní význam při růstu zubů a pro tvorbu a funkci zubní skloviny, kde za určitých okolností mimo jiné inhibuje růst a metabolismus bakterií. Fluoridy stimulují osteoblasty k vyšší tvorbě kostní tkáně a větších krystalů kostního minerálu, odolnějšího vůči osteoklastům, jejichž hlavním úkolem je odbourávat kostní tkáň (Kaplan a kol., 1996). Přibližně 99% fluoridu, který je zachován v těle, se nachází právě v kostech a zubech (Robinson a kol., 1996; Whitford, 1996; Buzalaf a Whitford, 2011). Kostní akumulace fluoridů tedy může být považována za mechanismus detoxikace (Jenkins, 1990). Rostoucí kosti mají totiž výbornou schopnost depozice fluoridů. Do kostní tkáně mladých zvířat se ukládá až 90 % podané dávky fluoridů, zatímco kostní tkáň dospělých jedinců přijme jen asi 55 % (Whitford, 1996). U dětí (mladších 7 let věku) je odhadováno, že se v organismu zachová asi 55 % z denního absorbovaného množství fluoridů, oproti tomu u dospělých lidí ve věku mezi 18 až 75 lety je zachováno pouze 36 % (Villa a kol., 2010). Podle Pessana a Buzalafa (2011), se začlenění fluoridů do kostí dospělého člověka vyskytuje pouze při přestavbě kosti, oproti tomu Rey a kol. (2008)

naznačují, že fixace fluoridů v kostech dospělého je možná i bez remodelace vlivem reakce s kostními krystaly. Obvykle je obsah fluoridů v houbovité kostní tkáni (spongióze) vyšší než u plášťové vrstvy kosti (kompakty), jejíž povrch je daleko více zásoben cévami (Jenkins, 1990, Robinson a kol., 1996; Rey a kol., 2008). Skutečností, že mohou být fluoridy uvolňovány z kostní tkáně, je možné vysvětlit, proč u osob, jejichž příjem fluoridů byl zpočátku vysoký a následně se snížil, zároveň došlo v průběhu času ke snížení obsahu fluoridů i ve skeletu (Ekstrand, 1996, Whitford, 1996). Pokles množství fluoridů v kostní tkáni je však více než čtyřikrát delší než doba příjmu vyšších dávek fluoridů (Turner a kol., 1993). Podle Reye a kol. (2008), je pomalé odstraňování fluoridů z kostí důsledkem vysoké míry recyklace iontů fluoridu v průběhu remodelace. Hladiny fluoridových iontů v kostech se pohybují v rozmezí 1000 – 4000 mg/kg, přičemž se liší podle věku, pohlaví, typu specifické části kosti a odráží celoživotní expozici jedince. Koncentrace v tvrdých zubních tkáních stoupá s věkem a obsahem fluoridů v pitné vodě. Koncentrace fluoridů ve sklovině dosahuje 2000 – 3000 mg/kg. Plazmatické hladiny se pohybují v hodnotách 0,0076 až 0,0285 mg/l a jsou v přímém vztahu k hladinám těchto látek v konzumované pitné vodě a potravě. S výjimkou brzlíku a ledvin se obsah fluoridů v měkkých tkáních shoduje s obsahem v krvi. Fluoridy také prostupují placentou a přenášejí se z matky na plod, díky čemuž se podílí na mineralizaci tvrdých zubních tkání dočasné dentice plodu již při intrauterinním vývoji (Kilián, 1996; Státní zdravotní ústav Praha, 1998).

1.1.3. Fluoridy a člověk

V prevenci zubního kazu je fluor velmi důležitým prvkem. Suplementace solemi fluoru s cílem zvýšit rezistenci tvrdých zubních tkání a chránit tak chrup před vznikem zubního kazu je součástí systému prevence Světové zdravotnické organizace (Kilián, 1996). Avšak zároveň můžeme sledovat na stránkách odborných zahraničních časopisů rozsáhlé diskuze, které se spíše kloní k názoru, že suplementace fluoridy není žádoucí a může být lidskému zdraví dokonce nebezpečná (Waldbott, 1978; Spittle, 1998).

Fluor patří mezi esenciální minerální látky. Pokud je přijímán během vývoje skloviny, nahrazuje hydroxylovou skupinu hydroxyapatitu a vzniká tak fluoridovaný hydroxyapatit, tedy fluorohydroxyapatit. Fluorohydroxyapatit zajišťuje

pravidelnost sklovinných krystalů, které jsou zároveň odolnější vůči budoucímu působení organických kyselin. V současné době převládá názor, že podstatou kariostatického účinku je vliv fluoridů na prořezaný zub a že je potřebná jejich stálá přítomnost ve slinách a tekuté složce dentálního plaku. Fluoridové ionty se podílejí na inhibici demineralizačních procesů a značně zmírňují demineralizaci počínajících kariézních lézí, protože v jejich přítomnosti vznikají sklovinné krystaly až dvojnásobného průměru, které jsou odolnější k rozpouštění při další možné demineralizaci. Vyšší koncentrace fluoridů mají také účinky bakteriostatické, neboť inhibují růst a metabolismus mikroorganismů (Hubková, 2001; Kilián, 1996; Státní zdravotní ústav, 1998).

Od třicátých let dvacátého století, kdy byly provedeny první studie účinku fluoridů na zdravé zuby, se perorální expozice nízkým hladinám těchto solí stále považuje za účinnou metodu redukce výskytu zubního kazu. Bylo zjištěno, že populace konzumující fluoridovanou pitnou vodu mají významně nižší kazivost zubů ve srovnání s populacemi, které pily vodu nefluoridovanou. V průběhu doby se však rozdíl mezi těmito dvěma skupinami významně snížily, což může být způsobeno vyšší expozicí fluoridy z prostředí, dalším nezanedbatelným zdrojem fluoridů jsou potraviny, nápoje a výrobky určené pro ústní hygienu, zejména fluoridované zubní pasty (Státní zdravotní ústav, 1998).

1.1.3.1. Fluoridy v naší stravě

Abychom mohli pochopit nové problémy plynoucí ze zamoření životního prostředí fluoridy pro zdraví člověka, je nutno si uvědomit, že až do začátku 20. století nebyl fluor v žádné zemi vyráběn ani používán průmyslově. Bylo známo jen několik málo jeho sloučenin a množství fluoridů ve vodě a potravinách bylo nepatrné, až na několik málo míst na zemi s výskytem fluoridů v pitné vodě (1-4 mg/l) z přirozených zdrojů jako je Čína, Indie, Jižní Afrika a Turecko, jejichž obyvatelé mnohdy slouží jako pokusné subjekty ke sledování účinků vysokého příjmu fluoridů. Po skončení II. světové války však začíná neobyčejně rychlý rozvoj chemie fluoru, podporovaný zvláště vojenským průmyslem (Bryson, 2004). Ke znečištění životního prostředí fluoridy přispělo zejména jejich používání v technologii přípravy obohaceného uranu do jaderných elektráren, ve výrobě freonů pro chladicí náplně do chladniček a pro hnací plyny používané široce při výrobě

nejrůznějších sprejů. Velká množství fluoru začal spotřebovávat i farmaceutický a elektronický průmysl. Nezanedbatelným zdrojem jsou také emise tepelných elektráren, které spalují především hnědé uhlí. Velká množství fluoridů se stále dostávají do půdy s rostoucí spotřebou minerálních hnojiv, zejména fosfátů. Statistiky uvádějí, že jen v USA se ročně uvolní 155 000 tun fluoru do ovzduší, 500 000 tun jeho solí do moře a 145 000 tun se dodává do zdrojů pitné vody. Následně se fluoridy dostávají do rostlin a rostlinných i živočišných produktů. Mnohé potraviny a nápoje obsahují v současné době taková množství fluoridů, která mnohonásobně překračují jeho doporučenou denní dávku, která je u dospělého člověka odhadována maximálně na 2 mg (UNICEF).

Velkou schopnost akumulovat fluoridy z půdy má čajovník. V čajových lístcích byl nalezen mnohem vyšší obsah fluoridů než v jiných rostlinách. Tím pádem můžeme čaj považovat za významný zdroj fluoru v lidské stravě. V posledních dvaceti letech se množství fluoru v čaji dramaticky zvyšuje, což koreluje se zvyšujícím se obsahem fluoridů v půdě a životním prostředí (Nabrzyski a Gajevska, 1995). Fluoridy se do výluhu uvolňují při jeho přípravě a jejich koncentrace často dosahují hodnot 4,6 mg/l a vyšších. Jak uvádějí některé studie, jeden šálek čaje může obsahovat dokonce až 7,8 mg fluoridů, tedy tolik, kolik je obsaženo v 7,8 litru fluoridované vody s 1 mg F⁻/l vody (Strunecká a Patočka, 2001). Jiné studie uvádějí, že denní množství fluoridů konzumovaných v čaji se pohybuje mezi 5,8 až 9,0 mg (Jenkins, 1991). Takovéto množství významně převyšuje doporučenou denní dávku a v zemích s velkou tradicí pití čaje může průměrný denní příjem dosáhnout 25 až 100 mg fluoru (UNICEF). Koncentrace fluoridů ve spařeném „pravém“ čaji je závislá na obsahu rozpustných fluoridů v čajových listech, obsahu fluoridů ve vodě, ze které je čaj připravován, a na délce jeho přípravy. Bylo prokázáno, že množství fluoridů v připravených „pravých“ čajích je vždy vyšší než v použité vodě. To neplatí u čajů ovocných a bylinných, ve kterých zůstává množství fluoridů stejné jako ve vodě použité pro jejich přípravu. Dále se ukázalo, že koncentrace fluoridů v čajích stoupá v závislosti na délce vyluhování. Po jedné minutě je patrný výrazný vzestup fluoridové koncentrace, avšak po pěti minutách se již téměř nemění (Státní zdravotní ústav, 1998).

Jak je zřejmé z rozsáhlých údajů v odborném tisku i na internetu (UNICEF; Strunecká a Patočka, 2001), značné množství fluoridů obsahují také různé nápoje jako například limonády nebo džusy. Nezanedbatelné množství fluoridů obsahují

také některé minerální a stolní vody, ve kterých bylo nalezeno množství fluoridů od 0,46 mg/l (Dobrá voda), 0,86 mg/l (Slatina), 1,08 mg/l (Ondrášovka) po 3,53 mg/l (Mattoniho kyselka).

Používání solí fluoru v prevenci zubního kazu zahájilo éru suplementace lidského těla fluoridy. Zatímco v minulosti byl obsah fluoridů v ekosystémech velmi nízký a jevílo se potřebné přidávat jej do výživy, v poslední době se jeho množství v životním prostředí a potravinách trvale zvyšuje. V zemích s vysokou zátěží životního prostředí fluoridy, jako jsou např. USA, Kanada, Čína a Indie, byl již zaznamenán negativní vliv jeho dlouhodobého působení na zdraví celé populace (Kilián, 1996; Státní zdravotní ústav, 1998). V důsledku přítomnosti fluoridů v prostředí jsou alespoň malá množství obsažena ve všech zdrojích pitné vody. V nefluoridovaných pitných vodách se množství fluoridů velmi různí podle geologického prostředí, ze kterého se voda získává. Koncentrace fluoridů se pohybují v oblastech se zaznamenanou fluorózou přibližně od úrovně 2,0 mg/l, až do 20 mg/l. Ve fluoridovaných pitných vodách nalezneme fluoridy v koncentracích 0,7–1,2 mg/l (Státní zdravotní ústav, 1998).

Všechny potraviny obsahují alespoň stopy fluoridů. V mléčných produktech, obilovinách, ovoci a zelenině, v mase, vejcích, ořechách a luštěninách, v tucích a produktech s cukrem kolísá koncentrace fluoridů od 0,01 do 1,02 mg/kg. Vysoké hladiny se nalézají zejména v listech čaje a v rybách – např. konzervované ryby (losos, sardinky), které se jedí i s kůží, obsahují až 40 mg F/kg. Maso ryb obsahuje 2 až 5 mg F/kg a rybí koncentráty až 370 mg F/kg. Obsah fluoridů v potravinách je významně ovlivněn jejich koncentrací ve vodě použité pro jejich přípravu nebo pro zpracování potravin, což se týká zejména nápojů a instantních výrobků, ke kterým je voda přidávána krátce před konzumací. (Kilián, 1996; Státní zdravotní ústav, 1998).

Prostředky pro ústní hygienu, obsahují fluoridy v koncentracích 1000 až 1500 mg/kg. Produkty jako zubní pasta, ústní voda a fluoridové suplementy jsou hlavními zdroji fluoridů. Přípravky pro výplachy ústní dutiny obsahují 250 až 500 mg/l fluoridů, zatímco ústní vody určené pro použití 1x až 2x týdně obsahují 1000 mg F/l. Děti ve věku 2 až 5 let mají tendenci prostředky na ústní hygienu polykat, což je pro ně hlavním zdrojem celkového příjmu fluoridů (Státní zdravotní ústav, 1998). Pro dospělé je to pak nejčastěji pitná voda, čaj, ryby a minerální vody (Kilián, 1996; Státní zdravotní ústav, 1998).

1.1.3.2. Fluoridace pitné vody

Koncentrace fluoridů v povrchových vodách kolísají podle lokality a blízkosti ke zdrojům emisí. Pohybují se v rozsahu od 0,01 do 0,3 mg/l. Mořská voda je na fluoridy bohatší, obsahuje od 1,4 do 1,5 mg/l. Zvýšené hladiny fluoridů se nacházejí v oblastech s geotermální nebo vulkanickou aktivitou a v oblastech s antropogenním uvolňováním fluoridů (Státní zdravotní ústav, 1998).

Důkazy o vztahu mezi výskytem dentální fluorózy, mající navzdory skvrnitě sklovině sníženou kazivost postižených zubů a obsahem fluoridů v pitné vodě byly uveřejněny ve 30. letech 20. století. Dean, ve své studii z roku 1934 doporučuje fluoridaci pitné vody, přičemž odhaduje výskyt mírné až velmi mírné fluorózy stálých zubů u 10% obyvatel při koncentraci fluoridů v pitné vodě 1 mg/l. První pokus s cílem zjistit prospěšnost fluoridace pitné vody snížením výskytu zubního kazu se uskutečnil v městech Grand Rapids a Muskegon v USA. Grand Rapids sloužilo jako město s fluoridací, Muskegon jako město kontrolní. Před počátkem fluoridace se mezi městy neprokázal žádný rozdíl ve výskytu zubního kazu a od roku 1945 se začala voda v Grand Rapids obohacovat fluoridem sodným. Po šesti a půl letech poklesl index kazivosti zubů z hodnoty 4,7 na 2,3, což znamená o více než polovinu. Následkem tohoto zjištění se metoda fluoridace vody rozšířila po celém světě (Hubková, 2001). Studie provedené 10 až 17 let po zahájení fluoridace pitné vody ukázaly, že 7-16 % dětí narozených a vyrůstajících v této oblasti vykazovalo dentální fluorózu. Pozdější studie však uvádějí ještě vyšší procento onemocnění fluorózou. Tyto údaje svědčí o značném zvýšení výskytu fluorózy v Severní Americe (Ismail a kol., 1993; Jackson a kol., 1999; Lalumandier a Rozier, 1995). Příčinou zvýšení výskytu fluorózy v USA může být právě fluoridace pitné vody, kterou je zde zásobováno 60 – 70 % obyvatel, zatímco ve většině evropských zemí byla fluoridace pitné vody postupně zastavena a výskyt fluorózy zde není významný (Strunecká a Patočka, 2010).

V České republice se fluoridace vody poprvé uskutečnila v Táboře v roce 1958, kontrolním městem byl Písek. Obě lokality měly srovnatelné životní podmínky a v obou městech se užívala voda s velmi nízkým obsahem fluoridů. Z šest let trvajícíchho experimentu vyplynulo, že u dětí, které pily fluoridovanou vodu od narození, došlo k redukci zubního kazu o 74 %. Zároveň se zjistilo, že fluoridace neovlivnila stav výživy a osifikaci kostry, neprokázal se ani strumigenní vliv

fluoridů. Postupně se tedy začala voda v tehdejší Československu fluoridovat asi pro jednu třetinu obyvatelstva (Hubková, 2001; Kilián, 1996).

V současné době pije fluoridovanou vodu na světě přibližně půl miliardy obyvatel. V České republice bylo toto preventivní opatření zastavováno z ekonomických a organizačních důvodů v průběhu 80. let a definitivně ukončeno v roce 1993. V budoucnu se s fluoridací pitné vody v České republice nepočítá (Hubková, 2001; Merglová, 2004; Státní zdravotní ústav, 1998).

Po zavedení fluoridace vody bylo prováděno a publikováno velké množství laboratorních, klinických a epidemiologických studií, které se zabývaly různými aspekty metabolismu, biologických účinků, farmakologie a toxikologie fluoridů (Bigay a kol. 1987). Podle názorů oficiálních zdravotnických institucí je zavedení fluoridace pitné vody považováno za „jeden z vrcholných úspěchů 20. století v ochraně zdraví veřejnosti“. Na druhé straně rozsáhlý výzkum také dokazuje, že fluorid ovlivňuje s vysokou účinností životní procesy od oplození po stárnutí, od transkripce genů po kognitivní procesy (Strunecká a Patočka, 2003). WHO odhaduje, že ve více než 25 zemích se vyskytuje endemická zubní fluoróza, 2,7 milionů lidí trpí kosterní fluorózou v Číně a více než 6 milionů lidí trpí touto chorobou v Indii, kde je značně vysoký obsah fluoridů v pitné vodě z přirozených zdrojů (1–4 mg/l) (WHO, 1994).

1.1.4. Toxicita fluoridů

Přítomnost fluoridů v zubní tkáni popsali slavní chemici Gay-Lussac (1778-1850) a Berthollet (1748-1822) již v r. 1805. Později našli další badatelé fluoridy také v kostní tkáni, v krvi, ve žloutku i ve skořápkách vajec a fyziologové se proto začali zabývat hledáním jejich funkce v živém organismu. Zjistili však, že podávání solí fluoru působí u pokusných zvířat toxicky, s příznaky paralýzy vazomotorických center, zrychlení a prohloubení dechu, zvracení, zvýšené slinění a ztuhlost svalů (Strunecká a Patočka, 2010).

V první polovině dvacátého století byly případy intoxikace fluoridy poměrně vzácné a zpravidla se týkaly pracovníků v továrnách na hliník, kde je vysoká koncentrace fluorovodíku v ovzduší (Czerwinski a kol., 1977; McClure a kol., 1933), neboť jednou z výchozích surovin pro výrobu tohoto kovu je kryolit, fluorohlinitan vápenatý. V krvi, moči a ve vlasech těchto osob byl nalezen signifikantně vyšší

obsah fluoridů. Tito lidé trpěli ve zvýšené míře psychickými poruchami, ztrátou paměti, sníženou schopností soustředění, vybavování i psaní. Kromě toho se u nich projeví změny ve struktuře kostí, charakterizované jako osteoskleróza neboli kostní fluoróza. Fluoróza kostí je onemocnění, které může vzniknout po dlouhodobé expozici zvýšeným koncentracím fluoridů. Inkorporace fluoridu do kosti zvyšuje stabilitu krystalické struktury a nerozpustnost kosti, avšak mineralizace kosti je opožděna nebo inhibována, následkem čehož se kosti stávají křehkými a jejich pružnost se snižuje (Newbrun, 1996; Státní zdravotní ústav, 1998). Kostní fluoróza byla pozorována také při používání preparátů se solemi fluoru při léčbě osteoporózy. Jako důsledek vysokých dávek fluoridů byly popsány i různé nespecifické symptomy, jako na příklad snížení mentálních schopností, zhoršení paměti, neschopnosti soustředění a koordinace myšlenek u lidí žijících v blízkosti továren uvolňujících fluorovodík (Spittle, 1994). Intoxikace fluoridovými ionty byla pozorována také u pacientů, kteří byli léčeni hemodialýzou, jestliže byla k dialýze použita fluoridovaná voda. U těchto pacientů došlo k akutnímu zvýšení koncentrace fluoridu v séru a objevily se u nich mnohočetné nespecifické symptomy, jako na příklad poruchy dýchání a v několika případech fatální ventrikulární fibrilace (Arnow a kol., 1994).

Symptomy akutního předávkování jsou známy v případech, kdy bylo požiteno více než přibližně 50-100 mg fluoridu sodného. Smrtelná dávka u dospělého člověka se pohybuje mezi 2200-4500 mg fluoridu sodného. Požitím ve vodě rozpustných fluoridů (např. fluoridu sodného) nebo jiných anorganických solí kyseliny fluorovodíkové, může dojít k těžkému poškození trávicího traktu a jater. Toxický účinek těchto solí se vysvětluje tím, že fluoridy váží kationty vápníku (Ca^{2+}). Častým nálezem při akutní intoxikaci fluoridem sodným je hypokalcemie a hypoglykemie. Dalším příznakem otravy jsou slinění, prudké bolesti břicha, zvracení a průjem, při delší expozici také třes a křeče. Špatným znamením je rozšíření zornic, obrny, poruchy dýchání a srdeční činnosti způsobené vázáním vápenatých kationtů. Kromě poškození jater může dojít i k poškození ledvin. Ke smrti dochází v průběhu 2-4 hodin (Zentiva, 2011).

Výzkum prováděný doktorkou Jennifer Anne Luke (2001) z university v Surfy prokázal, že „fluorid se snadno akumuluje v lidské šišince a také že „lidská šišinka obsahuje největší koncentraci fluoridu v těle“. Z tohoto zjištění pramení podezření na souvislost intoxikace fluoridy s autizmem. Autistické děti mají opožděný nebo

narušený vývoj mozku, trpí nespavostí, bolestmi břicha, někdy zácpou, mají snížený obsah hořčíku a vápníku v krvi, sníženou činnost štítné žlázy a výše zmiňované šišinky. Tyto symptomy se nápadně podobají chronické intoxikaci fluoridy. V USA v oblasti New Jersey, která má svoje místo v historii počátků fluoridace vody a zároveň zde byla umístěna továrna na výrobu miliónů tun fluoridů, které sloužily k výrobě obohaceného uranu, bylo podle statistických průzkumů z posledních pěti let zjištěno nejvíce dětí s autizmem. Na sto jedna novorozenců zde připadá jedno dítě s autizmem (Strunecká a Patočka, 2010).

Již v roce 1959 upozornil Rapaport na možné souvislosti mezi Downovým syndromem a zvýšeným příjmem fluoridů. Tuto domněnku umocňují zjištění několika epidemiologických studií, které se zabývají srovnáním zdraví obyvatelstva v oblastech s fluoridovanou a nefluoridovanou vodou. V těchto studiích byl zjištěn o 30 % vyšší výskyt Downova syndromu v oblastech s fluoridovanou vodou oproti oblastem bez fluoridace (Strunecká a Patočka, 2001).

Působení fluoridů na aktivitu různých enzymů bylo známé poměrně dlouho, avšak dlouho byl přehlížen fakt, že jejich účinek závisí na přítomnosti stopových množství hliníku. To proto, že hliník je všudypřítomný a zároveň je běžnou součástí laboratorního skla, odkud se dostává do roztoků, se kterými se v laboratoři pracuje (Bigay a kol., 1987). V nesčetných laboratorních výzkumech bylo prokázáno, že fluorid působí jako metabolický jed a inhibitor procesů získávání energie, ovlivňuje diferenciaci a růst buněk i procesy nervové a hormonální signalizace. K dalšímu pochopení mechanismu jeho účinku na buněčné a molekulární úrovni přispělo zjištění, že fluoridy vytvářejí s kationty hliníku ve vodě dobře rozpustné fluorohlinitanové komplexy (AlF_x). Tyto látky se vyznačují velkou biologickou aktivitou a spojují v sobě neurotoxické účinky fluoru i hliníku. AlF_x je natolik podobný fosfátovému aniontu, že jej může nahradit v mnoha významných biomolekulách. Bylo prokázáno, že fluorohlinitanové komplexy fungují jako aktivátory mnoha G proteinů, které jsou součástí signálních mechanismů v plazmatické membráně a přenášejí vnější signál do buňky. Fluorohlinitanové komplexy tak mohou napodobovat nebo stimulovat působení mnoha hormonů, neurotransmiterů a růstových faktorů (Strunecká a Patočka, 1999a). Nespočetné laboratorní studie dokumentují, že fluoridové ionty v přítomnosti stopových množství hliníku ovlivňují všechny krevní buňky, lymfocyty a buňky imunitního systému, fibroblasty, keratinocyty, endotelové buňky v kapilárách, vyvolávají srážení

krevních destiček, ovlivňují transport iontů, metabolismus vápníku, procesy nervového přenosu, růst a dělení buněk, krevní oběh, metabolismus jater, metabolismus a dělení kostních buněk, stavbu cytoskeletu (Strunecká a Patočka, 2004).

Pokusy s laboratorními potkany jednoznačně prokázaly neurotoxicitu fluoridových iontů (Mullenix a kol., 1995). Další studie ukázaly, že přidání malého množství fluoridu do krmení potkanů výrazně zvýšilo neurotoxicitu hliníku vyvolávající degenerace mozkových buněk. Zatímco hliník jen velmi obtížně proniká z gastrointestinálního traktu do krve a z krve pak přes hematoencefalickou bariéru do mozku, fluorid hliníku průnik touto bariérou usnadňuje. Patologické změny v mozcích potkanů jsou podobné patologickým změnám v mozcích pacientů s Alzheimerovou chorobou (Varner a kol., 1998). Hypotéza o tom, že hliník je rizikovým faktorem pro vznik Alzheimerovy choroby v 70. letech vytvořila v myslích mnoha lidí odpor k hliníkovým přístrojům a hliníkovým hrncům. Hlavní motivací tohoto masového odmítání hliníkového nádobí bylo zjištění, že v mozcích osob, které zemřely na diagnózu Alzheimerovy choroby, byl zaznamenán výrazně vyšší obsah hliníku (Strunecká a Patočka, 1999b).

Zatím bylo málo přihlíženo k tomu, že rozpustnost hliníku a jeho biologická dostupnost se silně zvyšují v přítomnosti fluoridových iontů, kdy se tvoří dobře rozpustné fluorohlinitanové komplexy. A právě tyto komplexy jsou schopny vyvolat nesmírné množství reakcí s rozsáhlými patofyziologickými důsledky (Strunecká a Patočka 1999a). Ovlivněním energetického metabolismu mohou akcelarovat stárnutí a narušit funkce nervových buněk. Vzhledem k etiologii Alzheimerovy demence můžeme předpokládat, že dlouhodobé působení fluorohlinitanových komplexů představuje velmi vážný rizikový faktor pro vývoj této nemoci (Strunecká a Patočka, 1999b).

Je zajímavé, že podobně jako hliník, vytváří komplexy s fluorem ještě berylium (Chabre, 1990). Zatímco hliník je však stále považován za relativně bezpečný a neškodný kov a nebezpečí fluorohlinitanových komplexů pro zdraví člověka je podceňováno, komplexy fluoru a berylia byly v roce 1999 zahrnuty do seznamu hazardních sloučenin (WHO, 2002). V České republice převládá názor, že doplňování výživy solemi fluoru je dobrou ochranou před vznikem zubního kazu, a že všudypřítomný hliník je biologicky inaktivní a neškodný kov. Je ovšem otázkou, zda je tomu opravdu tak. Vypitím jednoho šálku čaje přijme člověk na začátku

třetího tisíciletí takové množství fluoru, které je srovnatelné s množstvím používaným dříve v mnoha zemích při léčení hypertyreoidizmu (2 až 10 mg NaF/den, tj. 0,9 až 4,5 mg F⁻) (Galetti a Joyet, 1958; Gorlitzer von Mundi, 1963). Není proto žádným překvapením, že nadměrný příjem fluoridů u dětí vede k hypotyreóze a ke komplikacím, souvisejícím s nedostatečnou funkcí štítné žlázy. Jodový deficit je pandemií postihující 1,6 miliardy lidí (Zamrazil a Čeřovská, 2000). Současná endokrinologie zná více než 150 symptomů spojených s hypotyroidizmem a téměř všechny se kryjí se symptomy fluoridové intoxikace (Schuld, 1999).

1.2. Dentální fluoróza

1.2.1. Příčina vzniku dentální fluorózy

Základem zdravého zubu je zdravá zubní sklovina. Zubní fluoróza je považována za první viditelnou indikaci chronického příjmu fluoridů, následkem kterého dochází k poruchám ve vývoji skloviny. Nejdříve dochází k primárním změnám (vývojovým lézím) zubní skloviny, kterými jsou strukturální odchylky ve stavbě skloviny jako hypoplazie či hypomineralizace. K sekundárním změnám dochází v důsledku porušení mineralizace skloviny, která je následkem toho křehká, má sklon k tvorbě prasklin a následnému zabarvení, neboť takto poškozená sklovina je zároveň mimořádně porézní. Dále dochází ke vzniku větších defektů skloviny až k jejímu úplnému vymizení, čímž se zvyšuje a zejména urychluje celkové opotřebení postižených zubů (Black, 1916, Dean, 1936; Shupe a Olson, 1983; Fejerskov a kol., 1988, 1996; Kierdorf a kol., 2004; Bronckers a kol., 2009; DenBesten a Li, 2011). Velké množství epidemiologických dat ukazuje, že výskyt fluorózních změn skloviny je spojen s nadměrným příjmem fluoridů v období vývoje zubu (Szpunar a Burt, 1988; Black, 1916; McKay, 1916; Dean, 1936; Shupe a Olson, 1983; Fejerskov a kol., 1977, 1988, 1996; Kierdorf a kol., 2004; Bronckers a kol., 2009; DenBesten a Li, 2011). Dentální fluoróza byla poprvé zaznamenána v roce 1901 v Colorado Springs v USA, kde McKay popsal do té doby neznámou poruchu zubní skloviny v podobě hnědých skvrn lokalizovaných nejčastěji na labiálních plochách horních řezáků a nazval ji „skvrnitá sklovina“. Následující epidemiologická šetření prokázala navzdory poškozené skvrnitě sklovině sníženou kazivost takto postižených zubů. Až

v roce 1931 byly publikovány práce, které objasnily vztah mezi výskytem této poruchy a obsahem fluoridů v pitné vodě (Hubková, 2001).

Nejdůležitějším rizikovým faktorem při určování výskytu zubní fluorózy a její závažnosti, je posouzení příjmu celkového množství fluoridů ze všech zdrojů během kritického období vývoje zubu (Dean a Arnold, 1943; Richards a kol., 1989a). Sklovina zubu postiženého fluorózou má velmi charakteristický vzhled, neboť je vlivem působení fluoridů velmi porézní. Stupeň a rozsah pórovitosti závisí na koncentraci fluoridů v tkáňových tekutinách během vývoje zubu. Mikroskopicky se zdá být konstrukční uspořádání krystalů hydroxyapatitu normální, ale šířka mezikrystalových prostor se zvětšuje, čímž vznikají póry. Se zvyšující se závažností fluorózy se zvyšuje stupeň poréznosti skloviny (Fejerskov a kol., 1990; Richards a kol., 1989b). Generalizovaná forma zubní fluorózy postihuje skupiny zubů, nebo celou dentici. (Hubková, 2001).

1.2.2. Příznaky dentální fluorózy

Klinicky se zubní fluoróza projevuje bílými skvrnami nebo bílými neprůhlednými čarami či rýhami na sklovině. Průběh fluorózy může být podle množství přijatých fluoridů mírný až velmi závažný. Mírný průběh je charakterizován vznikem malých bílých skvrn na sklovině. U středně těžké a těžké zubní fluorózy můžeme pozorovat hnědé zbarvení skloviny (obr. 1), která je křehká, lomivá a dochází k jejímu rychlému úbrusu (Thylstrup a kol., 1978). K primárnímu poškození zubní skloviny může dojít pouze v období její tvorby, neboť po dokončení vývoje zubní skloviny zanikají tzv. ameloblasty, buňky produkující zubní sklovinu, která tímto ztrácí schopnost obnovy a další mineralizace v této tkáni již neprobíhá (Kierdorf a Kierdorf, 1999b; Nanci, 2008). Zvýšený příjem fluoridů může negativně ovlivnit nejen amelogenezi, ale i dentinogenezi (Fejerskov a kol., 1977; Richter a kol., 2010). Vzhledem k tomu, že se dentin, na rozdíl od skloviny, tvoří po celou dobu životnosti zubu, může docházet k tvorbě negativních změn i po ukončení vývoje zubu. Přestože je termín zubní fluoróza obvykle používán k popisu změn skloviny, mělo by být zdůrazněno, že výraz zubní fluoróza zahrnuje také změny dentinu (Fejerskov a kol., 1977). Avšak zastánci fluoridace vody považují zubní fluorózu za „kosmetický defekt“ bez dalších vážných důsledků pro zdraví (Hubková, 2001; Strunecká a Patočka, 2010).

Obr.1. Dentální fluoróza (Strunecká a Patočka, 2010)



Předpokládalo se, že se zubní fluoróza vyvíjí při příjmu 0,1 mg F⁻ /kg tělesné hmotnosti, avšak Roholm již v roce 1937 zdůraznil, že makroskopické změny skloviny může způsobit již dávka od 0,07 mg F⁻ /kg tělesné hmotnosti. Studie v Keni však prokázaly fluorózu již při denním příjmu nižším než 0,03 mg F⁻ /kg tělesné hmotnosti. Jak již bylo zmíněno, je v oblasti východní a jižní Afriky, podobně jako v Číně a Indii, zaznamenáván vysoký výskyt fluorózy, neboť je zde přirozeně vysoká koncentrace fluoridů ve vodě (Manji a kol., 1986; Baelum, 1987).

V České republice je prevalence zubní fluorózy odborníky dlouhodobě sledována a zdá se, že není nutné obávat se nadměrné zátěže fluoridy (Krejso, 1998).

1.3. Srnec obecný a jelen lesní jako bioindikátor fluoridového znečištění životního prostředí

Zvýšením koncentrace fluoridů v kostní tkáni zvěře žijící v regionech s vysokou úrovní fluoridového znečištění, pocházejícího z antropogenních nebo přírodních zdrojů, se zabývalo již několik studií (Karstad, 1967; Kay a kol., 1975; Newman a Yu, 1976; Sutce a kol., 1987; Kierdorf, 1988; Machoy a kol., 1991; Hell a kol., 1995; Vikøren a kol., 1996; Kierdorf a kol., 1996a; Garrott a kol., 2002; Kierdorf a Kierdorf, 2002). Jiné studie popisují zubní fluorózu a její následky u zvěře žijící ve fluoridy postižených oblastech (Shupe a kol., 1984; Suttie a kol., 1985; Kierdorf a Kierdorf, 1989; Kierdorf a kol., 1993, 1996b; Vikøren a Stuve, 1996; Schultz a kol., 1998; Garrott a kol., 2002) včetně abnormalit v mikrostruktuře a mineralizaci skloviny i dentinu (Kierdorf a kol., 1993, 1996b, 1997; Kierdorf a Kierdorf, 1997; Richter a kol., 2010).

Studie různých druhů zvěře ukázaly souvislost mezi věkem a obsahem fluoridů v kostní tkáni, a to jak u zvířat vystavených běžné expozici fluoridy, tak u zvířat žijících v oblastech s vysokou koncentrací fluoridů v prostředí (Kay a kol., 1976; Walton a Ackroyd, 1988; Kierdorf a kol., 1989, 1995, 1996a; Machoy a kol., 1995; Vikøren a kol., 1996; Kierdorf a Kierdorf, 2000a; Jelenko a Pokorný, 2010). Monitoring obsahu fluoridů v kostní tkáni během života jedince představuje užitečný indikátor životní expozice (Kierdorf a Kierdorf, 1999b, 2000a; Jelenko a Pokorný, 2010). Výjimku představuje pouze paroží, které je na rozdíl od jiných tkání kostního původu každoročně shazováno a deponovaný obsah fluoridů odráží výši expozice jen za období několika měsíců (Walton a Ackroyd, 1988; Kierdorf a Kierdorf, 2005; Jelenko a Pokorný, 2010).

Předchozí průzkumy sledovaly výskyt a závažnost zubní fluorózy především u volně žijícího srnce obecného (*Capreolus capreolus*), ale i jelena lesního (*Cervus elaphus*) v regionu střední Evropy (Krušné hory a jejich podhůří) a posuzovaly prostorovou variaci fluoridové kontaminace v této oblasti (Kierdorf a kol., 1999; Zemek a kol., 2006). Srnec obecný se vyskytuje v rámci Evropy ve velkém počtu jedinců, během svého života se pohybuje v poměrně malém teritoriu a na rozdíl od jelena lesního žije i v oblastech silně modifikovaných lidskou činností. Z těchto důvodů je pro tento účel výzkumu zvláště vhodným (Kierdorf a kol., 1999).

1.3.1. Srnec obecný (*Capreolus capreolus*)

Srnec obecný (obr. 2) je naší nejrozšířenější teritoriální zvěř. Vyskytuje se ve všech našich honitbách alespoň jako zvěř přebíhavá. Obývá prakticky celou Evropu. Zasahuje až k pobřeží Kaspického moře a na území Malé Asie, chybí pouze na severu Skandinávie (Červený, 2003). Obývá lužní lesy, pahorkatiny, polní nížinné oblasti i nejvýše položené horské lesy. Srnčí zvěři nejlépe vyhovují listnaté nebo smíšené lesy s bohatým bylinným a křovinatým podrostem, které se střídají s loukami a polemi. Přirozenou potravu tvoří asi z 50 % části listnatých a jehličnatých dřevin, keřů a keříků, plody dřevin (žaludy), popř. houby a asi ze 40 - 50 % různé trávy a byliny. Tam, kde srnčí zvěř žije v polích, tvoří složku potravy i různé zemědělské plodiny. Srnčí zvěř je poměrně věrná svému stanovišti, pokud na něm nachází dostatek klidu a potravy (Forst a kol., 1975).

Vyvinutý mléčný chrup srnce obecného má vzorec 0.0.3/3.1.3, přičemž třetí předstolička (premolár) je trojdílná. Výměna mléčného chrupu za trvalý je ukončena ve 13 - 15 měsících stáří jedince.

Trvalý chrup má vzorec 0.0.3.3./3.1.3.3. Špičáky v horní čelisti se nazývají kelce, avšak u srnce obecného se vyskytují jen výjimečně a jsou slabé.

Srnčata mají na konci prvního kalendářního roku života vyvinutou první popř. druhou trvalou stoličku (molár M1 a M2). Ve druhém roce života od stáří 12 měsíců dochází k výměně předstoliček (P2, P3, P4), P1 se nevyvíjí, je rudimentární. Současně dorůstá i poslední stolička (M3). Nejrychleji se opotřebuje první stolička (M1), která je nejstarší. Hrbolky a sklovina v první polovině stoličky zcela zmizí zpravidla v 5. roce a v druhé polovině stoličky v 6. roce života. Nejdéle, asi do 10-12 let, zůstávají vrásky u předstoliček a u poslední stoličky (M3). Podobně jako u jelení zvěře ovlivňuje intenzitu opotřebení zubů především zdravotní stav zvěře a druh přijímané potravy (Forst a kol., 1975).

Obr. 2. Srnec obecný



1.3.2. Jelen lesní (*Cervus elaphus*)

Jelen lesní (obr. 3) je rozšířeným a v mnoha zemích i hojným druhem sudokopytníka. Obývá prakticky celou Evropu, nevyskytuje se pouze v její nejsevernější části. Na území Asie žije především v její střední a západní části a vyskytuje se také na území Malé Asie. Jedná se přitom o typického obyvatele starých lesů s občasnými palouky a pásy křovin. U nás žije jelení zvěř v rozsáhlejších lesích, a to od nížinných luhů až po horní hranici lesa. Převládající složkou potravy jsou různé skupiny trav, listy, letorosty, pupeny jehličnatých a listnatých stromů, keře, keřky, ostružiník, maliník, borůvky, brusinky, vřes, plody dřevin, jeřabiny atd.

Vyvinutý mléčný chrup jelena lesního má vzorec 0.1.3/3.1.3, přičemž třetí předstolička je trojdílná. Výměna mléčného chrupu za trvalý je ukončena asi ve 30 měsících stáří jedince.

Trvalý chrup má vzorec 0.1.3.3./3.1.3.3. V celém chrupu je tedy 6 řezáků, 4 špičáky a 24 stoliček. Špičáky v dolní čelisti se podobají řezákům, k nimž také přiléhají. Špičáky v horní čelisti, takzvané kelce, jsou loveckou trofejí. U mladých jedinců jsou bílé a velké, věkem se obrušují a hnědnou. Kelce mají obě pohlaví, u

laní jsou však menší. U ulovené zvěře je poměrně spolehlivým znakem stáří vývoj chrupu a stupeň jeho opotřebení. Posuzuje se zejména kresba, výška a tvar zubů. V prvním kalendářním roce života mají kolouši vyvinutý mléčný chrup. V druhém roce života je chrup neúplný a jsou v něm jak mléčné, tak trvalé zuby, avšak vždy chybí poslední stolička (M3). Ve třetím roce života má jelen lesní chrup trvalý (Forst a kol., 1975).

Obr. 3. Jelen lesní



1.4. Severočeský region

1.4.1. Tepelné elektrárny a těžba uhlí v regionu jako zdroj znečištění životního prostředí

Studovaná oblast je součástí tzv. "černého trojúhelníku", což je velmi průmyslově zatížené a silně znečištěné území o rozloze 34.500 km², zahrnující části České republiky (severní Čechy), Polska (jihozápadní části Dolního Slezska) a Německa (jižní Sasko) (Abraham a kol., 2001). První zmínka o těžbě hnědého uhlí v regionu pochází už z roku 1403, ale průmyslový rozmach těžby nastal až v 50. letech 20. století. Rekordního objemu dosáhla těžba roku 1984, kdy zde bylo vytěženo 74,7 milionu tun hnědého uhlí. Od té doby, a zejména po zahájení útlumového

programu začátkem devadesátých let, těžba postupně klesá. Celkové zásoby uhlí v Podkrušnohoří původně přesahovaly devět miliard tun geologických zásob, z čehož asi šest miliard tun je těžitelných známými báňskými postupy. Z těchto šesti miliard je dosud vytěžena více než jedna polovina. Tato polovina však byla ta lepší, co se týče kvality a snadného přístupu. Zbytek je ve značné hloubce pod městy, obcemi a průmyslovou zónou tohoto regionu. V uhelné pánvi bylo v průběhu desetiletí naprosto zdevastováno přes 300 km² krajiny, z toho 90 procent přímo těžbou (Smolíková, 2004).

Dalším problémem této oblasti je znečištění ovzduší, jehož hlavním zdrojem jsou obrovské tepelné elektrárny spalující nekvalitní hnědé uhlí (Abraham a kol., 2001). Po politických změnách na konci osmdesátých let došlo k výraznému zlepšení kvality ovzduší v regionu díky zavedení opatření ke snižování emisí (Abraham a kol., 2001; Renner, 2002). Budování odsiřovacích technologií v tepelných elektrárnách bylo reakcí na požadavky zlepšování kvality ovzduší a omezování zejména emisí oxidu siřičitého. Prakticky veškerá fosilní paliva obsahují významné množství síry. Ta v průběhu spalovacího procesu přechází do spalin jako oxid siřičitý a stává se závažnou znečišťující a škodlivou složkou emisí, vypouštěných do ovzduší. Emise tepelných elektráren ovšem obsahují řadu dalších látek, jako jsou chloridy, fluor a jiné, které jsou nežádoucí, jednak z hlediska imisních předpisů, ale také z hlediska spolehlivosti provozování samotných odsiřovacích jednotek. Růst těchto emisí a škody s tím spojené se staly mezinárodně závažným ekologickým problémem, jehož řešení se stává předmětem mnohostranné spolupráce (Horák a kol., 2005).

Předpisy a emisní i imisní normy vydávané jednotlivými státy jsou průběžně přizpůsobovány stavu vývoje technologických možností a musí být koordinovány na mezistátní úrovni. V České republice se kvalita uhlí spalovaného v tepelných elektrárnách, vzhledem k vysokým obsahům síry, stala z hlediska dodržování aktuálních emisních norem a mezinárodních smluv problémem, který musel být neodkladně řešen. V průběhu 90. let minulého století byly postupně všechny tepelné elektrárny vybaveny odsiřovacími technologiemi, což se projevilo výrazným snížením škodlivých emisí a tedy i zlepšením kvality ovzduší obecně (Horák a kol., 2005). Například emise SO₂ v České republice klesly z 1,850 milionů tun v roce 1990 na 177.000 tun v roce 2008 (Ostatnická, 2009). Výsledný masivní pokles depozice síry byl doprovázen celostátním poklesem spadu fluoridů

(Ostatnická, 2009). Snížení množství fluoridových polutantů lze připsat na vrub skutečnosti, že mechanismy použité k odstranění SO₂ z kouřových plynů jsou také velmi efektivní při odstraňování fluoridů (Weinstein a Davidson, 2004).

2. Cíl práce

Vzhledem k dokumentovanému poklesu atmosférické depozice fluoridů v severozápadních Čechách (Fiala a Ostatnická, 1997; Ostatnická, 2009) bylo hlavním cílem disertační práce posoudit zdravotní stav – úroveň fluorózy zvěře žijící v této oblasti, neboť se předpokládalo, že snížení expozice fluoridům v prostředí pozitivně ovlivní zdravotní stav této zvěře ve srovnání se situací před rozsáhlými opatřeními pro snížení emisí. Pro testování této hypotézy byly stanoveny současné koncentrace fluoridů v kostní tkáni a rozšíření zubní fluorózy v severních Čechách u srnce obecného a jelena lesního a získaná data byla porovnána se situací před snížením emisí.

Dále byla disertační práce zaměřena na tyto cíle:

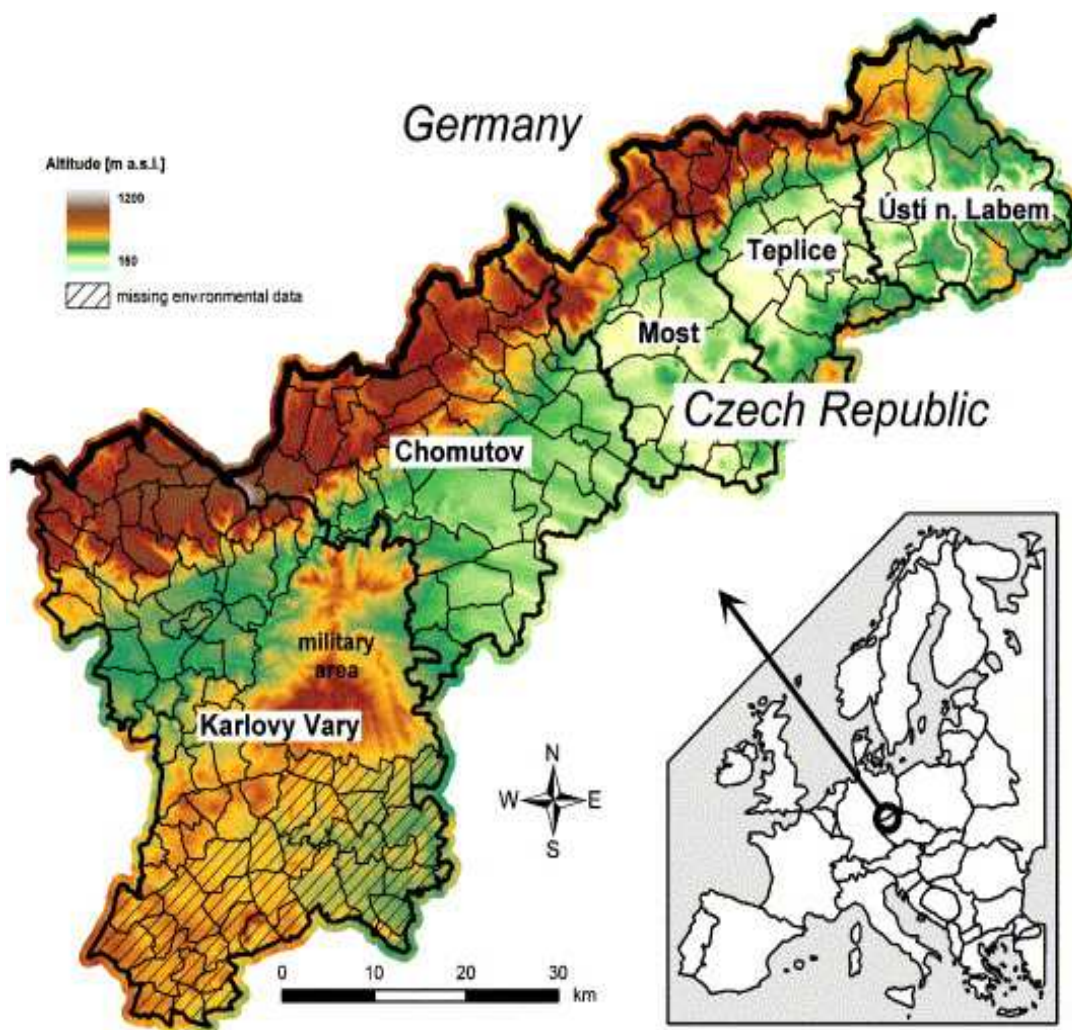
1. Zjištění regionálních rozdílů ve fluoridové expozici zvěře porovnáním výsledků v pěti okresech tvořících studijní oblast.
2. Srovnání obsahu fluoridů v kostní tkáni a rozšíření zubní fluorózy mezi jedinci srnce obecného (*Capreolus capreolus*) a jelena lesního (*Cervus elaphus*).
3. Stanovení rozdílů ve věku a obsahu fluoridů v kostní tkáni mezi jedinci se zubní fluorózou a jedinci bez příznaků.

3. Metodika

3.1. Studované území

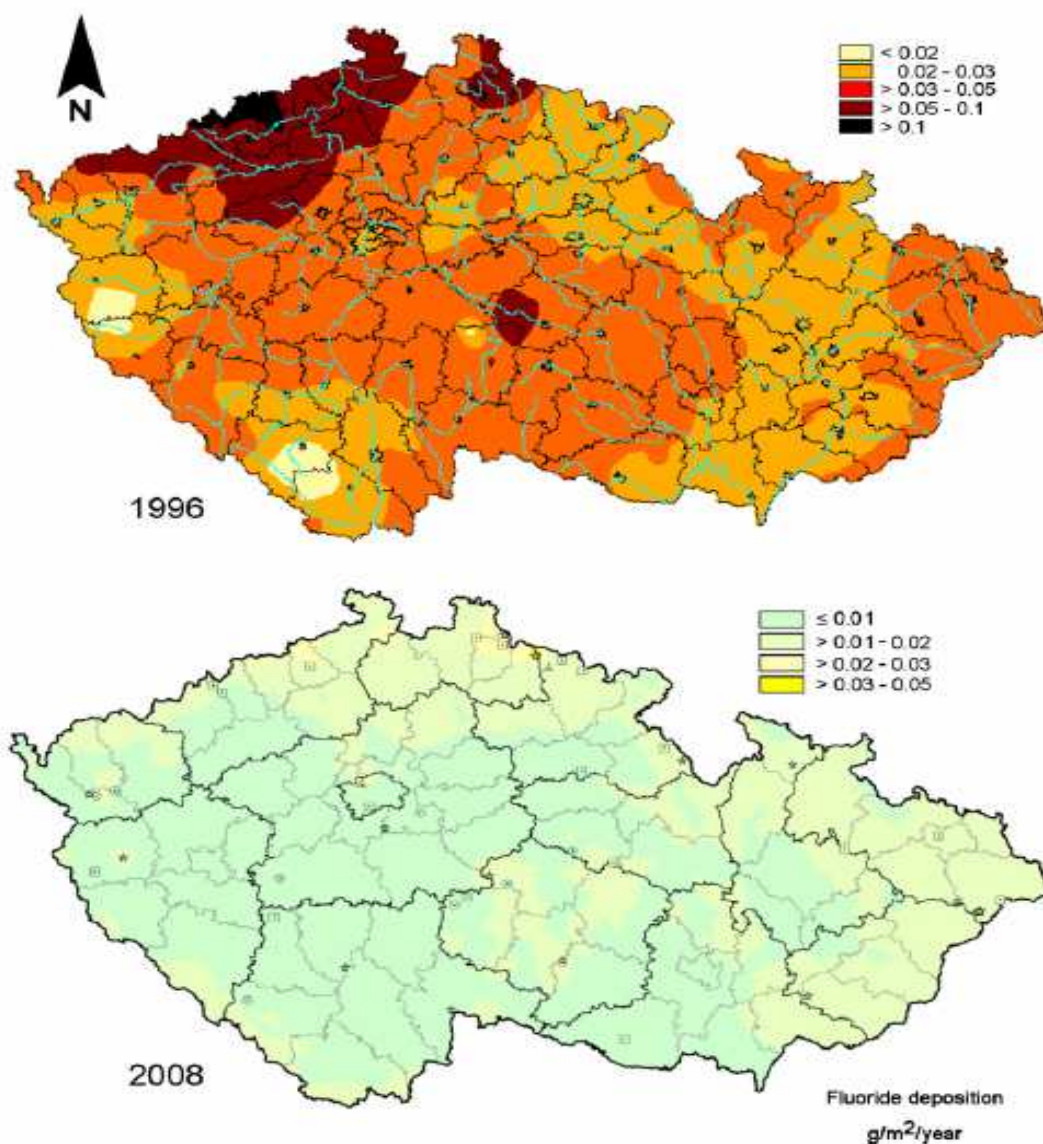
Studované území se nachází v severozápadní části České republiky a skládá se z pěti okresů (od západu na východ: Karlovy Vary, Chomutov, Most, Teplice a Ústí nad Labem) o celkové výměře 3900 km² (obr. 4.).

Obr. 4. Studované území (Zemek a kol., 2006)



Region je charakterizován koncentrací průmyslu, včetně hutního, chemického a strojního. Nejdůležitějším zdrojem fluoridového znečištění v této oblasti byly velké tepelné elektrárny spalující hnědé uhlí těžené přímo v postižené lokalitě (Carter, 1993; Sedláček a kol., 2001). V roce 1996 studovaná oblast zahrnovala fluoridy nejvíce znečištěné regiony v České republice včetně okresů Chomutov, Most a Teplice vykazující fluoridové depozice vyšší než $0,1 \text{ g/m}^2$ za rok (obr. 5).

Obr. 5. Mapy České republiky ukazují atmosférické depozice fluoridů (g/m^2 za rok) v letech 1996 a 2008. Je zde uvedeno pět okresů, které zahrnují sledované území: Karlovy Vary (KV), Chomutov (C), Most (M), Teplice (T) a Ústí nad Labem (U). Kombinováno z publikací Fialy a Ostatnické (1997) a Ostatnické (2009). Mapy reprodukovány se svolením Českého hydrometeorologického ústavu.



Ve studované oblasti se nachází pět významných tepelných elektráren, kterými jsou Elektrárna Pruněřov, Tušimice, Počerady, Ledvice a Tisová. Tyto elektrárny mají od zahájení svého provozu velký vliv na kvalitu životního prostředí v severočeském regionu.

Největší tepelnou elektrárnou v České republice je Elektrárna Pruněřov, nacházející se na západním okraji hnědouhelné pánve v blízkosti města Chomutov. Její starší část, Elektrárna Pruněřov I, byla uvedena do provozu v letech 1967 až 1968. Bylo zde instalováno šest 110MW bloků. V rozpětí let 1987 až 1992 prošly čtyři bloky rozsáhlými rekonstrukcemi a zbývající dva bloky byly v rámci útlumového programu začátkem devadesátých let odstaveny z provozu. Elektrárna Pruněřov II se skládá z pěti 210MW bloků. Ty byly postupně uvedeny do provozu v letech 1981 až 1982. V rámci první vlny ekologizace tepelných elektráren byla v letech 1995 (Pruněřov I) a 1996 (Pruněřov II) uvedena do provozu odsiřovací zařízení. Došlo ke snížení emisí (oxidy síry SO_x o 92 %, oxidy dusíku NO_x o 50 %, tuhé znečišťující látky o 93 %, oxid uhelnatý CO o 77 %) a skokovému zlepšení kvality ovzduší v severních Čechách, které je dnes většinou svých parametrů lepší než např. situace v ostravské nebo pražské aglomeraci (ČEZ, 2011).

Elektrárna Tušimice je umístěna jihozápadně od města Chomutov poblíž lomu Nástup-Tušimice. Umístění elektrárny v centru výskytu hnědého uhlí s pásovou dopravou od těžebních strojů až do elektrárny byly a jsou hlavní předností lokality Tušimice, neboť zcela odpadají náklady na dopravu uhlí po železnici. To významně snižuje výrobní náklady a řadí elektrárnu mezi nejefektivnější provozovny v České republice. Proto byla a je elektrárna od doby svého spuštění vždy maximálně využívána. Nejprve byla založena v roce 1964 Elektrárna Tušimice I (uzavřená od roku 1998), která byla v roce 1974 doplněna Elektrárnou Tušimice II o výkonu 800 MW. Odsiřovací zařízení byla v Elektrárně Tušimice II instalována v letech 1994-1997 a byla plně funkční od roku 1997 (ČEZ, 2011).

Elektrárna Počerady se nachází asi 16 km jižně od města Most. Výstavba elektrárny probíhala ve dvou fázích. V první fázi proběhla výstavba elektrárny Počerady I (bloky č. 1 až 4), která byla uvedena do provozu v letech 1970 a 1971. V druhé fázi byla postavena elektrárna Počerady II (bloky č. 5 a 6), uvedená do provozu v roce 1977. V rámci útlumového programu uhelných elektráren byl v roce 1994 ukončen provoz 1. bloku a ostatních 5 bloků prošlo modernizačním programem. Byla nainstalována zařízení k odsiřování dvou bloků a v roce 1996 byly

dány do provozu zbývající tři odsířené bloky. Od roku 1997 se začalo postupně přecházet z hydraulického odpopílkování a odstruskování na suchý odběr popílku a jeho následné zpracování na stabilizát (směs popílku, energosádrovce, strusky, vody a 1-3 % vzdušného nehašeného vápna). V elektrárně došlo k vytvoření takového stavu technologických procesů, které umožňují kromě výroby elektrické energie (jakožto dominantního produktu elektrárny), také výrobu celé řady stavebních hmot z původně odpadních produktů. S celkovým instalovaným výkonem 1000 MW patří Elektrárna Počerady mezi nejvyužívanější uhelné elektrárny v České republice. Díky svému výkonu a poměrně vysokému vytěžování ovlivňuje významným způsobem ekonomiku a životní prostředí celého regionu severozápadních Čech (ČEZ, 2011).

Elektrárna Ledvice je se nachází mezi městy Teplice a Bílina. Kromě výroby elektrické energie se zabývá výrobou tepla, které dodává především do Teplic a Bíliny. V elektrárně Ledvice je spalováno hnědé uhlí o výhřevnosti 11 - 13 MJ/kg z dolů Bílina. Uhlí je dopravováno přímo pásovými dopravníky ze sousední úpravny uhlí Ledvice. Elektrárna byla vybudována v letech 1966-1969 a její celkový výkon byl 640 MW. Po dokončení výstavby byla tvořena celkem pěti bloky. V roce 1994 byl ukončen provoz 5. bloku a v roce 1998 provoz 1. bloku. Zbývající tři bloky prošly v roce 1996 rozsáhlými úpravami, jejichž cílem bylo snížit dopad výroby elektřiny na životní prostředí. Celkový výkon v současné době činí 330 MW. Ve výstavbě se nachází nový blok o výkonu 660 MW, jehož zprovoznění se předpokládá v roce 2014 (ČEZ, 2011).

Elektrárna Tisová leží v západní části Sokolovské pánve mezi Krušnými horami a Slavkovským lesem a patří k našim nejstarším hnědouhelným elektrárnám. Na místě dnešní elektrárny stávala obec Tisová, která měla v roce 1930 až 1052 obyvatel. V 50. letech 20. století však bylo rozhodnuto o výstavbě průmyslového celku na zpracování uhlí, čímž skončila historie obce Tisová, která musela výstavbě ustoupit. V roce 1953 byla elektrárna rozdělena do dvou celků. V elektrárně Tisová I byl v roce 1959 nainstalovaný výkon 212 MW; Tisová II byla spuštěna mezi roky 1960 -1962 a měla výkon 300 MW. V roce 1964 po ukončení výstavby a stabilizaci provozu se Elektrárna Tisová podílela na výrobě elektrické energie celé elektrizační soustavy republiky 9,8 %. Tím byla Tisová první československou velkoelektrárnou. Od 80. let se zde vyrábí také teplo, které je rozvedeno do okolních měst. V 90. letech zde proběhly nemalé eko-technologické změny, např. výměna kotlů za fluidní kotle, elektroodlučovace popílku a odsiřovací zařízení (ČEZ, 2011).

3.2. Sběr vzorků

Studie byla provedena u volně žijícího srnce obecného a jelena lesního. Analyzovaný materiál se skládal ze spodních čelistí obou druhů, které byly získány na chovatelských přehlídkách trofejí v pěti severočeských okresech, tvořících studovanou oblast. Chovatelské přehlídky trofejí jsou spolu s dalšími opatřeními hlavním nástrojem řízení chovu spárkaté zvěře v České republice a konají se každé jaro před nástupem nové lovecké sezóny. Vystavení trofejí na těchto přehlídkách je povinné pro každého člena mysliveckého sdružení, který v dané sezóně ulovil zvěř spárkatou, černou nebo škodnou samčího pohlaví v příslušné honitbě. Mezi vystavené trofeje jsou zařazeny i kusy uhynulé (nejčastěji po střetu s automobilem). Vystavení trofejí pocházejících ze zvěře samičího pohlaví povinné není, proto se na přehlídkách příliš nevyskytují. Z tohoto důvodu byly do našeho výzkumu zahrnuty jen dvě čelisti samice srnce obecného a jedna čelist samice jelena lesního (všechny tři čelisti pocházely z chovatelských přehlídek trofejí z roku 2009). V předchozích studiích nebyl zjištěn žádný významný vliv pohlaví na obsah fluoridů v kostní tkáni zvěře (Kay a kol, 1976; Suttie a kol, 1987; Kierdorf a kol, 1989).

Analyzované vzorky spodních čelistí byly získány ve dvou časových obdobích. Materiál z "raného období" byl vystaven na chovatelské přehlídce na jaře v letech 1996 (okres Karlovy Vary) a 1997 (okresy: Teplice, Chomutov, Most, Ústí nad Labem). Čelisti tak pocházely z lovecké sezóny 1995/1996 (okres Karlovy Vary) a 1996/1997 (okresy: Teplice, Chomutov, Most, Ústí nad Labem). Materiál z "pozdního období" byl prezentován na chovatelských přehlídkách na jaře roku 2009 v okresech: Karlovy Vary, Teplice, Chomutov, Most, Ústí nad Labem a pocházel ze zvířat ulovených v loveckém roce 2008/2009. Spodní čelisti srnce obecného a jelena lesního z pozdního období byly shromážděny ve stejných honitbách jako v raném období. Honitby však nejsou totožné pro oba druhy, neboť výskyt srnčí a jelení zvěře se v různých lokalitách liší. Celkem bylo analyzováno 473 vzorků, z toho v raném období 284 vzorků (srnec obecný 157 vzorků, jelen lesní 127 vzorků), v pozdním období 189 vzorků (srnec obecný 117 vzorků, jelen lesní 72 vzorků).

Pro pozdější stanovení obsahu fluoridů v kostní tkáni byl z každé spodní čelisti odlomen *processus coronoideus* (přední výběžek spodní čelisti), který byl poté individuálně uložen v plastovém obalu. Odběr kostních vzorků a vyhodnocení zubní fluorózy bylo provedeno buďto na chovatelských přehlídkách (materiál z raného

období), nebo v laboratoři (materiál z pozdního období), protože v tomto případě jsme od lovců získali celé spodní čelisti.

3.3. Odhad věku zvěře

Do studie byly zahrnuty jen čelisti s kompletním počtem trvalých premolárů a molárů. Věk zvěře byl určen na základě zubního opotřebením (Habermehl, 1985). Metoda odhadu věku dle zubního opotřebením u zvěře nemusí být vždy přesná, proto je nutno brát v úvahu mnoho aspektů, jako například prostředí, ze kterého jedinec pochází a skladbu jeho potravy. V oblastech s vyšším množstvím emisí dochází u rostlin k silnější inkrustaci pletiv a není zanedbatelný ani brusný efekt popílku, což může mít vliv na zvýšené opotřebením chrupu (Hewison a kol, 1999). Nicméně, pro rychlé orientační určení stáří jedince se přesto tato metoda považuje za užitečnou. Je však nutné, aby byla všechna vyšetření provedena stejnou osobou, čímž se zvýší přesnost odhadu pozorovatele. U jedinců s vysokým postižením zubní fluorózou je pro odhad věku vhodné používat jen první stoličku (M1), protože další zuby bývají abnormálně opotřebením (Shupe a kol, 1984; Kierdorf, 1988).

3.4. Chemická analýza

Před chemickou analýzou byl vždy *processus coronoideus* rozlámán na menší úlomky a následně rozdrcen na kostní prach pomocí drtiče (MM 200, Retsch, Haan, Německo). Navážené vzorky v množství 20mg kostního prachu byly umístěny do plastových tub. Následně byly ke každému vzorku přidány 3ml 0,5 M kyseliny chloristé. Takto připravené vzorky byly umístěny na 12 hodin do laboratorní třepačky, kde došlo za stálého třepání k postupnému rozpuštění kostního prachu. Po rozpuštění byly do roztoku přidány 4ml činidla TISAB II (Orion TISAB II, Thermo Scientific, Beverly, MA, USA) pro úpravu iontové síly roztoku. Činidlo TISAB II je vhodné použít při stanovení koncentrace fluoridů v případě, že předpokládáme, že celková iontová síla roztoku se bude mezi jednotlivými vzorky lišit. Použití činidla TISAB II nám zajistí konstantní iontovou sílu ve všech vzorcích a následně přesné a reprodukovatelné měření fluorid selektivní elektrodou, pro jejíž použití je toto činidlo obzvláště vhodné. Činidlo obsahuje: neionizovanou H_2O , $CH_2COOHNa$, $NaCl$, CH_3COOH , $C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot H_2O$ CDTA a má pH 5,0-5,5. Dále byl přidán 1 ml

0,5 M roztoku hydroxidu sodného. Koncentrace fluoridů byly stanoveny pomocí fluorid selektivní elektrody (Orion 9609) a jsou uváděny v miligramech na kilogram suchého kostního prachu. Získané hodnoty byly použity pro výpočet průměru dvou paralelně analyzovaných vzorků. Veškeré chemické analýzy byly provedeny v SRN na univerzitě v Hildesheimu, katedra biologie, pod vedením Prof. Dr. Uwe Kierdorfa a Prof. Dr. Horsta Kierdorfa - viz. příloha.

3.5. Vyhodnocení zubní fluorózy

Vyhodnocení zubní fluorózy bylo provedeno u šesti stálých zubů (P2, P3, P4, M1, M2, M3), v levé polovině každé spodní čelisti (obr. 6, 7). Na základě makroskopického posouzení bylo každému zubu přiděleno skóre 0 (bez fluorózy), 1 až 5 (dle závažnosti postižení zubu fluorózou) s kritérii uvedenými v tabulce 1. Skóre všech šesti zubů bylo poté sečteno v tabulce DLI - index dentálního poškození pro příslušného jedince (tab.2). Veškeré makroskopické vizuální hodnocení bylo provedeno stejnou osobou (Prof. Dr. Horst Kierdorf).

Tab. 1. Bodovací schéma pro klasifikaci postižení zubní fluorózou trvalého chrupu dolní čelisti jelena lesního a srnce obecného (Kierdorf a kol., 1996a, 1999).

Skóre zubu	Zubní znaky
0	Normální (bílý a lesklý) vzhled skloviny. Na okluzních plochách jsou dobře formované hřebeny skloviny. Fyziologický stupeň opotřebení.
1	Neprůhlednost a posteruptivní zbarvení skloviny. Změny postihující především hroty zubů, někdy se mohou vyskytnout i horizontální pruhy.
2	Veškerá sklovina korunky zubu je neprůhledná a zbarvená. Více či méně výrazné snížení vrstvy skloviny okluzálních ploch.
3	Kromě neprůhlednosti a zbarvení, je zubní sklovina poseta drobnými erupcemi, které postihují až 5% zubu. Okluzální plocha se zplošťuje vzhledem k částečné nebo úplné ztrátě skloviny na hřebenech zubů.
4	Poškození dosahuje až 25% povrchu korunky zubu. Výrazné opotřebení zubu (zejména u starších jedinců) může vést ke vzniku abnormálního tvaru zubu.
5	Postižení povrchu korunky přesahuje 25%. Zuby jsou výrazně opotřebený, v mnoha případech dochází k nefunkčnosti korunky zubu.

Obr. 6. Řada zubů pravé dolní čelisti (P_{2-4} , M_{1-3}) jelena lesního z pozdního období (2009) bez známek zubní fluorózy; obsah fluoridů v kostní tkáni 228 mg / kg, DLI = 0, normální vzhled skloviny (bílý, lesklý), která tvoří zřetelné rýhy na žvýkacích plochách zubů a je přiměřeně opotřebená.



Obr. 7 Řada zubů pravé dolní čelisti (P_{2-4} , M_{1-3}) jelena lesního z pozdního období (2009) s vysokým stupněm postižení zubní fluorózou; obsah fluoridů v kostní tkáni 2938mg/kg, DLI = 20, sklovina je neprůhledná a zabarvená, na zubech jsou patrné rozsáhlé defekty skloviny u P_{2-4} a M_3 včetně abnormálního opotřebení těchto zubů (zejména u M_3), zatímco se M_1 zdá normální, což je typický nález u zubní fluorózy jelenů.



Tab. 2. Kritéria pro zařazování vzorků do jedné ze sedmi kategorií fluorózy na základě zaznamenaného DLI- indexu dentálního poškození (Kierdorf a kol., 1999).

Průměr DLI vzorku	Kategorie fluorózy vzorku
0	1
>0-3	2
>3-6	3
>6-9	4
>9-12	5
>12-15	6
>15	7

3.6. Statistická analýza dat

Vzhledem k tomu, že získaná data neměla normální rozdělení, což bylo stanoveno pomocí Kolmogorov-Smirnovova testu, byly během celé analýzy použity neparametrické testy. Pro obě období byly rozdíly mezi oběma druhy ve věku, obsahu fluoridů v kostní tkáni a DLI analyzovány v jednotlivých okresech a studijní oblasti jako celku pomocí Mann-Whitneyova U testu. Stejný test byl rovněž použit k analýze rozdílů ve věku a obsahu fluoridů v kostní tkáni u jedinců vykazujících zubní fluorózu ($DLI \geq 1$) a bez zubní fluorózy ($DLI = 0$) v obou obdobích. Rozdíly hodnot mezi obdobími (rané a pozdní), ve věku, obsahu fluoridů v kostní tkáni a DLI srnce obecného a jelena lesního pocházejících z pěti okresů byly analyzovány pomocí Kruskal-Wallisova testu. Pokud test odhalil významný rozdíl ($P < 0.05$), bylo provedeno srovnání průměrů skupin dvoustranným *post hoc* testem, abychom mohli identifikovat, které skupiny se výrazně liší. Pro zjištění frekvence výskytu zubní fluorózy u obou druhů v raném i pozdním období byl použit chí-kvadrát test. Vzhledem k tomu, že bylo prováděno více porovnání, byla uplatněna Bonferroniho korekce hladiny významnosti $\alpha 0,05$. Všechny statistické analýzy byly provedeny v programu STATISTICA 8.0, MS Excel byl použit pro tvorbu tabulek.

4. Výsledky a diskuze

Zjištění této studie jsou shodné s předchozími poznatky o vhodnosti volně žijící zvěře jako biologického ukazatele fluoridového znečištění, a to jak pro stanovení obsahu fluoridů v kostní tkáni, tak pro určení stupně zubní fluorózy (Kierdorf a Kierdorf, 1999a, 1999b, 2005; Jelenko a Pokorný, 2010). Na základě několika studií porovnávajících koncentrace fluoridů v kostní tkáni volně žijící zvěře, včetně studie naší, je možné dokonce konstatovat, že lovená zvěř, především pak jelenovití (díky uchovávaným trofejím) jsou i vhodnými druhy pro dlouhodobé monitorování zátěže prostředí fluoridy (Suttie a kol., 1987.; Kierdorf a Kierdorf, 1999a, 2000a, 2005; Jelenko a Pokorný, 2010). Např. Suttie a kol. (1987) porovnal údaje vzorků jelence běloocasého (*Odocoileus virginianus*) žijícího v okolí hliníkárný před a po zahájení jejího provozu a zaznamenal výrazný nárůst koncentrace fluoridů v metacarpu a mandibule u jedinců žijících v blízkosti továrny již tři roky po jejím uvedení do provozu. Naopak výrazná snížení obsahu fluoridů v čelní kosti (Kierdorf a Kierdorf, 1999a) a dolní čelisti (Kierdorf a Kierdorf, 2000a; Jelenko a Pokorný, 2010) byla pozorována u srnce obecného v různých regionech v Evropě po provedení opatření pro regulaci emisí. Během konce 19. století bylo prokázáno zvýšení expozice fluoridy u jelena lesního v regionu Porúří (Kierdorf a Kierdorf, 2000b). Tento nárůst se shoduje s masivní industrializací Porúří, které začalo okolo roku 1880. Volně žijící spárkatá zvěř byla také použita ke sledování poklesu hladiny fluoridů v životním prostředí v oblastech Německa a Slovinska po realizaci opatření pro regulaci emisí (Kierdorf a Kierdorf, 2005; Jelenko a Pokorný, 2010).

V předchozích studiích byly koncentrace fluoridů v kostní tkáni spodní čelisti jelena lesního analyzovány ze vzorků odebraných pomocí elektrické vrtačky ze spodní čelisti (Kierdorf, 1988; Kierdorf a kol, 1989, 1995, 1996a). Vzhledem k tomu, že tento postup je poměrně časově náročný, rozhodli jsme se v této studii použít pro analýzu *processus coronoideus*. To vyvolává otázku, jestli se obsah fluoridů může v jednotlivých částech spodní čelisti lišit. Kay (1975) zaznamenal vyšší koncentrace fluoridů v *processu coronoideu* ve srovnání s ostatními částmi dolní čelisti u jelence ušatého (*Odocoileus hemionus*). Kay (1975) připisoval vyšší koncentraci fluoridů v *processu coronoideu* většímu podílu spongiózní hmoty a výslednému většímu kostnímu povrchu. I přesto, že jsme se v této studii nezabývali otázkou rozdílu obsahu fluoridů v různých částech spodní čelisti, lze předpokládat, že rozdíly

pozorované u jelence ušatého (Kay, 1975) v zásadě existují také u srnce obecného a jelena lesního. Z toho vyplývá, že při srovnání koncentrace fluoridů v kostní tkáni odebrané ze spodní čelisti spárkaté zvěře, by mělo být vždy uvedeno, z které části mandibuly byl vzorek získán, neboť tuto skutečnost je nutné při vyhodnocení výsledků zohlednit.

Jsme si vědomi pouze jedné předchozí studie, která se věnovala výskytu zubní fluorózy u spárkaté zvěře v oblasti s měnící se fluoridovou expozicí v průběhu času (Suttie a kol., 1987). Tito autoři analyzovali výskyt zubní fluorózy u jelence běloocasého ($\geq 1,5$ let) z okolí již výše zmíněné hliníkárně, která zahájila provoz v roce 1980. Zatímco žádné z 11 zvířat ulovených v roce 1980 nevykazovalo známky zubní fluorózy, 7 z 13 kusů ulovených v roce 1983 již zubní fluorózou trpělo. Tato zjištění a současná studie jasně podporují představu, že zubní fluoróza je velmi citlivým ukazatelem nadměrné expozice fluoridům v období formace zubů u spárkaté zvěře (Kierdorf a kol., 1996a; Kierdorf a Kierdorf, 1999b).

4.1. Obsah fluoridů v kostní tkáni srnce obecného a jelena lesního

U obou druhů byly významně vyšší koncentrace fluoridů v kostní tkáni pozorovány v raném období v porovnání s obdobím pozdním ve všech okresech (tab. 3, 4).

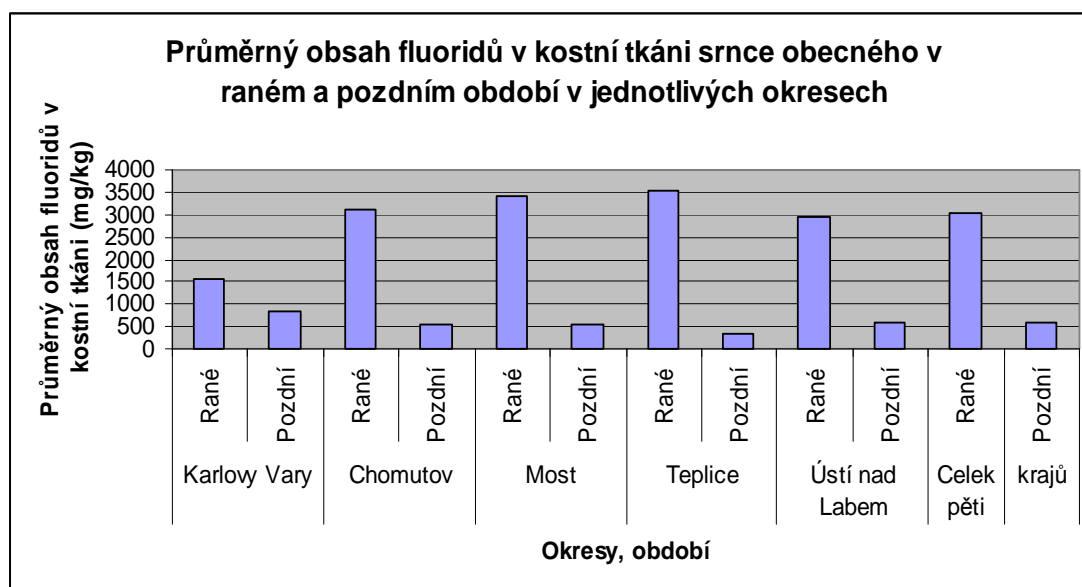
Jednotlivé hodnoty obsahu fluoridů v kostní tkáni se pohybovaly mezi 636 až 5480 mg/kg u srnce obecného z raného období a mezi 83 až 3770 mg/kg z pozdního období. U jelena lesního se jednotlivé koncentrace fluoridů v kostní tkáni v raném období pohybovaly mezi 328 až 3090 mg/kg, zatímco v pozdním období byly zaznamenány hodnoty mezi 102 až 2140 mg/kg. U srnce obecného z raného období byla zjištěna mnohem vyšší koncentrace fluoridů v kostní tkáni než u jelena lesního z téhož období ve všech pěti okresech, ačkoli nebyly zaznamenány žádné významné rozdíly ve věku mezi oběma druhy (tab. 3, 4). Zatímco 125 ze 157 (79,6 %) jedinců srnce obecného v raném období vykazovalo koncentraci fluoridů vyšší než 2000 mg/kg kostního prachu, u jelena lesního to bylo jen 7 ze 127 (5,5 %) jedinců v témže období.

V pozdním období se koncentrace fluoridů vyšší než 2000 mg/kg kostního prachu zjistila jen u 5 ze 117 (4,3 %) jedinců srnce obecného a pouze 1 jedinec jelena lesního ze 72 (1,4 %).

Tab. 3. Obsah fluoridů v kostní tkáni (mg/kg kostního prachu) srnce obecného (*Capreolus capreolus*) v pěti okresech severních Čech z raného (chovatelské přehlídky trofejí z let 1996 / 1997) a pozdního (chovatelské přehlídky trofejí z roku 2009) období.

Okres	Období	n	Obsah fluoridů v kostní tkáni (mg/kg)			
			Median	Průměr	Min–Max	Hodnota P
Karlovy Vary	Rané	23	1519	1566	636-3103	0.00003
	Pozdní	30	487	862	130-3769	
Chomutov	Rané	25	3276	3133	1346-5413	<0.000001
	Pozdní	24	351	547	83-2331	
Most	Rané	19	3720	3426	1552-5477	<0.000001
	Pozdní	27	341	542	116-2938	
Teplice	Rané	50	3485	3550	2245-5339	<0.000001
	Pozdní	21	288	320	134-761	
Ústí nad Labem	Rané	40	2856	2968	1082-4742	<0.000001
	Pozdní	15	409	573	117-1464	
Celek pěti Okresů	Rané	157	3147	3030	636-5477	<0.000001
	Pozdní	117	350	589	83-3769	

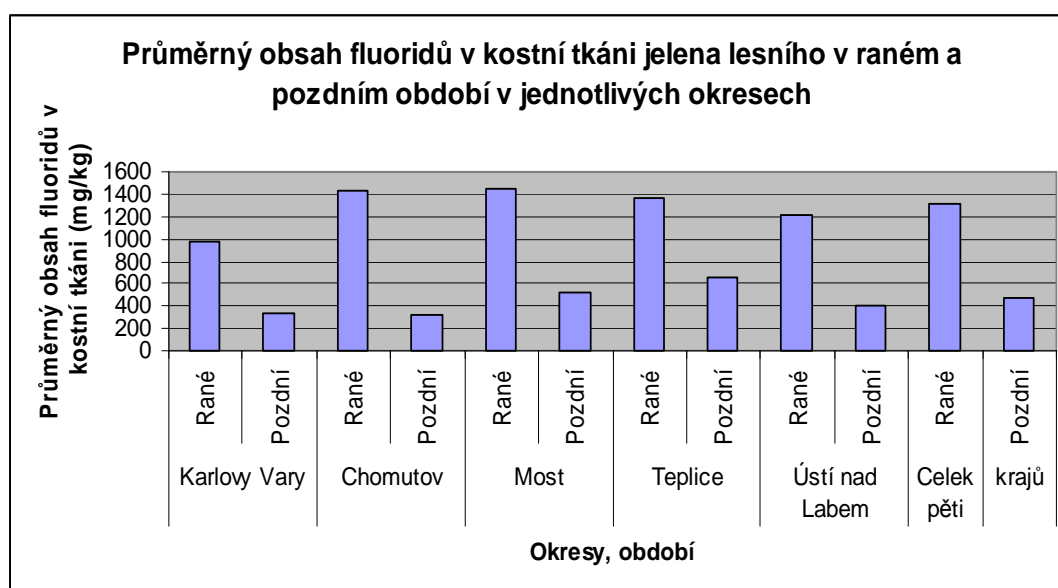
Obr. 8. Průměrný obsah fluoridů v kostní tkáni srnce obecného v raném a pozdním období v jednotlivých okresech.



Tab. 4. Obsah fluoridů v kostní tkáni (mg/kg kostního prachu) jelena lesního (*Cervus elaphus*) v pěti okresech severních Čech z raného (chovatelské přehlídky trofejí z let 1996/ 1997) a pozdního (chovatelské přehlídky trofejí z roku 2009) období. Statisticky významné hodnoty jsou uvedeny tučně.

Okres	Období	n	Obsah fluoridů v kostní tkáni (mg/kg)			
			Median	Průměr	Min–Max	Hodnota P
Karlovy Vary	Rané	18	910	971	328-2873	0.0008
	Pozdní	9	218	338	121-1116	
Chomutov	Rané	20	1413	1427	859-2028	0.000001
	Pozdní	14	263	324	102-966	
Most	Rané	34	1444	1447	819-2034	0.000001
	Pozdní	18	299	517	112-1865	
Teplice	Rané	32	1246	1360	668-3088	0.0001
	Pozdní	16	382	659	141-2140	
Ústí n.Labem	Rané	23	1188	1213	700-1813	0.000005
	Pozdní	15	268	407	201-1291	
Celek pěti Okresů	Rané	127	1263	1312	328-3088	<0.000001
	Pozdní	72	188	465	102-2140	

Obr. 9. Průměrný obsah fluoridů v kostní tkáni jelena lesního v raném a pozdním období v jednotlivých okresech.



Výše uvedená data ukazují, že jedinci srnce obecného byli vystaveni vyšším fluoridovým epozicím než jedinci jelena lesního. Ke stejnému zjištění došel i Mužik (1996), který stanovil koncentrace fluoridů v kostní tkáni srnce obecného a jelena lesního z oblasti Chebu, Sokolova, Chomutova a Mostu. Existuje řada faktorů, které mohou přispět ke vzniku takového rozdílu. Například srnec obecný obsazuje širokou škálu stanovišť včetně lesů, polí, otevřených zemědělských ploch a dalších regionů silně modifikovaných lidskou činností (Andersen a kol., 1998; Forst, 1975). V důsledku toho, se i ve studované oblasti vyskytuje v lokalitách, které jsou poměrně blízko hlavního zdroje emisí. Tím jsou jednak tepelné elektrárny, ale také spalování uhlí drobnými spotřebiteli.

Srnec obecný se také zdržuje v podstatně menším teritoriu, což může mít za následek menší „ředění“ fluoridové zátěže, zatímco jelen lesní se většinou soustředí na větší plochy lesa a horské oblasti, žije v místech více vzdálených od emisních zdrojů a lidské činnosti, což má pravděpodobně za následek nižší stupeň vystavení těmto vlivům a současně i fluoridovému spadu. Pro námi sledované druhy jsou hlavním zdrojem fluoru rostliny. V málo exponovaných oblastech obsahují v průměru 0,2 až 0,3 mg F⁻/kg zelené hmoty. V rostlinách rostoucích v pásu 2-2,5 km v okolí hliníkárn byly zaznamenány hodnoty fluoridů 2,5 mg / kg zelené hmoty. Ve vzdálenosti 0,2 až 1 km dosáhly hodnoty až 4,57 mg F⁻ / kg zelené hmoty. Po dvaceti letech byly zjištěny v okolí těžby hliníkárn hodnoty 18 až 115 mg F⁻ / kg zelené hmoty (Valach, 1990). Dále nelze zanedbat ani intenzivnější metabolismus srnce obecného (viz např. Jánský a Novotný, 1981), který může mít za následek uložení většího množství fluoridů v organismu. Srnec obecný vzhledem k mnohem menšímu objemu batoru musí přijímat potravu v menším množství a častěji, než jelen. Srnec upřednostňuje pestrost a vysoký energetický obsah potravy. Místo kvantity vyhledává kvalitu. Když může, konzumuje napůl dřevnatou potravu raději než čistě bylinnou. Oblíbenou srnčí potravou je ostružiník, břecťan, maliník, borůvčí a letorosty jehličnatých stromů, dubů, buku lesního, lísky a dalších dřevin. Na podzim se ze srnců stávají konzumenti plodů, a to jak lesních, tak ovoce v sadech a přístupných zahradách. Také obilí, zejména nedozrálé, je intenzivně přijímáno. Kdežto jelen lesní vychází na pastvu méně často a má menší nároky na kvalitu potravy. Živí se travnatou potravou, spásá bylinné patro v lesích a na přilehlých loukách, ukusuje listy a větve stromů. Rád se však přiživí také na různých semenech a plodech - bukvicích, žaludech, kaštanech, jeřabinách, kukuřici a lesním ovoci

(Forst, 1975), lidským sídlům se však zdaleka vyhýbá. Rozdíly ve výběru potravy a fyziologii trávení u obou druhů zvěře a především výběr stanovišť, kde potravu vyhledávají, mohly přispět k pozorovaným rozdílům v koncentraci fluoridů v kostní tkáni.

Avšak i v rámci jednoho druhu existují rozdíly v koncentraci fluoridů v kostní tkáni, v závislosti na výběru stanoviště. Samuljo et al. (1994) srovnal koncentrace fluoridů v kostní tkáni u jelena lesního pocházejícího ze čtyř různých regionů v západním Polsku. Jedinci žijící v blízkosti zdroje emisí fluoridů, kterým byla výrobní hnojiv, vykazovali vysoké průměrné hodnoty koncentrace fluoridů v kostní tkáni. Tyto hodnoty byly podobné těm, které zjistil Kierdorf a kol., 1996 v oblasti severozápadních Čech v době, kdy zde bylo životní prostředí stále velmi zatíženo produkcí emisí fluoridů. Samuljo et al. (1994) zjistil, že jedinci jelena lesního pocházející z oblastí Polska vzdálených od zdroje fluoridového znečištění, vykazují mnohem nižší hodnoty fluoridů v kostní tkáni. Kierdorf a kol., 1996 tuto skutečnost potvrdil, když porovnal hodnoty jelena lesního pocházejícího ze severozápadních Čech a západní části Německa, kde byly zjištěny průměrné hodnoty koncentrace fluoridů v kostní tkáni jen 322 mg/kg.

4.2. Vyhodnocení věku zvěře

Průměrný odhad věku v raném období činil u srnce obecného 4,1 let (minimální věk – 1 rok, maximální věk - 9 let). U jelena lesního byl průměrný odhadovaný věk v raném období 4,8 roku (minimální věk - 3 roky, maximální věk - 12 let). Trvalý chrup srnce obecného je kompletní od asi 13 měsíců věku, u jelena lesního od asi 28 měsíců (Habermehl, 1985). To znamená, že chrup starších jedinců obou druhů z raného období (1996/1997) byl tvořen koncem osmdesátých let a začátkem devadesátých let, tj. před realizací účinných opatření ke snížení emisí tepelných elektráren a zdokumentovaným snížením ukládání fluoridů ve studované oblasti. Tím jsme došli k závěru, že čelisti, které byly prezentovány na chovatelských přehlídkách trofejí v letech 1996 a 1997 pocházejí ze zvířat, která byla vystavena vysokým úrovním fluoridové expozice po celý svůj život.

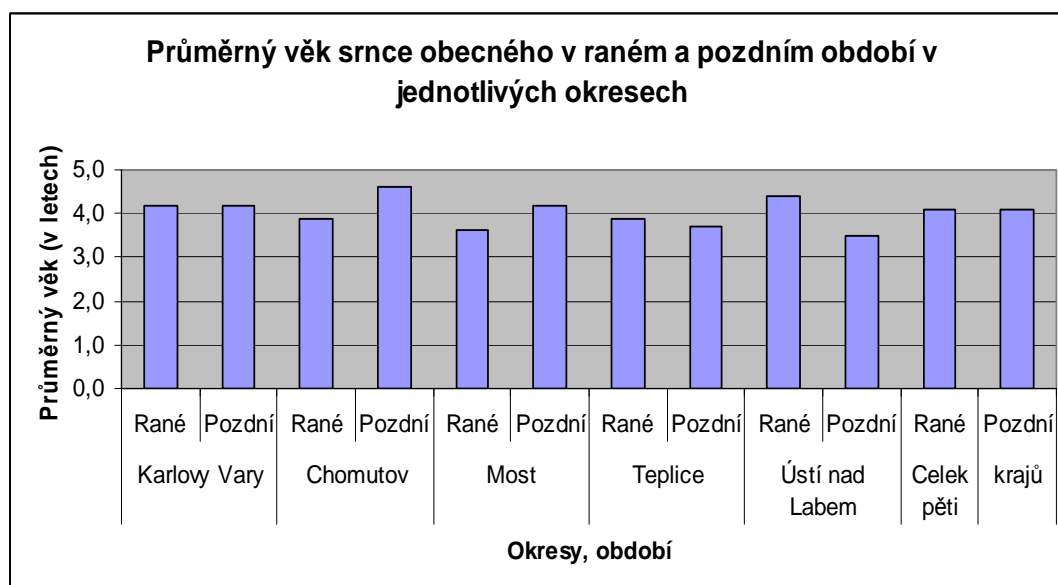
Průměrný odhad stáří srnce obecného z pozdního období činil 4,1 let (minimální věk - 2 roky, maximální věk - 10 let), průměrný odhadovaný věk jelena lesního z této doby byl 5,3 roku (minimální věk - 3 roky, maximální věk - 14 let). Údaje o

fluoridových depozicích (Fiala a Ostatnická, 1997, Ostatnická, 2009, obr. 5) ukazují výrazné snížení fluoridového spadu v posledních letech ve srovnání s rokem 1996. To naznačuje, že jedinci zastoupení na chovatelských přehlídkách trofejí v roce 2009 byli oproti jedincům z let 1996/1997 během svého života vystaveni výrazně nižším expozicím fluoridům. Z toho důvodu jsme u jedinců z pozdního období předpokládali menší výskyt zubní fluorózy a nižší hodnoty obsahu fluoridů v kostní tkáni. U obou druhů zvěře přitom nebyly zjištěny významné rozdíly ve věku mezi jedinci v raném ani v pozdním období a to v žádném z pěti okresů ani ve studijní oblasti jako celku (tab. 5, 6).

Tab. 5. Věk (v letech) srnce obecného (*Capreolus capreolus*) v pěti okresech severních Čech z raného (chovatelské přehlídky trofejí z let 1996 / 1997) a pozdního (chovatelské přehlídky trofejí z roku 2009) období.

Okres	Období	n	Věk (v letech)			
			Median	Průměr	Min– Max	Hodnota P
Karlovy Vary	Rané	23	4.0	4,2	2-8	0.99
	Pozdní	30	4.0	4,2	2-9	
Chomutov	Rané	25	4.0	3,9	2-7	0.40
	Pozdní	24	4.0	4,6	2-10	
Most	Rané	19	4.0	3,6	1-7	0.70
	Pozdní	27	4.0	4,2	2-10	
Teplice	Rané	50	4.0	3,9	2-7	0.33
	Pozdní	21	3.0	3,7	2-7	
Ústí n. Labem	Rané	40	5.0	4,4	2-9	0.17
	Pozdní	15	3.0	3,5	2-8	
Celek pěti Okresů	Rané	157	4.0	4,1	1-9	0.59
	Pozdní	117	4.0	4,1	2-10	

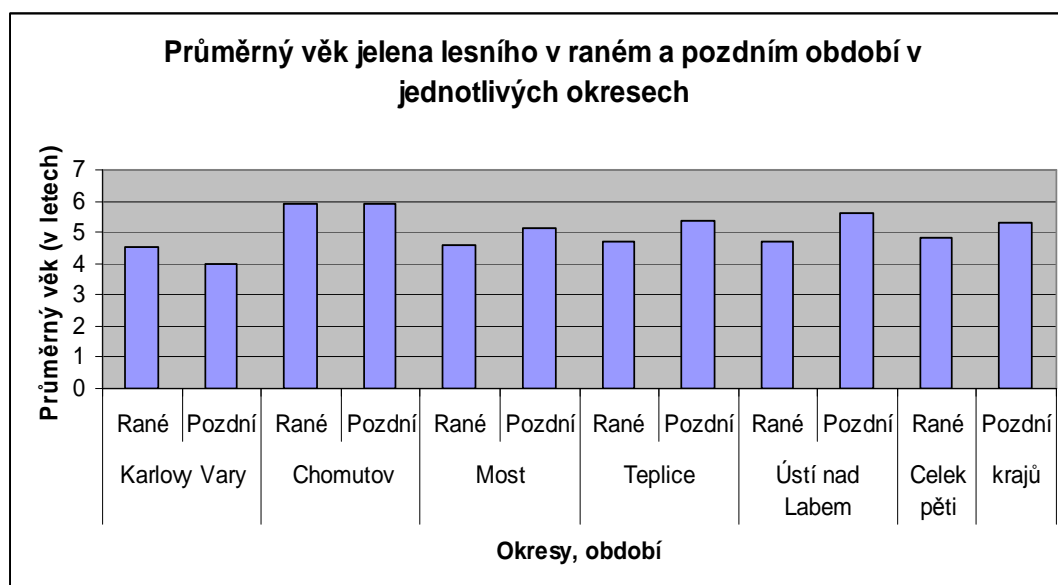
Obr. 10. Průměrný věk srnce obecného v raném a pozdním období v jednotlivých okresech.



Tab. 6. Věk (v letech) jelena lesního (*Cervus elaphus*) v pěti okresech severních Čech z raného (chovatelské přehlídky trofejí z let 1996 / 1997) a pozdního (chovatelské přehlídky trofejí z roku 2009) období.

Okres	Období	n	Věk (v letech)			
			Median	Průměr	Min– Max	Hodnota P
Karlovy Vary	Rané	18	4.0	4.5	3-9	0.55
	Pozdní	9	4.0	4.0	3-7	
Chomutov	Rané	20	5.5	5.9	3-10	0.32
	Pozdní	14	4.0	5.9	3-14	
Most	Rané	34	4.0	4.6	3-9	0.09
	Pozdní	18	5.0	5.1	4-8	
Teplice	Rané	32	3.5	4.7	3-10	0.08
	Pozdní	16	5.0	5.4	4-13	
Ústí n. Labem	Rané	23	4.0	4.7	3-12	0.018
	Pozdní	15	6.0	5.6	4-8	
Celek pěti Okresů	Rané	127	4.0	4.8	3-12	0.032
	Pozdní	72	5.0	5.3	3-14	

Obr. 11. Průměrný věk srnce obecného v raném a pozdním období v jednotlivých okresech.



4.3. Regionální rozdíly ve fluoridové expozici zvířete

Obsah fluoridů v kostní tkáni se u vzorků obou druhů z raného období v jednotlivých okresech značně lišil. V roce 1996 byly okresy Chomutov, Most a Teplice vystaveny nejvyšší depozici fluoridů na území České republiky. V těchto okresech byl v roce 1996 zjištěn fluoridový spad více než $0,1 \text{ g/m}^2$ za rok (Fiala a Ostatnická, 1997) viz. obr. 5. Na mapách je možné v letech 1996-2008 sledovat výrazný úbytek fluoridových imisí.

V raném období byli jedinci srnce obecného a jelena lesního pocházející z těchto tří okresů vystaveni vyšší expozici fluoridy než jedinci z dalších dvou studovaných okresů. Porovnáním získaných údajů byly zjištěny průkazně vyšší hodnoty koncentrace fluoridů v kostní tkáni u vzorků jelena lesního z oblasti Chomutova ($P=0,0015$), Mostu ($P<0,0001$) a Teplic ($P=0,014$) v porovnání s jedinci z okresu Karlovy Vary. Rozdíly při porovnání hodnot pocházejících z okresů Chomutov, Most a Teplice s hodnotami z okresu Karlovy Vary jsou statisticky významné. Také u vzorků srnce obecného jsme zjistili, že jedinci pocházející z okresu Karlovy Vary vykazují významně nižší koncentrace fluoridů v kostní tkáni, oproti ostatním čtyřem okresům (všechna $P<0,0001$). Navíc rozdíl hodnot jedinců pocházejících z Teplic a z Ústí nad Labem byl statisticky významný ($P=0,032$). Mimo jiné, koncentrace fluoridů v kostní tkáni vyšší než 5000 mg/kg byly zjištěny pouze u vzorků kostní tkáně srnce obecného získaných v letech 1996/1997. Tito jedinci vždy pocházeli z jednoho ze tří inkriminovaných okresů Chomutov, Most nebo Teplice.

Tím vzniká jasná shoda mezi údaji o atmosférické depozici fluoridů a hodnotami koncentrace fluoridů v kostní tkáni u srnce obecného při identifikaci jádra oblasti fluoridového znečištění. Jako oblast s hlavním zdrojem fluoridového znečištění můžeme proto označit okolí Chomutova, Mostu a Teplic. Znečištění zjištěné v regionu Ústí nad Labem může být ovlivněno spadem z jádra oblasti vlivem větrných podmínek. Převládající západní a jihozápadní proudění má pravděpodobně za následek vyšší úroveň znečištění směrem na východ a severovýchod až po Ústí nad Labem. Zároveň mají povětrnostní podmínky vliv i na znečištění okresu Karlovy Vary, zejména z oblasti Sokolova. Okres Sokolov leží západně od okresu Karlovy Vary a je vysoce průmyslový. Z odvětví průmyslu je nejpočetněji zastoupen průmysl paliv. Dále je na okrese rozšířen průmysl strojírenský, chemický, textilní, průmysl

skla, keramiky a porcelánu. Životní prostředí okresu je nejhorší v Karlovarském kraji. Na jeho kvalitu negativně působí zejména těžba a následné zpracování hnědého uhlí. Všechny škodlivé látky jdoucí do ovzduší, zejména při překračování nejvyšší přípustných koncentrací, výrazně znehodnocují životní prostředí (ČSÚ, 2012). Můžeme tedy předpokládat, že převládající západní a jihozápadní větry zanášejí ve významné míře znečišťující látky z okresu Sokolov na území okresu Karlovy Vary. Další významnou roli v této otázce hraje i geomorfologické uspořádání Krušných hor, údolí Ohře a Mostecké pánve, která vytváří příhodné podmínky pro uzavření vzdušných mas především v zimním období (Kotěšovec a kol., 1990, Moldan, 1990). Při inverzních situacích se tak mohou na fluor bohaté imise rozšířit v okolí svých zdrojů. Představu o šíření fluoridů vzduchem podporují také nálezy vyšších hladin na úbočích a nižších hladin na hřebenech hor (Sedláček a kol., 1991).

Také u vzorků kostní tkáně jelena lesního pocházejících z let 1996/1997 byly zjištěny nejvyšší hodnoty koncentrace fluoridů v kostní tkáni v okresech Chomutov, Most a Teplice. Avšak rozdíly mezi každým z těchto tří okresů a okresem Karlovy Vary, ve kterých byly zjištěny nejnižší hodnoty koncentrace fluoridů v kostní tkáni u jelena lesního v raném období, jsou méně výrazné než u srnce obecného. To potvrzuje, že srnec obecný, obsazující oproti jiné spárkaté zvěři menší teritoria, je ve srovnání s ostatními druhy spárkaté zvěře (Andersen a kol., 1998) zvláště vhodný jako indikační druh pro analýzu regionálních rozdílů fluoridového znečištění s vysokým prostorovým rozlišením (Kierdorf a Kierdorf, 2000a, 2002, Jelenko a Pokorný, 2010).

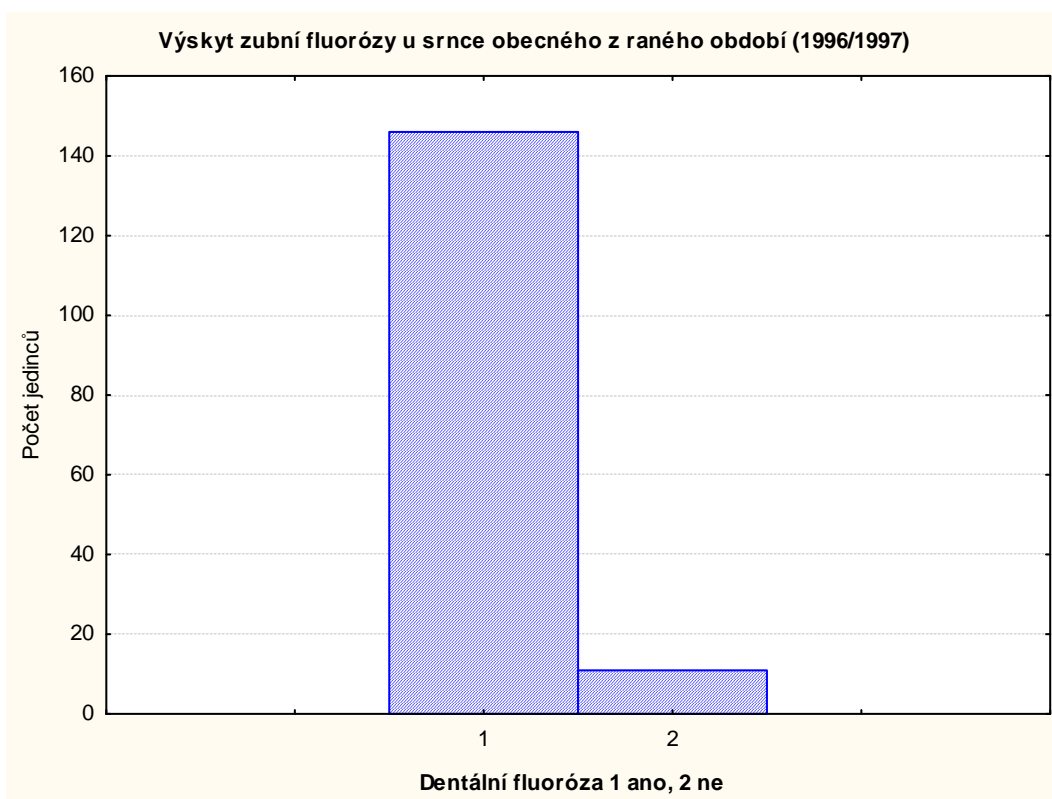
V pozdním období nebyly u srnce obecného ani u jelena lesního zjištěny žádné statisticky významné rozdíly v obsahu fluoridů v kostní tkáni v jednotlivých okresech (tab. 9).

4.4. Vyhodnocení výskytu zubní fluorózy v raném a pozdním období

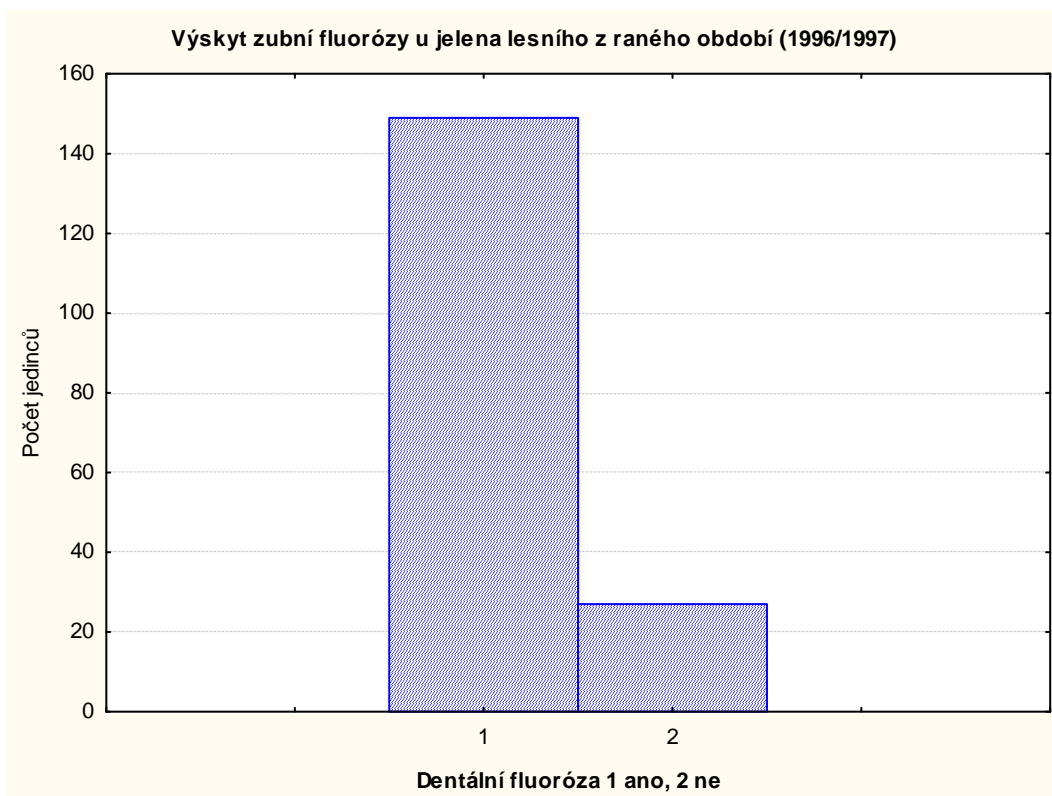
Výskyt zubní fluorózy se u obou druhů v jednotlivých obdobích lišil. V raném období byla zubní fluoróza diagnostikována u 146 ze 157 jedinců srnce obecného (93 %) a u 111 ze 127 kusů jelena lesního (87 %) (obr. 12, 13). Zdraví jedinci byli mladší než ti postižení zubní fluorózou, ale rozdíly ve věku byly statisticky významné pouze u jelena lesního. Skutečnost, že koncentrace fluoridů v kostní tkáni

byla výrazně nižší u jedinců jelena lesního z raného období nevykazujících zubní fluorózu oproti jedincům postiženým zubní fluorózou ve stejném období ukazuje, že jelen lesní, který byl vystaven menším expozicím fluoridům v období jeho zubního vývoje, byl zároveň méně exponován také po celou dobu svého života. V případě srnce obecného se koncentrace fluoridů v kostní tkáni mezi oběma skupinami významně nelišily.

Obr. 12. Výskyt zubní fluorózy u srnce obecného z raného období (1996/1997)

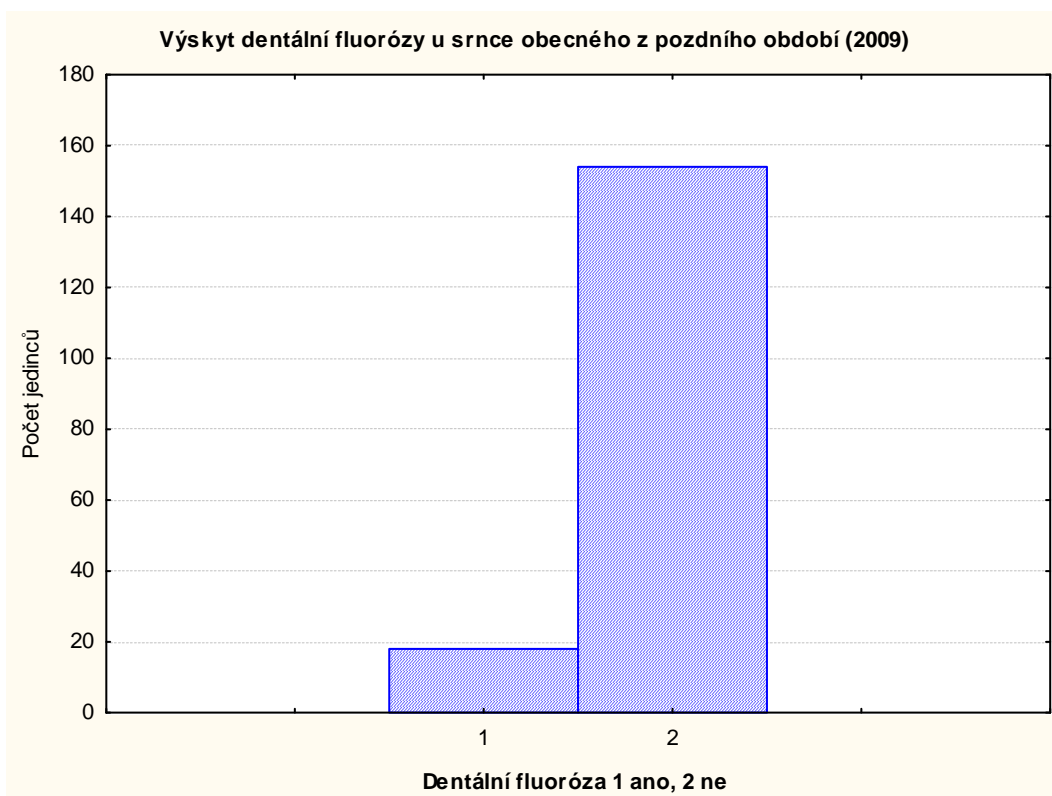


Obr. 13. Výskyt zubní fluorózy u jelena lesního z raného období (1996/1997)

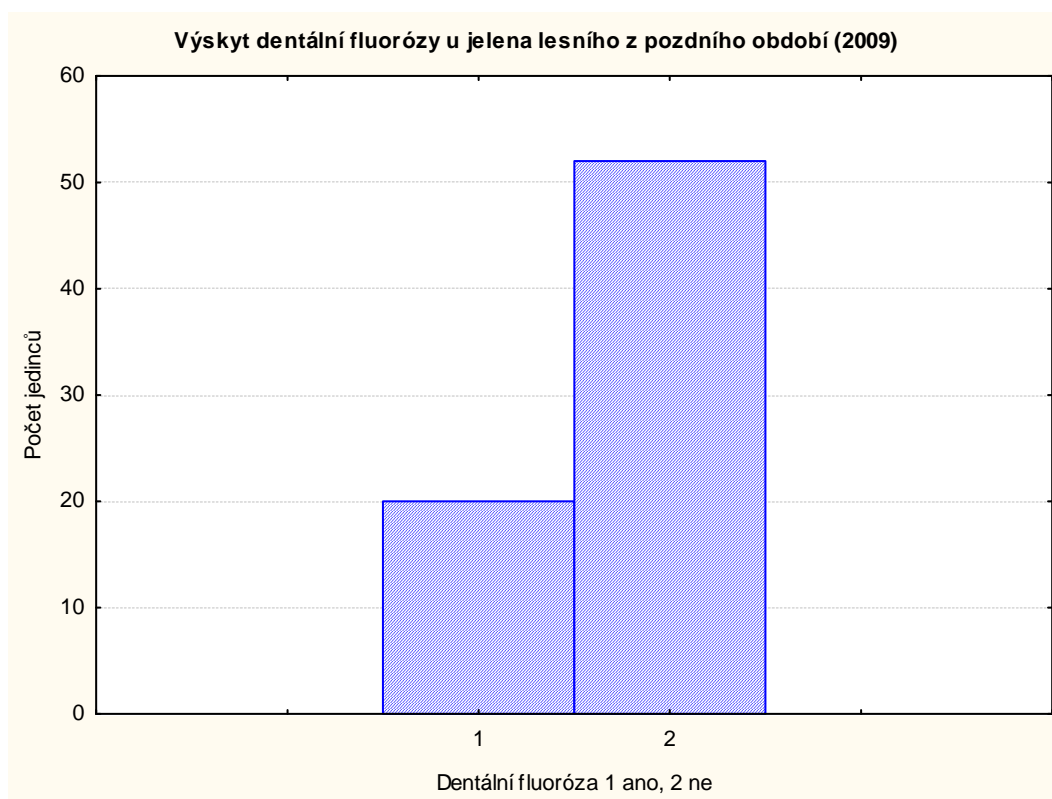


V pozdním období byl zjištěn výskyt onemocnění jen u 14 ze 117 kusů srnce obecného (12 %) a u 20 ze 72 kusů jelena lesního (28 %) (obr. 14, 15). V tomto období byly u jedinců srnce obecného i jelena lesního, kteří vykazovali postižení zubní fluorózou, zjištěny významně vyšší koncentrace fluoridů v kostní tkáni než u jedinců zdravých. To naznačuje, že nemocní jedinci žili v lokalitách stále vystavených poměrně vysokým hladinám kontaminace fluoridy.

Obr. 14. Výskyt zubní fluorózy u srnce obecného z pozdního období (2009)



Obr. 15. Výskyt zubní fluorózy u jelena lesního z pozdního období (2009)



Porovnání hodnot DLI u jedinců postižených zubní fluorózou v obou obdobích potvrzuje, že jedinci srnce obecného pocházející z raného období, kteří vykazovali zubní fluorózu, byli v průměru vystaveni vyšším hodnotám fluoridů, způsobujících vážnější poškození zubů během jejich vývoje, než nemocní jedinci pocházející z pozdního období. U jelena lesního nebyly pozorovány tak výrazné rozdíly v hodnotách DLI mezi sledovanými obdobími (tab. 12). Toto zjištění je v souladu s předpokladem učiněným na základě údajů o koncentraci fluoridů v kostní tkáni, z čehož vyplývá, že stanoviště srnce obecného nacházející se v blízkosti emisních zdrojů, byla před realizací protiemisních opatření vystavena zvláště vysokému fluoridovému spadu.

Rozdíl v počtu jedinců postižených zubní fluorózou v jednotlivých obdobích byl patrný u obou druhů (obr. 12, 13, 14, 15,). Ve všech okresech byly hladiny DLI u srnce obecného v raném období významně vyšší než u jedinců v pozdním období (tab. 7). Median hodnot z raného období se pohyboval mezi 12.0 a 16.0, zatímco median pro pozdní období byl nulový ve všech pěti okresech. Dále byly zjištěny výrazně nižší hodnoty DLI u jelena lesního z pozdního období (median 1.5 z Teplic a 0 z ostatních čtyřech okresů) ve srovnání s hodnotami DLI v raném období (rozsah

medianu ve všech okresech byl od 4.0 do 10.0). Nicméně rozdíly mezi oběma obdobími byly statisticky významné jen v okrese Chomutov a ve studijní oblasti jako celku (tab. 9).

Porovnání hodnot DLI u srnce obecného a jelena lesního v jednotlivých obdobích ukázalo významně vyšší hodnoty u vzorků srnce obecného z okresu Chomutov a studijní oblasti jako celku v raném období.

V pozdním období nebyl zjištěn žádný významný rozdíl mezi oběma druhy (tab. 9).

Tab. 7. Index zubního poškození (DLI) srnce obecného (*Capreolus capreolus*) v pěti okresech severních Čech z raného (chovatelské přehlídky trofejí z let 1996/1997) a pozdního (chovatelské přehlídky trofejí z roku 2009) období. Statisticky významné hodnoty jsou uvedeny tučně.

Okres	Období	n	DLI		
			Median	Min– Max	Hodnota P
Karlovy Vary	Rané	23	12.0	0-20	0.000001
	Pozdní	30	0	0-15	
Chomutov	Rané	25	16.0	4-20	<0.000001
	Pozdní	24	0	0-8	
Most	Rané	19	14.0	0-20	0.000005
	Pozdní	27	0	0-20	
Teplice	Rané	50	13.0	0-20	<0.000001
	Pozdní	21	0	0-3	
Ústí n. Labem	Rané	40	13.5	0-19	<0.000001
	Pozdní	15	0	0-9	
Celek pěti Okresů	Rané	157	13.0	0-20	<0.000001
	Pozdní	117	0	0-20	

Tab. 8. Index zubního poškození (DLI) jelena lesního (*Cervus elaphus*) v pěti okresech severních Čech z raného (chovatelské přehlídky trofejí z let 1996/1997) a pozdního (chovatelské přehlídky trofejí z roku 2009) období. Statisticky významné hodnoty jsou uvedeny tučně.

Okres	Období	n	DLI		
			Median	Min– Max	Hodnota P
Karlovy Vary	Rané	18	8.5	0-17	0.0031
	Pozdní	9	0	0-9	
Chomutov	Rané	20	10.0	4-19	0.000002
	Pozdní	14	0	0-6	
Most	Rané	34	6.5	0-25	0.0020
	Pozdní	18	0	0-13	
Teplice	Rané	32	5.0	0-21	0.07
	Pozdní	16	1.5	0-16	
Ústí n. Labem	Rané	23	4.0	0-20	0.0098
	Pozdní	15	0	0-13	
Celek pěti Okresů	Rané	127	7.0	0-25	<0.000001
	Pozdní	72	0	0-16	

Tab. 9. Výsledky statistického srovnání hodnot vzorků mezi srncem obecným a jelenem lesním z pěti okresů a studované oblasti jako celku (kombinované vzorky z pěti okresů) pro proměnné: věk (v letech), obsah fluoridů v kostní tkáni (mg/kg) a index zubního poškození (DLI). Rané období: chovatelské přehlídky trofejí 1996/1997, pozdní období: chovatelské přehlídky trofejí 2009. Statisticky významné hodnoty jsou uvedeny tučně.

Okres	Období	Hodnota P		
		Věk	Obsah fluoridů v kostní tkáni (mg/kg)	DLI
Karlovy Vary	Rané	0.59	0.00064	0.08
	Pozdní	0.85	0.0077	0.61
Chomutov	Rané	0.0068	<0.000001	0.00085
	Pozdní	0.59	0.21	0.89
Most	Rané	0.20	<0.000001	0.0056
	Pozdní	0.015	0,83	0.47
Teplice	Rané	0.42	<0.000001	0.016
	Pozdní	0.0042	0.034	0.015
Ústí n. Labem	Rané	0.89	<0.000001	0.0021
	Pozdní	0.0020	0.09	0.69
Celek pěti Okresů	Rané	0.016	<0.000001	<0.000001
	Pozdní	0.000017	0.17	0.06

U jedinců jelena lesního postižených fluorózou a bez fluorózy nebyly v pozdním období zjištěny žádné významné rozdíly ve věku. U srnce obecného nebyly zjištěny žádné významné rozdíly ve věku ani v jednom ze sledovaných období. Jedinci jelena lesního z raného období, kteří nebyli postiženi fluorózou, byli významně mladší, než jedinci nemocní z téhož období (tab. 10).

U srnce obecného z raného období s fluorózou a bez fluorózy se neobjevily žádné významné rozdíly v obsahu fluoridů v kostní tkáni. Oproti tomu jelen lesní z téhož období postižený fluorózou vykazoval významně vyšší koncentrace fluoridů v kostní tkáni, stejně jako srnec obecný a jelen lesní postižení fluorózou v pozdním období oproti jedincům zdravým (tab. 11).

Tab. 10. Věk (v letech) srnce obecného a jelena lesního se zubní fluorózou i bez zubní fluorózy (DF) z raného (chovatelské přehlídky trofejí 1996/1997) a pozdního (chovatelské přehlídky trofejí 2009) období. Statisticky významné hodnoty jsou uvedeny tučně.

Období	Druh	DF (n)	Věk (v letech)			
			Median	Průměr	Min-Max	Hodnota P
Rané	Srnc obecný	Ano (146)	4.0	4.1	1-9	0.036
		Ne (11)	3.0	3.1	2-5	
	Jelen lesní	Ano (111)	4.0	5.1	3-12	0.00005
		Ne (16)	3.0	3.1	3-5	
Pozdní	Srnc obecný	Ano (14)	4.5	4.8	3-9	0.08
		Ne (103)	4.0	4.0	2-10	
	Jelen lesní	Ano (20)	5.0	5.9	4-14	0.15
		Ne (52)	4.5	5.0	3-13	

Tab. 11. Obsah fluoridů v kostní tkáni (mg/kg) srnce obecného a jelena lesního se zubní fluorózou i bez zubní fluorózy (DF) z raného (chovatelské přehlídky trofejí 1996/1997) a pozdního (chovatelské přehlídky trofejí 2009) období. Statisticky významné hodnoty jsou uvedeny tučně.

Období	Druh	DF (n)	Obsah fluoridů v kostní tkáni (mg/kg)			
			Median	Průměr	Min-Max	Hodnota P
Rané	Srnc obecný	Ano (146)	3192	3059	704-5477	0.25
		Ne (11)	2864	2643	636-4742	
	Jelen lesní	Ano (111)	1356	1363	328-3088	0.00007
		Ne (16)	946	955	542-1396	
Pozdní	Srnc obecný	Ano (14)	1389	1720	367-3769	<0.000001
		Ne (103)	329	436	83-1674	
	Jelen lesní	Ano (20)	958	954	141-2140	<0.000001
		Ne (52)	266	277	102-569	

Tab. 12. Průměrné hodnoty zubní fluorózy (vyjádřeno stupněm DLI) v raném (chovatelské přehlídce trofejí 1996/97) a pozdním (chovatelské přehlídce trofejí 2009) období.

	Srnec obecný			Jelen lesní	
Období	rané	pozdní		rané	pozdní
(n)	146	14		111	20
DLI (průměr)	14	5,0		9,0	9,0

5. Závěr

Pro stanovení míry znečištění fluoridy v oblasti severozápadních Čech byl jako bioindikátor zvolen volně žijící srnec obecný (*Capreolus capreolus*) a jelen lesní (*Cervus elaphus*). U obou druhů byly porovnány koncentrace fluoridů v kostní tkáni a výskyt a závažnost zubní fluorózy na spodních čelistech získaných z pěti okresů v severozápadní části České republiky. Čelisti byly shromážděny myslivci pro účel prezentace na chovatelských přehlídkách trofejí v letech 1996/1997 ("rané období") a 2009 ("pozdní období").

U srnce obecného ((n = 157), medián: 3150mg F⁻/kg sušiny kostní tkáně) i jelena lesního((n = 127), medián: 1270 mg F⁻/kg sušiny kostní tkáně) byly prokázány vyšší koncentrace fluoridů v kostní tkáni v raném období ve všech sledovaných okresech (Karlovy Vary, Chomutov, Most, Teplice, Ústí nad Labem). Naopak v pozdním období byl zaznamenán významný pokles koncentrace fluoridů v kostní tkáni u srnce obecného ((n = 117), medián: 350mg F⁻/kg sušiny kostní tkáně) i jelena lesního ((n = 72), medián: 288mg F⁻/kg sušiny kostní tkáně). V pozdním období došlo také k významnému poklesu výskytu zubní fluorózy (srnec obecný: z 93 % na 12 %; jelen lesní: z 87 % na 28 %). Vzhledem k výše uvedeným výsledkům můžeme říci, že jedinci pocházející z raného období, byli vystaveni vysokým úrovním fluoridové expozice po celý svůj život.

V pozdním období se však projevil vliv emisí z ostatních zdrojů s méně efektivními protiemisními opatřeními nebo bez nich. Tyto další zdroje emisí fluoridů zahrnují různá odvětví, jako na příklad sklářský průmysl, ale také domácí spalování uhlí. To mělo za následek zvýšení fluoridové expozice v okrese Karlovy Vary a následný posun v žebříčku okresů mezi oběma obdobími s ohledem na hodnoty obsahu fluoridů v kostní tkáni u srnce obecného. Zatímco v raném období byl obsah fluoridů v kostní tkáni u srnce obecného pocházejícího z oblasti Karlových Varů významně nižší než v okresech Chomutov, Most, Teplice a Ústí nad Labem, naopak v pozdním období vykazovali nejvyšší medián a maximální obsah fluoridů v kostní tkáni jedinci srnce obecného pocházející právě z okresu Karlovy Vary.

V obou obdobích a ve všech okresech byli jedinci srnce obecného vystaveni vyšším fluoridovým expozicím než jelen lesní, neboť srnec obecný preferuje menší teritoria, která se často nacházejí v oblastech poblíž emisních zdrojů, čímž se vystavuje vyšším fluoridovým expozicím. To vysvětluje fakt, proč bylo i v pozdním

období zjištěno několik jedinců, u kterých byly zaznamenány vysoké koncentrace fluoridů v kostní tkáni.

Realizace zařízení pro regulaci emisí v hnědouhelných elektrárnách v první polovině devadesátých let minulého století měla pozitivní vliv na životní prostředí v okresech Karlovy Vary, Chomutov, Most, Teplice a Ústí nad Labem. Došlo k poklesu fluoridové depozice ve studované oblasti a v důsledku toho, také ke snížení fluoridové expozice sledované zvěře. Zjištění této biomonitorovací studie o prostorové a časové variabilitě hladin fluoridů v životním prostředí se navzájem doplňují s výsledky získanými přímým měřením fluoridové depozice, což podtrhuje hodnotu spárkaté zvěře jako bioindikátorů fluoridového znečištění. Vzhledem k velkému počtu, poměrně malému rozsahu teritoria a zejména k širokému rozšíření, a to i v oblastech silně modifikovaných lidskou činností, je pro tento účel výzkumu zvláště vhodný srnec obecný.

Vzhledem k tomu, že lebky zvěře jako lovecké trofeje jsou pravidelně shromažďovány na chovatelských přehlídkách trofejí lovci v mnoha zemích, nabízí se možnost rozsáhlého, nákladově efektivního a spolehlivého sledování stavu fluoridového znečištění v oblastech obývaných spárkatou zvěří (Kierdorf a kol, 1999; Zemek a kol., 2006).

Uvedené výsledky byly publikovány v: Kierdorf U, Bahelková P, Sedláček F, Kierdorf H. Pronounced reduction of fluoride exposure in free-ranging deer in North Bohemia (Czech Republic) as indicated by the biomarkers skeletal fluoride content and dental fluorosis. *Sci Total Environ* 2012;414:686-95. ISSN 0048-9697.

6. Použitá literatura

Abraham J, Berger F, Ciechanowicz-Kusztal R, Jedłowska-Opyd G, Kallweit D, Keder J, Kulazska W, Novák J, Druke M. Common report on air quality in the black triangle region. Praha: ČHMÚ, WIOŚ, LfUG, UBA; 2001. 127 s. CDR-1098.277.

Andersen R, Duncan P, Linnell JDC. The European roe deer: the biology of success. Oslo: Scandinavian University Press; 1998. 376 s.

Arnou PM, Bland LA, Garcia-Houchins S, Fridkin S, Fellner SK . An outbreak of fatal fluoride intoxication in a long-term hemodialysis unit. *Annu Intern. Med.* 1994; 121: 339–44.

Baelum V. Pattern of periodontal breakdown in adult Tanzanians. *Scand. J Dent. Res.* 1987; 95(3): 221-28. ISSN 0029-845X.

Bigay J, Deterre P, Pfister C, Chabre M. Fluoride complexes of aluminium or beryllium act on G-proteins as reversibly bound analogues of the gamma phosphate of GTP. *EMBO J.* 1987; 6: 2907–13. ISSN 0261-4189

Black G V. (1916). Mottled teeth: an endemic developmental imperfection of the enamel of the teeth heretofore unknown in the literature of dentistry. In: Kierdorf U, Bahelková P, Sedláček F, Kierdorf H. Pronounced reduction of fluoride exposure in free-ranging deer in North Bohemia (Czech Republic) as indicated by the biomarkers skeletal fluoride content and dental fluorosis. *Sci Total Environ* 2012;414:686-95. ISSN 0048-9697.

Bronckers ALJJ, Lyaruu DM, DenBesten PK. The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanism of enamel fluorosis. *J Dent Res* 2009; 88: 877–93.

Bryson Ch. The fluoride deception. Seven Stories Press USA 2004: 327 s. ISBN 1-58322-526-9.

Buzalaf MAR, Whitford GM. Fluoridemetabolism. In: Buzalaf MAR, editor. Fluoride and the oral environment. Monographs in oral science. 2011; 22:20–36. ISSN 1662-3843

Carter FW. Czechoslovakia. In: Carter FW, Turnock D, editors. Environmental problems in Eastern Europe. London: Routledge; 1993. s. 63–88. ISBN 0415062292.

Cronin SJ, Manoharan V, Hedley MJ, Loganathan P. Fluoride: a review of its fate, bioavailability, and risk of fluorosis in grazed-pasture systems in New Zealand. *New Zeal J Agr Res* 2000; 43: 295–321. ISSN: 0028-8233.

Czerwinski E, Lankosz W.: Fluoride-induced changes in 60 retired aluminium workers. *Fluoride* 1977; 10: 125–136. ISSN 0015-4725.

Červený J. *Encyklopedie myslivosti*, Ottovo nakladatelství, Praha 2003; 591 s. ISBN 80-7181-901-8

ČEZ (České energetické závody). Uhelne elektrárny v ČR. <http://www.cez.cz/cs/vyroba-elektřiny/uhelne-elektřarany/cr.html> 2011. (poslední aktualizace 6. června 2011, staženo dne 12. listopadu 2011).

ČSÚ (Český statistický úřad). Okres Sokolov. Krajská správa ČSÚ v Karlových Varech. http://www.czso.cz/xk/redakce.nsf/i/okres_sokolov 2012 (poslední aktualizace 9. ledna 2012, staženo dne 3. června 2012).

Dean HT. (1934) Classification of mottled enamel diagnosis. In: Pereira AC, Womeira BHW. Analysis of Three Dental Fluorosis Indexes Used in Epidemiologic Trials. *Braz Dent J* 1999; 10(1): 1-60. ISSN 0103-6440.

Dean HT. (1936). Chronic endemic dental fluorosis (mottled enamel). In: Kierdorf U, Bahelková P, Sedláček F, Kierdorf H. Pronounced reduction of fluoride exposure in free-ranging deer in North Bohemia (Czech Republic) as indicated by the biomarkers skeletal fluoride content and dental fluorosis. *Sci Total Environ* 2012;414:686-95. ISSN 0048-9697.

Dean HT, Arnold FA. (1943). Endemic dental fluorosis or mottled teeth. In: Pereira AC, Womeira BHW. Analysis of Three Dental Fluorosis Indexes Used in Epidemiologic Trials. *Braz Dent J* 1999; 10(1): 1-60. ISSN 0103-6440.

DenBesten P, Li W. Chronic fluoride toxicity: dental fluorosis. In: BuzalafMAR, editor. Fluoride and the oral environment. Monographs in oral science. Basel: Karger; 2011; 22: 81–96. ISSN 1662-3843

Ekstrand J. Fluoride metabolism. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA, editors. Fluoride in dentistry. Second ed. Copenhagen: Munksgaard; 1996. p. 55-68.

Environment Canada. Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life: inorganic fluorides. Scientific supporting document. Ecosystem Health: Science-based solutions report No. 1-1. Ottawa: National Guidelines and Standards Office, Environmental Quality Branch, Environment Canada; 2001. 95 s. ISBN 1-896997-34-1.

Fejerskov O, Thylstrup A, Joost Larsen M. Clinical and structural features and possible pathogenic mechanisms of dental fluorosis. *Scand J Dent Res* 1977;85:510-34. ISSN 0029- 845X.

Fejerskov O, Manji F, Baelum V, Møller IJ. Dental fluorosis - a handbook for health workers. Copenhagen: Munksgaard; 1988. 123 s. ISBN 8716067401

Fejerskov O, Manji F, Baelum V: The nature and mechanism of dental fluorosis in man. *J Dent Res* 1990; 69: 692-700.

Fejerskov O, Richards A, DenBesten P. The effect of fluoride on tooth mineralization. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA, editors. *Fluoride in dentistry*. Second ed. Copenhagen: Munksgaard; 1996. p. 112-52.

Fiala J, Ostatnická J, editors. Air pollution in the Czech Republic in 1996. Praha: ČHMÚ 1997. 150 s. Dostupné na:

<http://old.chmi.cz/uoco/isko/groc/gr96cz/groc96.html>

Forst P, Jiráček J, Brož V, Kučera V, Kováč J, Nováková E, Wurzinger H, Lankaš K, Zelený L a kol. *Myslivost*. Státní zemědělské nakladatelství 1975, 459 s.

Galetti PM, Joyet G. Effect of Fluorine On Thyroidal Iodine Metabolism in Hyperthyroidism. *J. Clin. Endocrinol.* 1958; 18: 1102-1110. ISSN: 1365-2265

Garrott RA, Eberhardt LL, Otton JK, White PJ, Chaffee MA. A geochemical trophic cascade in Yellowstone's geothermal environments. *Ecosystems* 2002;5:659-66. ISSN 1435-0629

Gorlitzer von Mundy: Einfluss von Fluor und Jod auf den Stoffwechsel, insbesondere auf die Schilddrüse. *Münch. Med. Wochenschrift* 1963; 105: 234-247. ISSN 0027-2973

Greenwood NN, Earnshaw A. Chemistry of the elements. Second ed. Oxford: Butterworth- Heinemann; 1997. 1341 s. ISBN 9780750633659

Habermehl KH. Altersbestimmung bei Wild- und Pelztieren. Second ed. Hamburg: Parey; 1985. 223 s. ISBN-10: 3-490-06812-2

Hell P, Stanovský M, Žilinec M. Dentalfluorose des Rehwildes in der Region einer slowakischen Aluminiumfabrik. Z Jagdwiss 1995;41:117-25. ISSN: 0044-2887

Hewison AJM, Vincent JP, Angibault JM, Delorme D, Vane Laere G, Gaillard JM. Tests of estimation of age from tooth wear on roe deer of known age: variation within and among populations. Can J Zool 1999;77:58–67. ISSN 1480-3283.

Horák Z, Číhal V, Kalabisová E. Korozní problematika při odsíření spalin v tepelných elektrárnách. Korozie a ochrana materiálu 2005;49(1):13-20. Dostupné na http://www.vscht.cz/met/aki/kom_49/49_13_20.pdf

Hubková V. K úloze fluoridů v prevenci zubního kazu. Pediatr. praxi, 2001; 4: 180-182. ISSN - 1803-5264

Chabre M. Aluminofluoride and beryllifluoride complexes: New phosphate analogs in enzymology. Trends Biochem Sci 1990; 15(1): 6-10 15. ISSN: 0376-5067.

Ismail AI, Shoveller J, Langille D, MacInnis WA, McNally M. Should to drinking water of Truro, Nova Scotia, be fluoridated? Water fluoridation in the 1990s. Community Dent Oral Epidemiol 1993; 21:118-25. ISSN 1600-0528.

Jackson RD, Kelly SA, Katz B, Brizendine E, Stookey GK. Dental fluorosis in children residing in communities with different water fluoride levels: 33-month follow-up. Pediatr Dent 1999; 21(4): 248-54. ISSN 0164-1263

Jánský L, Novotný I. Fyziologie živočichů a člověka. Praha: Avicenum 1981; 383 s.

Jelenko I, Pokorny B. Historical biomonitoring of fluoride pollution by determining fluoride contents in roe deer (*Capreolus capreolus* L.) antlers and mandibles in the vicinity of the largest Slovene thermal power plant. Sci Total Environ 2010;409:430-8. ISSN 0048- 9697

Jenkins GN. The metabolism and effects of fluorine. In: Priest ND, Van de Vyver FL, editors. Trace metals and fluorine in bones and teeth. Boca Raton: CRC Press; 1990. s. 141-73.

Jenkins GN. Fluoride intake and its safety among heavy tea drinkers in a British fluoridated city. Proc. Finn. Dent. Soc. 87(4), 1991; 571-79. ISSN 0355-4651

Kaplan LA, Pesce AJ, Kazmierczak SC. Clinical chemistry: theory, analysis, correlations. St. Louis, MO: Mosby, 2003. 1179 s. ISBN 0- 8151-5243-4.

Karstad L. Fluorosis in deer (*Odocoileus virginianus*). Bull Wildl Dis Assoc 1967;3:42-6. ISSN: 0090-3558

Kay CE. Fluoride distribution in different segments of the femur, metacarpus and mandible of mule deer. Fluoride 1975;8:92-7. ISSN 0015-4725

Kay E, Tourangeau PC, Gordon CC. Industrial fluorosis in wild mule and whitetail deer from western Montana. Fluoride 1975;8:182-91. ISSN 0015-4725

Kay E, Tourangeau PC, Gordon CC. Populational variation of fluoride parameters in wild ungulates from the western United States. Fluoride 1976;9:73-90. ISSN 0015-4725

Kierdorf U. Untersuchungen zum Nachweis immissionsbedingter chronischer Fluoridintoxikation beim Reh (*Capreolus capreolus* L.). Z Jagdwiss 1988;34:192-204. ISSN 0044-2887

Kierdorf U, Kierdorf H. A scanning electron microscopic study on surface lesions in fluorosed enamel of roe deer (*Capreolus capreolus* L.). Vet Pathol 1989;26:209-15. ISSN 1544-2217

Kierdorf U, Richards A, Sedláček F, Kierdorf H. Fluoride Content and Mineralization of Red Deer (*Cervus elaphus*) Antlers and Pedicles from Fluoride Polluted and Uncontaminated Regions. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1997; 32: 222-227. ISSN 0090-4341.

Kierdorf H, Kierdorf U. Disturbances of the secretory stage of amelogenesis in fluorosed deer teeth: a scanning electron-microscopic study. Cell Tissue Res 1997;289:125-35. ISSN 1432-0878.

Kierdorf H, Kierdorf U. Reduction of fluoride deposition in the vicinity of a brown coal-fired power plant as indicated by bone fluoride concentrations of roe deer (*Capreolus capreolus*). Bull Environ Contam Toxicol 1999a;63:473–7. ISSN 1432-0800.

Kierdorf U, Kierdorf H. Dental fluorosis in wild deer: its use as a biomarker of increased fluoride exposure. Environ Monit Assess 1999b;57:265–75. ISSN 1573-2959.

Kierdorf U, Kierdorf H. Temporal and geographical variation in skeletal fluoride content of roe deer (*Capreolus capreolus*) from industrialized areas in Germany. Comp Biochem Physiol C 2000a;126:61–8. ISSN: 0742-8413

Kierdorf U, Kierdorf H. The fluoride content of antlers as an indicator of fluoride exposure in red deer (*Cervus elaphus*): a historical biomonitoring study. Arch Environ Contam Toxicol 2000b;38:121–7. ISSN 1432-0703.

Kierdorf U, Kierdorf H. Assessing regional variation of environmental fluoride concentrations in western Germany by analysis of antler fluoride content in roe deer (*Capreolus capreolus*). Arch Environ Contam Toxicol 2002;42:99-104. ISSN 1432-0703.

Kierdorf U, Kierdorf H. Antlers as biomonitors of environmental pollution by lead and fluoride: a review. Eur J Wildl Res 2005;51:137–50. ISSN 1439-0574.

Kierdorf U, Kierdorf H, Erdelen M, Korsch JP. Mandibular fluoride concentration and its relation to age in roe deer (*Capreolus capreolus* L.). Comp Biochem Physiol A 1989;94: 783–5. ISSN 1095-6433

Kierdorf U, Kierdorf H, Fejerskov O. Fluoride-induced developmental changes in enamel and dentine of European roe deer (*Capreolus capreolus* L.) as a result of environmental pollution. Arch Oral Biol 1993;38:1071–81. ISSN 0003-9969.

Kierdorf U, Kierdorf H, Erdelen M, Machoy Z. Mandibular bone fluoride accumulation in wild red deer (*Cervus elaphus* L.) of known age. Comp Biochem Physiol A 1995;110: 299–302. ISSN 1095-6433

Kierdorf H, Kierdorf U, Sedláček F, Erdelen M. Mandibular bone fluoride levels and occurrence of fluoride induced dental lesions in populations of wild red deer (*Cervus elaphus*) from Central Europe. J Environ Pollut 1996a;93:75–81. ISSN 1741-5101

Kierdorf U, Kierdorf H, Sedláček F, Fejerskov O. Structural changes in fluorosed dental enamel of red deer (*Cervus elaphus* L.) from a region with severe environmental pollution by fluorides. J Anat 1996b;188:183–95. ISSN: 1469-7580

Kierdorf H, Kierdorf U, Boyde A. A quantitative backscattered electron imaging study of hypomineralization and hypoplasia in fluorosed dental enamel of deer. Ann Anat 1997;179:405–12. ISSN: 0940-9602

Kierdorf H, Kierdorf U, Sedláček F. Monitoring regional fluoride pollution in the Saxonian oremountains (Germany) using the biomarker dental fluorosis in roe deer (*Capreolus capreolus* L.). Sci Total Environ 1999; 232: 159–68. ISSN: 0048-9697

Kierdorf H, Kierdorf U, Richards A, Josephsen K. Fluoride-induced alterations of enamel structure: an experimental study in the miniature pig. Anat Embryol 2004; 207: 463–74. ISSN 1432-0568.

Kilián J. Základy preventivní stomatologie. Praha: Karolinum, 1996; s. 14–16, 33–41, 43–60, 63–74, 79–88, 141–142.

Kotěšovec F. Zpráva o stavu životního prostředí a jeho vlivu na populaci v okrese Teplice. Ecoforum, Teplice; 1990; 135 s..

Krejsa O, Broukal Z, Mrklas L. Orální zdraví dětí ve věku 5, 12 a 15 let v České republice 1998. Čes Stomat 2001; 101(2): 43–50. ISSN: 1213-0613.

Lalumandier JA, Rozier GR: The prevalence and risk factors of fluorosis among patients in a pediatric dental practice. Pediatr Dent 1995; 19:19-25. ISSN 0164-1263.

Luke J. Fluoride deposition in the aged human pineal gland. Caries Res 2001; 35: 125-28. ISSN 1421-976X

Manji F, Baelum V, Fejerskov O, Gemert W: Enamel changes in two low-fluoride areas of Kenya. Caries Res 1986; 20:371-80. ISSN 1421-976X.

Machoy Z, Dabkowska E, Nowicka W. Increased fluoride content in mandibular bones of deer living in industrialised regions of Poland. *Environ Geochem Health* 1991;13:161–3. ISSN 1573-2983

Machoy Z, Dabkowska E, Samujło D, Ogoński T, Raczyński Z, Gębczynska Z. Relationship between fluoride content in bone and the age in European elk (*Alces alce* L.). *Comp Biochem Physiol C* 1995;111:117–20. ISSN: 1532-0456

McClure FJ: A review of fluorine and its physiological effects. *Physiol Rev* 1933; 13: 277– 300. ISSN 1522-1210.

McKay FS. (1916). An investigation of mottled teeth: an endemic developmental imperfection of the teeth, heretofore unknown in the literature of dentistry. In: Kierdorf U, Bahelková P, Sedláček F, Kierdorf H. Pronounced reduction of fluoride exposure in free-ranging deer in North Bohemia (Czech Republic) as indicated by the biomarkers skeletal fluoride content and dental fluorosis. *Sci Total Environ* 2012;414:686-95. ISSN 0048-9697.

Merglová V. Prevence vzniku zubního kazu u dětí. *Pediatr. praxi*, 2004; 2: 62-5. ISSN 1803-5264

Moldan B. Životní prostředí České republiky: vývoj a stav do konce roku 1989. Praha: Academia, 1990. 281 s. ISBN 80-200-0292-8.

Mullenix PJ, Denbesten PK, Schunior A, Kernan, WJ. Neurotoxicity of sodium fluoride in rats. *Neurotoxicol Teratol.* 1995; 17(6): 169–77. ISSN: 0892-0362

Mužík R. Koncentrace fluoridů v kostní tkáni srnce obecného a jelena evropského v SZ Čechách. *Bakalářská práce*; 1996; 14 s.

Nabrzyski M, Gajewska R.: Aluminium and fluoride in hospital daily diets and in teas. *Z. Lebensm. Unters. Forsch* 1995; 201(4): 307–10. ISSN 0044-3026

Nanci A. Ten Cate's oral histology: development, structure, and function. Seventh ed. St. Louis: Mosby Elsevier; 2008. 411 s. ISBN-13: 978-0323045575

Newbrun E. The Fluoridation War: a Scientific Dispute or a Religious Argument? *J Public Health Dent.* 1996; 56: 246-52.

Newman JR, Yu MH. Fluorosis in black-tailed deer. *J Wildl Dis* 1976; 12:39–41. ISSN 0090-3558

Ostatnická J, editor. Air pollution in the Czech Republic in 2008. Praha: ČHMÚ 2009; 248 s. Dostupné na: <http://old.chmi.cz/uoco/isko/groc/gr08cz/autor.html>.

Ozsvath DL. Fluoride and environmental health: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol* 2009; 8: 59–79. ISSN 1572-9826.

Pessan JP, Buzalaf MAR. Historical and recent biological markers of exposure to fluoride. In: Buzalaf MAR, editor. Fluoride and the oral environment. Monographs in oral science, vol. 22. Basel: Karger; 2011. p. 52–65.

Rapaport, I. Nouvelles recherches sur le mongolisme. A propos du role pathogénique du fluor. *Bull Acad Nat Med* 1959;143:367–70. ISSN 0001-4079.

Renner E. The black triangle area: fit for Europe? Numerical air quality studies for the black triangle area. *Ambio* 2002;31:231–5. ISSN: 00447447.

Rey C, Combes C, Drouet C, Sfihi H. Fluoride-based bioceramics. In: Tressaud A, Haufe G, editors. Fluorine and health: molecular imaging, biomedical materials and pharmaceuticals. Amsterdam: Elsevier; 2008. 816 s. ISBN 044453086X

Richards A, Fejerskov O, Baelum V, Likimani S: Enamel fluoride in unerupted fluorotic human teeth. *Caries Res* 23:103, 1989a. ISSN: 1421-976X.

Richards A, Fejerskov O, Baelum V: Enamel fluoride in relation to severity of human dental fluorosis. *Adv Dent Res* 3:147-53, 1989b. ISSN: 1544-0737

Richter H, Kierdorf U, Richards A, Kierdorf H. Dentin abnormalities in cheek teeth of wild red deer and roe deer from a fluoride-polluted area in Central Europe. *Ann Anat* 2010;192:86–95. ISSN: 0940-9602

Robinson C, Kirkham J, Weatherell JA. Fluoride in teeth and bone. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA, editors. Fluoride in dentistry. Second ed. Copenhagen: Munksgaard; 1996; 69–87.

Roholm K. Fluorine Intoxication. H. K. Lewis & Co. LTD. 136, Gower Street London 1937; 248 s.

Samujlo D, Machoy-Mokrzynska A, Dabkowska E, Nowicka W, Paterkowski W. Fluoride accumulation in European deer antlers. *Environ Sci.* 1994; 2:189–194. ISSN 1093-4529.

Sedláček F., Valach R., Sedláček F. (st.). Vývoj hladiny fluoru u jelena evropského (*Cervus elaphus*) v západní části Krušných hor. Abstrakta referátů VIII. Sjezdu Čs. zoologů, Brno; 1991; 22 s.

Sedláček F, Zemek F, Heřman M, Kierdorf H, Kierdorf U. Fluoride Loads on Ecosystems in Western Part of Krušné Hory mts Determined by Bioindication. *Ekológia.* Bratislava; 2001;20:70–9.

Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC. Modern Nutrition in Health and Disease. F. H. Nielsen: Ultratrace Minerals. 9th edition, Williams & Wilkins; 1999; s.284-303. ISBN 9780781741330

Shupe JL, Olson AE. Clinical and pathological aspects of fluoride toxicosis in animals. In: Shupe JL, Peterson HB, Leone NC, editors. Fluorides - effects on vegetation, animals and humans. Salt Lake City: Paragon Press; 1983; s. 319–38.

Shupe JL, Olson AE, Peterson HB, Low JB. Fluoride toxicosis in wild ungulates. *J Am Vet Med Assoc* 1984; 185: 1295–300. ISSN: 0003-1488

Schuld A. Green Tea, Fluoride & the Thyroid. PFPC, Vancouver, BC, Canada 1999.

Schultz M, Kierdorf U, Sedláček F, Kierdorf H. Pathological bone changes in the mandibles of wild red deer (*Cervus elaphus* L.) exposed to high environmental levels of fluoride. *J Anat* 1998;193:431–42. ISSN 1469-7580

Smolíková D. Doly versus obce. Sedmá generace 2004; 2. ISSN 1212-0499. Dostupné na: <http://www.sedmagerace.cz/text/detail/doly-versus-obce>

Spittle B. Psychopharmacology of fluoride. A review *Int Clin Psychopharmacol J.* 1994; 9: 79–82. ISSN 1533712X

Spittle, B.: Changing one's mind: An examination of evidence from both sides of the fluoridation debate. *Fluoride* 1998; 4: s. 235–244. ISSN 0015-4725

Státní zdravotní ústav Praha. Manuál prevence v lékařské praxi: Zdravotní kritéria pro fluoridy a fluorózu. Praha: Fortuna, 1998; 20 s. ISBN: 80-7071-089-6

Strunecká A, Patočka J. Pharmacological and toxicological effects of aluminofluoride complexes. *Fluoride* 1999a; 32: 230–42. ISSN 0015-4725

Strunecká, A., Patočka, J.: Přehodnocení účasti hliníku na vzniku Alzheimerovy nemoci. *Čs. fyziol.* 1999b; 48(1): 9–15. ISSN 1210-6313.

Strunecká A, Patočka J. Nové poznatky o toxických účincích fluoru a hliníku. *Interní med.* 2001; 5: 205-8. ISSN 1803-5256

Strunecká A, Patočka J. Aluminofluoride Complexes in the Etiology of Alzheimer's disease. *Group 13 Chemistry II Structure & Bonding*, Springer-Verlag, Germany 2002;104:139-180. ISSN 0081-5993.

Strunecká A, Patočka J. Connett P: Fluorine in medicine. *J Appl Biomed* 2004; 141–50. ISSN 1214-0287.

Strunecká A, Patočka J. Fluoridová suplementace: úspěch medicíny 20. století nebo nebezpečný podvod? *Dental Care* 2010; 2:10-14. ISSN 1801-0385.

Suttie JW, Hamilton RJ, Clay AC, Tobin ML, Moore WG. Effects of fluoride ingestion on white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *J Wildl Dis* 1985;21:283–8. ISSN 0090-3558.

Suttie JS, Dickie R, Clay AB, Nielsen P, Mahan WE, Baumann DP, Hamilton RJ. Effects of fluoride emissions from a modern primary aluminum smelter on a local population of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *J Wildl Dis* 1987; 23:135–43. ISSN: 0090- 3558

Szpunar SM, Burt BA: Dental caries, fluorosis, and fluoride exposure in Michigan schoolchildren. *J Dent Res* 67:802-6, 1988. In: Mascarenhas A. K. Risk factors for dental fluorosis: A review of the recent literature. *Pediatr Dent* 2000; 22: 269-77. ISSN: 0164- 1263.

Thylstrup A, Fejerskov O. Clinical appearance of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histological changes. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1978; 6:315-28. ISSN: 1600- 0528.

Turner CH, Boivin G, Meunier PJ. A mathematical model for fluoride uptake by the skeleton. *Calcif Tissue Int* 1993;52:130–8. ISSN 1432-0827.

UNICEF (The United Nations Children's Fund), Fluoride in water: An overview, UNICEF. Dostupné na: http://www.nofluoride.com/Unicef_fluor.cfm.

Valach R. Současná problematika fluoru v životním prostředí s hlavním zaměřením na otázku fluorování pitné vody (1. část). *Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica*. 1990; 20: 1-4. ISSN 1804-9613.

Varner JA, Jensen KF, Horvath WJ, Isaacson RL. Chronic administration of aluminum- fluoride or sodium-fluoride to rats in drinking water: alterations in neuronal and cerebrovascular integrity. *Brain Res*. 1998; 784(1-2): 284-98. ISSN 0006-8993.

Vikøren T, Stuve G. Fluoride exposure in cervids inhabiting areas adjacent to aluminum smelters in Norway. II. Fluorosis. *J Wildl Dis* 1996; 32:181–9. ISSN 0090-3558.

Vikøren T, Stuve G, Frøslie A. Fluoride exposure in cervids inhabiting areas adjacent to aluminum smelters in Norway. I. Residue levels. *J Wildl Dis* 1996;32:169–80. ISSN 0090- 3558.

Villa A, Anabolon M, Zohouri V, Maguirre A, Franco AA, Rugg-Gunn A. Relationship between fluoride intake, urinary fluoride excretion and fluoride retention in children and adults: an analysis of available data. *Caries Res* 2010; 44: 60–8. ISSN 1421-976X

Waldbott, G. L., Burgstahler, A., W., McKinney, H. L.: Fluoridation: the great dilemma. Coronado Press, Lawrence, Kansas 1978, 423 s. ISBN 0685937283.

Walton KC, Ackroyd S. Fluoride in mandibles and antlers of roe and red deer from different areas of England and Scotland. *Environ Pollut* 1988;54:17–27. ISSN: 0269-7491.

Weinstein LH, Davison AW. Fluorides in the environment. Oxon: CABI Publishing; 2004. 287 s. ISBN-10: 0851996833.

Whitford G. The metabolism and toxicity of fluoride. Second edition. *Monographs in oral science* 1996; 156 s. ISSN: 0077-0892

WHO. Expert Committee on Oral Health Status and Fluoride Use. World Health Organ Tech Rep Ser. 1994;846:1-37. ISSN 0512-3054

WHO. Fluorides. Environmental Health Criteria, 227. Geneva:World Health Organ Tech Rep Ser.2002. 268 s. ISSN 0512-3054

Zamrazil V, Čeřovská J. Jodový deficit a jeho důsledky. Interní med. 2000; 9: 410–15. ISSN 1803-5256

Zemek F, Heřman M, Kierdorf H, Kierdorf U, Sedláček F. Spatial distribution of dental fluorosis in roe deer (*Capreolus capreolus*) from North Bohemia (Czech Republic) and its relationship with environmental factors. Sci Total Environ 2006; 370: 491– 505. ISSN 0048-9697

Zentiva. Natrium fluoratum. Příloha č.3 k rozhodnutí o prodloužení registrace sp.zn. sukls141021/2008. Revize textu 2011.

7. Seznam publikací:

Kierdorf U, Bahelková P, Sedláček F, Kierdorf H. Pronounced reduction of fluoride exposure in free-ranging deer in North Bohemia (Czech Republic) as indicated by the biomarkers skeletal fluoride content and dental fluorosis. *Sci Total Environ* 2012;414:686-95. ISSN 0048-9697.

Ostatní publikace:

Mikulová M, Cempírková R, Bahelková P (2009). Závěrečná zpráva grantu FRVŠ 1576/2009 – Obsah volných mastných kyselin jako ukazatel lipolytické aktivity psychrotrofní mikroflóry v syrovém kravském mléce.

8. Přílohy

Univerzita v Hildesheimu, SRN



Prof. Dr. Uwe Kierdorf, od roku 2005 působí na univerzitě v Hildesheimu na katedře biologie. Hlavní výzkumné zájmy: ekotoxikologie zvěře, savčí osteologie a odontologie, antropologie, paleopatologie, ekologie netopýrů



Prof. Dr. Horst Kierdorf, od roku 1999 působí na univerzitě v Hildesheimu, od roku 2005 do roku 2007 byl děkanem univerzity a v současné době je členem senátu a správní rady univerzity v Hildesheimu.



Chemická laboratoř



Třídění spodních čelistí srnce obecného a jelena lesního



Přístroj na drcení kostí (MM 200, Retsch, Haan, Německo).



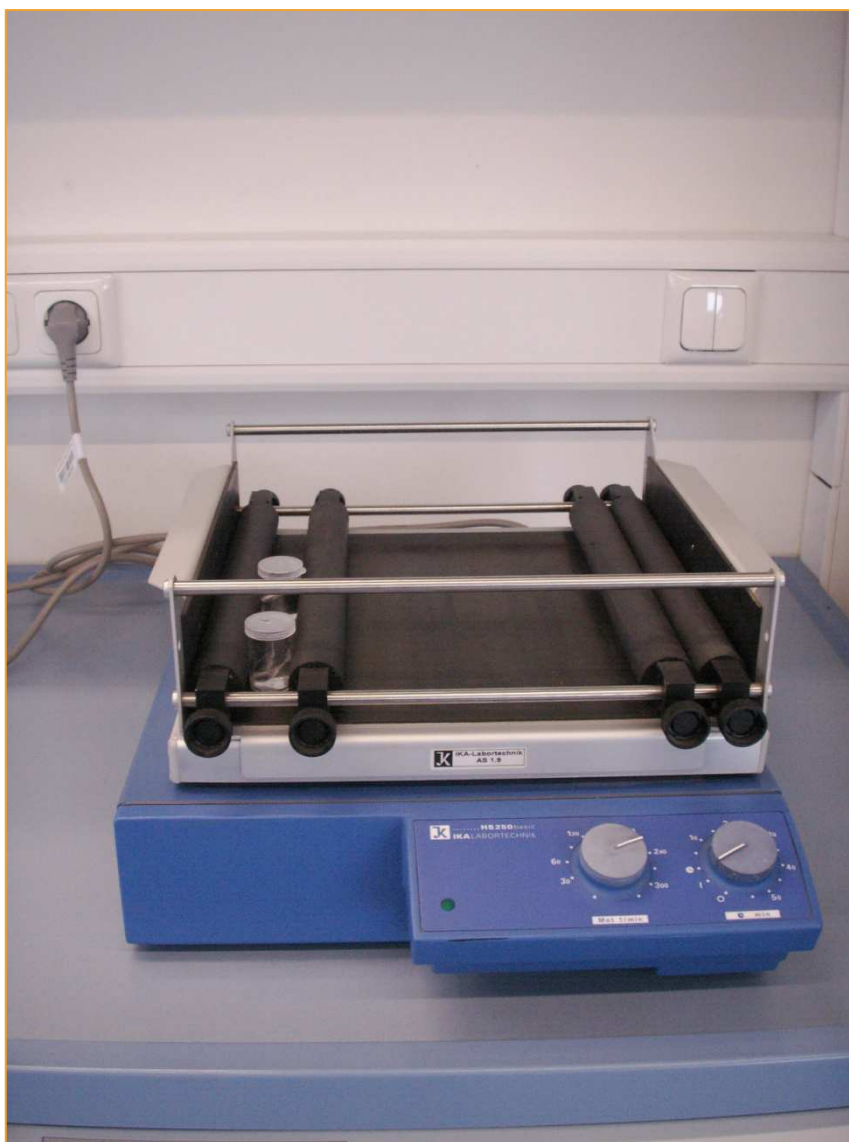
Třídění kostního prachu pro chemickou analýzu



Pipetování činidla (Orion TISAB II, Thermo Scientific, Beverly, MA, USA)



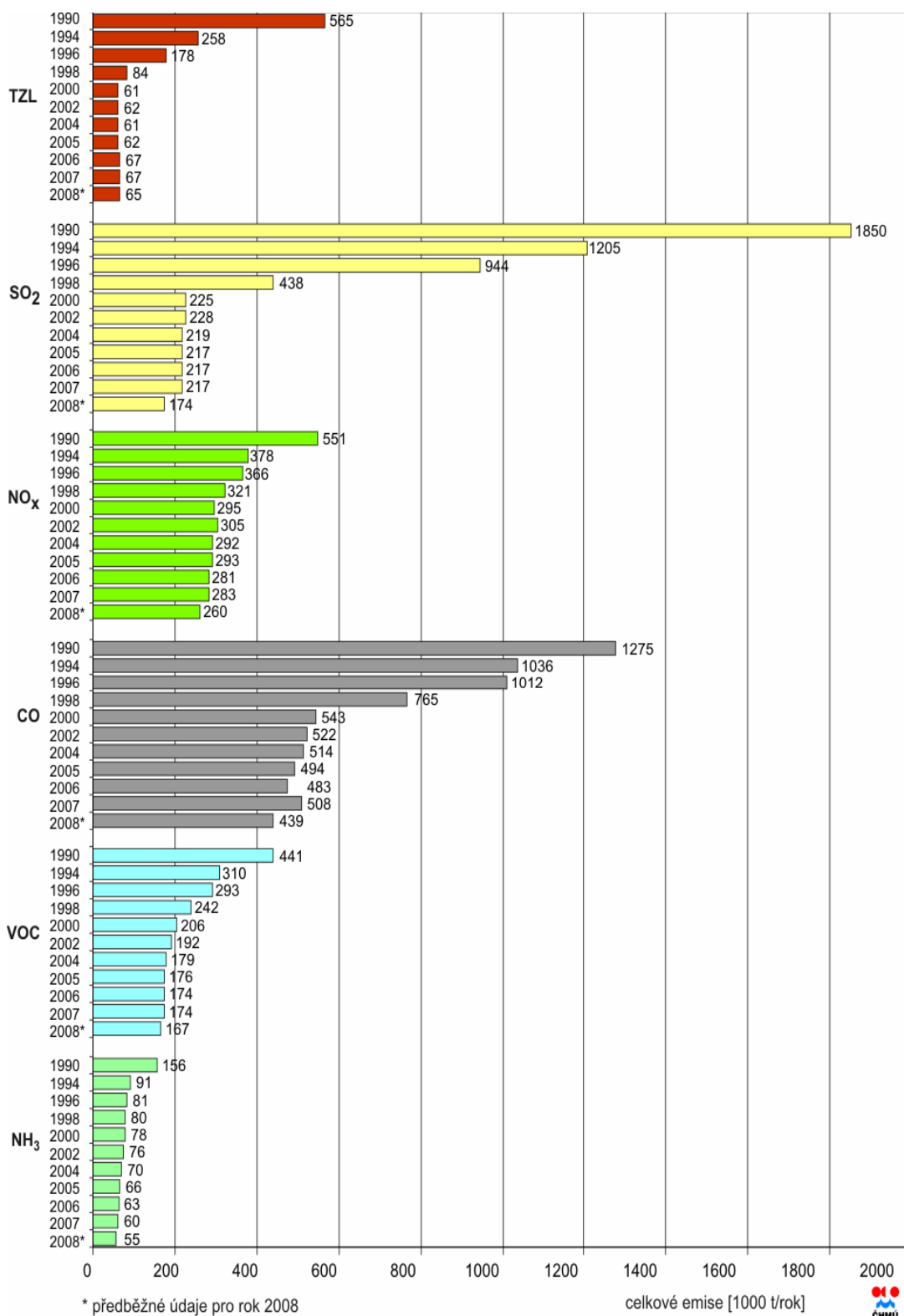
Laboratorní třepačka



Fluorid selektivní elektroda (Orion 9609)



**Celkové emise základních druhů látek znečišťujících ovzduší v České republice
1990-2008 (Ostatnická, 2009).**



Seznam zkratek

TZL – tuhé znečišťující látky

SO₂ – oxid siřičitý

NO_x – oxidy dusíku

CO – oxid uhelnatý

VOC – těkavé organické látky

NH₃ – amoniak