

# **Diplomová práce**

**2022**

**Lenka Šimicová**

**Západočeská univerzita v Plzni**  
**Fakulta filozofická**

**Diplomová práce**

**Metody balzamování a jejich využití v praxi**  
**Bc. Lenka Šimicová**

Plzeň 2022

**Západočeská univerzita v Plzni**

**Fakulta filozofická**

Katedra antropologie

**Studijní program Antropologie populací minulosti**

**Diplomová práce**

**Metody balzamování a jejich využití v praxi**

**Bc. Lenka Šimicová**

*Vedoucí práce:*

Mgr. Lukáš Friedl, Ph.D.

Katedra antropologie

Fakulta filozofická Západočeské univerzity v Plzni

*Konzultantka:*

MUDr. Lada Eberlová, Ph.D.

Ústav anatomie LF UK Plzeň

Plzeň 2022

Prohlašuji, že jsem práci zpracovala samostatně a použila jen uvedených pramenů a literatury.

Plzeň, duben 2022

.....

Mé poděkování patří v první řadě konzultantce MUDr. Ladě Eberlové, za uvedení do problematiky, rozšíření obzorů, trpělivé vedení a podporu daleko nad rámec povinnosti.

Za spolupráci a podporu, bez níž by tato práce nemohla vzniknout děkuji následujícím:

Biomedicínské centrum LF UK v Plzni:

- Klinika zobrazovacích metod - doc. MUDr. Hynek Mírka
- Laboratoř experimentální neurofyzologie: MUDr. Karel Ježek, Ph.D.

FN Plzeň Lochotín Ústav mikrobiologie

- MUDr. Lucie Nechutná

Ústav biochemie LF UK

- Mgr. Jana Dvořáková, Ph.D.
- laborantka Bc. Petra Frühaufová

## Obsah

1	ÚVOD .....	1
2	BALZAMOVÁNÍ.....	3
2.1	Přírodní balzamovací prostředky.....	3
2.2	Pojem balzamování, terminologie .....	4
2.3	Cíle balzamování.....	5
2.4	Balzamování – významové hledisko .....	6
2.5	Historie balzamování .....	8
2.6	Etika práce s mrtvým tělem .....	11
2.7	Vliv balzamování na životní prostředí.....	14
2.8	Význam balzamování ve výuce.....	16
2.9	Současné metody balzamování .....	18
2.10	Složení roztoků.....	18
2.11	Mechanismus fixace.....	20
3	Využití fixačních roztoků v muzejnictví.....	21
3.1	Plastinace .....	21
3.2	Zoologické a jiné preparáty .....	22
4	Formaldehydové metody .....	24
4.1	Vývoj formaldehydových metod .....	24
4.2	Vliv formaldehydu na zdraví .....	25
4.3	Metody bez formaldehydu .....	28
4.4	Thielův roztok .....	30
5	METODY A MATERIÁL.....	32

5.1	Výzkumné otázky .....	32
5.2	Sběr a analýza dat.....	32
5.3	Roztoky.....	33
5.4	Zvířata .....	34
5.5	Kontrola preparátů.....	36
5.6	Mikrobiologie .....	37
5.7	Elastografie.....	37
6	Výsledky .....	39
6.1	Výsledky pozorování .....	39
6.1.1	Roztok 001 .....	39
6.1.2	Roztok 002 .....	40
6.1.3	Roztoky 003 a 004 .....	41
6.1.4	Thielův roztok .....	43
6.2	Výsledky mikrobiologického vyšetření.....	44
6.3	Výsledky elastografie.....	47
7	Závěr .....	48
8	Seznam použité literatury a pramenů.....	2
8.1	Internetové zdroje.....	2
9	Resumé .....	8
10	Přílohy .....	9

# 1 ÚVOD

Tuto diplomovou práci věnuji metodám balzamování tkání a jejich využití v praxi, tedy především balzamování pro účely výuky na lékařských fakultách a balzamování pro zachování exponátů v muzejnictví.

Cílem mého výzkumu je porovnání komerčně dostupných fixativ se zaměřením na neformaldehydové metody. V současné době je v prostředí ČR totiž balzamování omezeno především na metody zahrnující využití formaldehydu, který je v mnoha ohledech nevhodný jak z praktického hlediska, například kvůli jeho nepříznivému vlivu na měkkost tkáně, tak z hlediska zdravotních rizik, prokazatelně vznikajících při dlouhodobém styku s touto substancí (Wei et al. 2007).

Ačkoliv je ve světě v současné době s úspěchem používáno několik fixačních roztoků, které nestojí striktně na konceptu fixace formaldehydem, v prostředí ČR nebyly doposud rozšířeny. Východiskem pro mou práci je předpoklad, že aktuální lpění na formaldehydové fixaci představuje zbytečné limitace v oblasti výuky a výzkumu, a to nejen v oboru medicíny, ale i v jiných odvětvích vědy, které by z modernizace balzamování mohly těžit.

Práce vznikala ve spolupráci s Ústavem anatomie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, konkrétně za podpory konzultantky MUDr. Lady Eberlové, z jejíž iniciativy vzešel prvotní impuls k pokusu o modernizace aktuálních metod balzamování u nás. Výzkum k této práci byl chápán jako první krok k potenciálnímu uvedení nových balzamovacích metod do praxe na Ústavu Anatomie LF UK, kde by tyto techniky případně posloužily při výuce mediků.



Hlavní cílem práce však zůstává porovnat vlastnosti fixativ vybraných z literatury a zaměřit se zejména na takové možnosti, které neobsahují toxický formaldehyd, nebo jeho množství v balzamovacím roztoku limitují na minimum. Výzkum se dá považovat za pilotní studii, která si klade za úkol seznámit se v praxi s charakterem komerčně dostupných fixativ a definovat, s jakým typem balzamovacího přípravku by do budoucna bylo realistické dále pracovat.

Původním záměrem bylo testovat různé fixační roztoky na tělech dárců Ústavu anatomie LF UK v Plzni. Vzhledem k epidemiologické situaci a s ní spojenými hygienickými opatřeními, jsme byli nuceni přistoupit k práci s těly zvířat. Výše uvedeného cíle se tedy snažíme dosáhnout aplikováním vybraných fixativ na těla potkanů poskytnutá Biomedicínským centrem LF UK, jejich pozorováním v čase a vyšetřením elasticity a mikrobiálního osídlení balzamovaných vzorků.

## 2 BALZAMOVÁNÍ

### 2.1 Přírodní balzamovací prostředky

V širokém slova smyslu můžeme slovem balzamováním neboli fixací rozumět proces, při kterém dochází ke zpomalení, nebo až celkovému zastavení přirozeného rozkladu tkání po smrti organismu. V rámci tohoto termínu lze hovořit i o úpravě tkáně, která nebyla člověkem zamýšlena.

Typickým příkladem takové fixace jsou například takzvaná „bog bodies“, neboli těla z bažin, z nichž je znám například Tollundský muž. Muž věku přibližně 40 let byl v době železné usmrčen oběšením, pravděpodobně jako obětina božstvu, a jeho ostatky byly nalezeny v roce 1950 v Dánsku při těžbě rašeliny (Nielsen et al. 2021). Tělo Tollundského muže, především pak dokonale zachovaná hlava, poukazuje na výborné fixační vlastnosti kyselé půdy, do které bylo tělo před 2,5 tisíci lety uloženo. Podobným způsobem dokáže tělo zachovat chlad, jak je možné sledovat na notoricky známém nálezu Ötziho, paleolitického muže nalezeného v ledu Ötztalských Alp (Kutschera a Rom 2000).

Případy náhodného balzamování v přírodním prostředí jsou bezpochyby dobrým úvodem pro pochopení procesu prezervace, zejména pokud se chceme o tematiku zajímat z biochemického hlediska. Zároveň je lze chápat jako inspiraci pro balzamování úmyslné.

Metody vedoucí k záměrné fixaci tkání se v lidském světě začaly objevovat už v období starověku. Nejstarší doklady jsou datovány až do roku 6 000 př. n. l. ve spojitosti s oblastí dnešní Chile a Peru, kde kultura zde žijících Chinchorrů své zemřelé mumifikovala (Arriaza 1995).

Nestarším dokladem záměrné fixace v Evropě je nález z pohřebiště ve Španělské Palencii. Kostí zde nalezených jedinců zde byly zasypány

velkým množstvím (až několik set kilogramů) rumělky, která mimo svých barvicích vlastností disponuje i schopností zabraňovat přirozenému rozkladu, podobně jako rtuť, jíž je chemicky podobná (Martín-Gil et al. 1995). Zda byl zrovna tento nález dokladem záměrného balzamování je sice předmětem diskuzí, skutečností nicméně zůstává, že v případě starověkých kultur jako jsou zmínění Chinchorrové, potažmo Egypťané, sloužily techniky zachování lidských ostatků téměř vždy pro účely spojené s pohřebním ritem či s přechodem do posmrtného života. Teprve v pozdějších obdobích se tyto metody začaly uplatňovat i v jiných oblastech lidské činnosti.

## 2.2 Pojem balzamování, terminologie

Jak bylo už řečeno, pokusy zachovávat lidské tkáně a oddálit jejich dekompozici, je procesem, který provází lidstvo po tisíciletí a stále přetrvává. Není tedy divu, že se chápání a vykládání tohoto procesu zásadně liší napříč kulturami a profesemi. Jinak bude balzamování nazírat pracovník pohřebního ústavu, jinak laborant oddělení anatomie, jinak procesu rozuměl starověký Egypťan. Je proto třeba se hned v úvodu pokusit vyhnout terminologickým nepřesnostem.

V širokém slova smyslu se balzamováním rozumí záměrná úprava tkání zemřelého těla tak, aby se přešlo jeho dekompozici, nebo aby byl posmrtný rozklad zpomalen. Anglický výraz *embalming* vychází ze staroanglického *to apply balm*, tedy „aplikovat balzám“. Balzám jako takový je slovo latinského původu, kde označoval aromatické pryskyřice produkované stromy z čeledi hluchavkovitých, které byly využívány k pozastavení rozkladu před uložením zemřelého do hrobu. (Biswadeep a Patowary 2016: 10).

Způsob, kterým se o balzamování a aktivitách s ním spojených hovoří ve světě, je zvykově odlišný. Zatímco v češtině je teoreticky možné používat výrazy prezervace a konzervace zaměnitelně, němčina pro kontext manipulace s lidským tělem jednoznačně preferuje termín přeložitelný jako konzervace a v anglicky mluvících zemích spíše k používání výrazu *preservation* (Brenner 2014). Zároveň jsou tyto dva výrazy chápány obecněji, jako jakýkoliv způsob dlouhodobého zachování tkání. V češtině se jako jejich alternativa velmi často využívá i termínu fixace, který budu v tomto textu používat synonymně s balzamováním.

Pokud budeme chtít pojem balzamování dále upřesnit tak, aby co nejlépe odpovídal procesu, kterému se budeme věnovat v této práci, přísluší se zdůraznit, že se jedná o balzamování pro účely výuky studentů medicíny (a okrajově pro výrobu muzejních expozic) nikoliv o balzamování v kontextu pohřbívání. Můžeme o něm tedy hovořit jako o důkladném a komplexním zachování tkání tak, jak jsou přítomny v nebalzamovaném těle, a to s důrazem na zachování přirozených barev, vzájemnou rozlišitelnost tkání, distenzi arterií, pohyblivost a elasticitu (Souchon 1908 v Brenner 2014: 325).

### **2.3 Cíle balzamování**

Jedním z důvodů, proč člověk přistupuje k balzamování je možná banální, avšak nikoliv nedůležitá skutečnost, že práce s volně se rozkládajícím tělem není v souladu s estetickým ani etickým cítěním většiny zúčastněných.

Současně je balzamováním třeba dosáhnout stavu, ve kterém je výsledný preparát, pokud možno, zcela prost zdravotních rizik. Při práci s tělem nebalzamovaným přirozeně hrozí nebezpečí infekce spojené s kontaktem s rozkládající se tkání.

Ve stručnosti je možné říct, že balzamované tělo by v ideálním případě nejen mělo vypadat a reagovat na manipulaci stejně, jako tělo nebalzamované, být trvanlivé při uchování, bezpečné z hygienického hlediska, ale taktéž komfortně manipulovatelné všemi, kteří s ním v budoucnu přijdou do styku.

Je vhodné zdůraznit, že slova „v ideálním případě“ v souvětí výše nejsou volena náhodně. Dosáhnout ideálního rozložení všech kýžených vlastností je totiž značně obtížné, ne-li nemožné. Je obvyklé, že je trvanlivost preparátu vykoupena například sníženou pohyblivostí v kloubech, dobrá elasticita tlumenými barvami a podobně. Výsledek bude málokdy ideální. Cílem balzamování proto nikdy není dokonalost, ale funkční rovnováha kýžených vlastností.

## **2.4 Balzamování – významové hledisko**

V předchozí kapitole jsem naznačila, že fixace tkání není pro lidský druh a jeho smýšlení nic nového. Ba naopak, lidská potřeba zvěčnit pozůstatky tělesné schránky se v lidské kultuře vyskytuje už po tisíce let a v různých obměnách se objevuje v lidských společnostech po celém světě. Z antropologického hlediska je možné nahlížet na balzamování z mnoha úhlů, dané téma by dozajista vydalo na samostatnou diplomovou práci, v této nicméně zmíním pouze několik zásadních faktorů.

První pokusy o balzamování se prokazatelně odehrávaly dávno před tím, než proběhla první anatomická pitva, a rozhodně velmi dávno před tím, než se zrodilo sebemenší povědomí o infekčních nemocech, bakteriích a jiných mikroorganismech způsobujících rozklad tkáně, faktorech, kterým se dnes snažíme zcela cíleně, zamezit. Význam a cíl balzamování v jeho počátcích tedy musely být diametrálně jiné než nyní, kdy z něj těžíme logicky snadno odůvodnitelné, racionální výsledky.

Budeme-li pátrat po podnětu, který naše dávné předky kdysi vedl k historicky prvnímu pokusu o oddálení přirozeného rozkladu lidských ostatků, důvodem bude, stejně jako v případě mnoha dalších otázek lidského bádání, skutečnost, že člověk je myslící tvor, který vše, co dělá, nasycuje kulturou a významem. Z pohledu sociálně-kulturní antropologie v lidském světě neexistuje nic, co by unikalo začlenění do komplexní sítě vztahů a pravidel, prostřednictvím kterých se snažíme svět kategorizovat a chápat. Neexistuje v něm nic prosté kultury. Kultura jako taková nejen prolíná všechny aspekty lidského chování a konání, ale je také specifická lidskou schopností přiřazovat svému okolí symbolické významy (Lentz 2017). Tělo, které nás doprovází každou vteřinou existence, které svým charakterem ovlivňuje konání jedinců, logicky nemůže být z tohoto systému vyloučeno (Gibbs 2005). Lidé jsou možná jediným živočišným druhem na zemi, který záměrně mění svůj vzhled. Taková změna může sloužit mnoha účelům od zařazení do sociální skupiny, vylepšení sociálního statusu nebo prostého pokusu dostat současným ideálům krásy (Reischer a Koo 2004). Pokud si uvědomíme, jak o těle přemýšlíme, nepotřebujeme být odborníky v tematické embodimentu ani zběhlým čtenářem filozofických textů, abychom byli schopni uchopit, jaký význam hraje v lidské kultuře a jak důležité se jeví jeho zachování i po smrti. Tělesnost člověka je mimo jiné navázána na přirozenou lidskou potřebu náboženské realizace, která je od pradávna obvykle uskutečňována organizovaným způsobem.

Zejména ve společnostech, které si vytvořily velmi specifickou představu o posmrtném životě (ke kterým můžeme mimo jiné zařadit i tu naši, Západní), podléhá manipulace s ostatky zemřelých striktním pravidlům. Například v egyptské kultuře byl život po životě silně spojen se zachováním těla a dokonalá fixace ostatků byla brána jako příslovečná

vstupenka do posmrtného života. Ti, jejichž tělo podleho rozkladu do světa mrtvých nebyli vpuštěni (Brenner, 2014, s. 317 ).

V moderní společnosti, ve které je smrt mnohem menší součástí každodenního života, se vnímání mrtvého těla ocitla na úplně jiné úrovni, v oblasti strachu z neznámého spojeného s fascinací. I tento faktor strachu ze smrti, pohledu na mrtvé tělo, které má přirozený sklon k rozkladu, vede v současnosti k masovému využívání balzamovacích technik v pohřebnictví. Tělo, které je k odpočinku uloženo v estetické formě připomínající tu za života, je mnohými vnímáno jako tělo, se kterým je zacházeno důstojně a které, pokud v něj věříme, lépe obstojí v posmrtném životě (Foltyn 2008).

## **2.5 Historie balzamování**

Charakter metod balzamování se v průběhu věků vždy měnil nejen s ohledem na dostupné prostředky, ale zejména v závislosti na účelu. Víme, že počátky balzamování byly pevně spojeny s náboženstvím. Například u Egypťanů byly právě náboženské představy základem pro vznik specifické metody mumifikace, která, jak můžeme sledovat na nálezech z nilského údolí, je schopna udržet těla egyptských zemřelých v pozoruhodně zchovalém stavu až dodnes. Je sice zřejmé, že takový typ fixace by v dnešní době nebyl k užitku ani při přípravě těl pro anatomické pitvy, ani například pro potřeby pohřebních ústavů, je nicméně poutavé sledovat, jaké míry trvanlivosti preparátu byli Egypťané schopni dosáhnout.

Egyptská mumifikace byla pečlivě dokumentována, dnes o ní proto máme podobné zprávy. Proces tradičně započal odstraněním vnitřních orgánů, zejména srdce a mozku (věřilo se totiž, že jsou sídlem ducha a inteligence) a jejich uložení do tzv. kanop. Lebka byla posléze vyplněna pryskyřicí, tělní dutiny vycpány a naplněny lokálně dostupnou solí (*natron*

*salt*). Takto připravené tělo bylo ponecháno působení balzamovacích látek na 40 dní a teprve poté zabaleno do charakteristických pruhů látky. Posléze bylo navraceno rodině a uloženo do sarkofágu (Biswadeep a Patowary 2016).

Ačkoliv monumentální podoba egyptského pohřební ritu tuto skutečnost poněkud zastiňuje, měly metody mumifikace i zcela praktické důvody. Např. římský politik Cassius ve svém díle uvádí, že pohřbívání mrtvých do země v údolí Nilu, který čelil častým záplavám, bylo chápáno jako nehygienické, protože taková kontaminace prostředí vedla v horkém prostředí k nemocem a častým úmrtím. Vynález mumifikace a uložení těl do sarkofágů tak řešilo i praktickou otázku hygieny, nikoliv jen náboženských zvyklostí (Ajileye et al. 2018).

Balzamování z náboženských důvodů, které jen velmi zřídka cílilo na zachování anatomické integrity, se v období pozdního středověku a renesance postupně začalo přecházet k fixaci za účelem poznání, tedy do období nyní známého jako období anatomů.

Se stoupajícím zájmem o zkoumání lidského těla a rozvojem medicíny se rozvinuly metody balzamování schopné uchovat tělo co nejpodobnějšího stavu za života, včetně jeho vnitřních struktur. Začaly se objevovat první pokusy o vyplnění těla fixujícími látkami různého typu, velmi zřídka však šlo o infuzi fixační látky do oběhového systému zemřelého, tak jak je tomu zvykem v dnešní době (Brenner 2014: 318).

Metoda balzamování vpravením roztoku do kardiovaskulární soustavy byla poprvé zmíněna již Leonardem Da Vincim v 15. století. Rozvinuta byla později Fredrikem Ruyssem, považovaným dodnes za otce balzamování (Ajileye et al. 2018). Metoda byla dále pravidelně využívána



britským vědcem Williamem Harveym v polovině 17. století, dále pak praktikována např. Alessandrem Giliani nebo Jeanem Gannalem, který ji jako první představil francouzské veřejnosti. Vzhledem k rozšířenému křesťanství a s ním souvisejícím přístupem k tělu a tělesnosti byla praktika z počátku považována za neetickou a dehonestující, podobně jako dříve pivy samotné. Zcela nový pohled na ni přinesla až americká občanská válka (Biswadeep a Patowary 2016).

S příchodem občanské války v USA v roce 1861 se balzamování dostalo do popředí zájmu z neveselých a zároveň čistě praktických důvodů. Stále naléhavější nutnost navracet těla mrtvých vojáků domů k pohřbení donutila armádu učinit opatření, která se posléze ukázala být prvním krokem k vynálezu moderního způsobu fixace. Lékař Thomas Holmes byl armádou pověřen, aby vyvinul metodu uchování ostatků, která by uchránila těla padlých vojáků před dekompozicí, než budou přemístěna. Holmes používal jako hlavní složku svých roztoků arsen, který měl výborné antibakteriální účinky, často byl také kombinován s kreosotem nebo dokonce rtutí. Balzamování tohoto typu se brzy stalo oblíbeným i v oblasti pohřebnictví, a to dokonce natolik, že se pohřby s otevřenou rakví v USA staly novou normou. Slavná poslední jízda vlakem Abrahama Lincolna, při které bylo jeho balzamované tělo převezeno z Washingtonu D.C. do Illinois, jen potvrdila masové rozšíření této techniky. (Chiappelli a Chiappelli 2008) Ačkoliv je arsen jako balzamovací činitel velmi účinný, brzy byly objeveny jeho toxické vlastnosti, a byl proto kolem roku 1900 zcela zakázán a posléze nahrazen.

Moderní techniky balzamování spočívají obvykle ve třech krocích. Nejprve je otevřena některá z velkých arterií (typicky *a. femoralis*). Zavedením trubičky do dané cévy je vypláchnuta krev a krevní sraženiny. Poté je do oběhu vpravena fixační tekutina. Podle typu využití

balzamovaného subjektu je tělo ponořeno do lázně s balzamovací tekutinou, nebo „masírováno“, aby došlo k rovnoměrné distribuci roztoku po těle (Shrestha et al. 2019: 63).

## 2.6 Etika práce s mrtvým tělem

Otázka definování života a smrti, nebo lépe řečeno začátku života a jeho konce, je v současné době stálým tématem debat i rozepří v politických i sociálních sférách. Ať už se jedná o definici života před narozením, nebo identitu člověka po smrti, téma se vždy otírá o faktor tělesnosti. Do jaké míry je několikadenní embryo, drobný shluk buněk, člověkem, pakliže je jeho tělo velmi vzdálené plně vyvinutému tělu? Do jaké míry je člověkem tělo zemřelého, které sice vizuálně připomíná tělo živé, ale nedisponuje jeho „živými“ vlastnostmi? Zdá se, že respekt k tělu (a k s ním asociovaným vlastnostem) přesahuje události narození i smrti (Hockey a Draper 2005). Propojení těla a významu zůstává aktivní ještě dlouho potom, co tělo opustí život, nastane-li klinická či biologická smrt. Tuto skutečnost výrazně pociťujeme nejen v kontextu zacházení s lidskými ostatky (například při manipulaci pohřební službou), ale promítá se mimo jiné i do pravidel a povinností spojených s nakládáním s ostatky v lékařském prostředí.

Nakolik je práce s lidskými ostatky regulována pravidly jak nepsaného charakteru, tak pravidly legislativními, lze demonstrovat na přímo se nabízejícím příkladu využití lidských těl pro anatomické pitvy v rámci výuky mediků. Nejen, že je v tomto případě využití těla přímo podmíněno smlouvou mezi dárce a (např.) univerzitou, čímž je splněna povinnost daná zákonem, ale při samotné práci s tělem je vždy dodržována nejvyšší možná úroveň pietního zacházení. Druhé uvedené je sice v české legislativě definováno poněkud vágně, to však nezabraňuje osobám, které

s tělem přijdou do kontaktu, aby přesto dodržovaly určitá nepsaná pravidla, která jsou, zdá se, ukotvena ve zdravé lidské mysli na základě všední zkušenosti.

V současné době je v ČR zacházení s lidským tělem oficiálně upraveno především zákonem č. 256/2001 Sb., o pohřebnictví a o změně některých zákonů, pojednávajícím mimo jiné o balzamování, přičemž se v tomto ohledu věnuje nejen praktickým stránkám věci, jako je převoz těla a hygienická opatření spojená s celým procesem, ale také doslovně vyžaduje šetrnost k citům pozůstalých a zakazuje zacházet s ostatky „způsobem dotýkajícím se důstojnosti zemřelého nebo mravního cítění veřejnosti“ (ČESKO, 2001). V návaznosti na citovaná slovní spojení „důstojnost“ a „mravní cítění veřejnosti“ se nabízí rozvinutí jisté reflexe či přímo kritiky těchto poměrně nekonkrétních výrazu, v tuto chvíli je tato úvaha nicméně nad rámec našich potřeb. Pokud se budeme zmíněným termínům chtít věnovat konkrétněji a dopodrobna, musíme se obrátit spíše na odborníky v disciplíně lékařské a biomedicínské etiky.

Konkrétní práce s lidskými ostatky je povětšinou regulována etickými směrnici daného pracoviště. Vědecká centra a univerzity, kde je pravidelně přicházeno do styku s lidskými ostatky, se řídí interními etickými kodexy, které se mezi jednotlivými pracovišti mohou lišit, ale v konečném důsledku obsahují vždy podobný, univerzálně uplatnitelný soubor etických pravidel.

V první řadě je dbáno na to, aby lidské tělo bylo vždy využito pouze s informovaným souhlasem dárce. Souhlas bývá ošetřen smlouvou uzavřenou za života. Po smrti dárce nesmí být jeho tělo využito za účelem utržení zisku. Nesmí se stát předmětem obchodu s orgány či jiné aktivity, která by s tělem nebo jeho částmi zacházela za účelem vlastního

obohacení. Případná plastinace musí být taktéž předem schválena. Dále je nutné s tělem zacházet s respektem, vyvarovat se jeho poškození. Pakliže je přikročeno k balzamování, je nutné provést ho kvalitně, tak, aby v průběhu času, po který bude tělo využíváno např. k výuce, nezačalo docházet ke hnití a jiným dekompozičním změnám. Pozornost je třeba věnovat také prostorám, ve kterých balzamování probíhá a kde jsou lidské ostatky následně skladovány. Tato místa by měla být oddělena a vyčleněna pouze pro tento účel. Při práci s tělem nebo jeho částmi je očekáváno zachování anonymity dárce, pakliže je to jeho přáním, do místnosti by také neměli být vpouštěni lidé, kteří se přímo nepodílejí na dané činnosti či výuce. Pracoviště je také povinno tělo dárce před kremací vždy využít, a to k vědeckým či akademickým účelům, nebo tak, jak je uvedeno v dárcovské smlouvě. V neposlední řadě je při manipulaci s tělem vyžadováno zachování důstojnosti dárce, která musí být zachována za všech okolností a reflektována nejen ve způsobu, kterým se s ostatky manipuluje, ale také například ve způsobu, jakým je k němu při práci referováno (Ghosh 2020).

Jak bylo zjištěno, etické chování při kontaktu s tělem je důležité nejen pro zachování piety a respektu k dárci, ale úzce také souvisí s psychickým rozpoložením zapojených osob. Solomon Tesfaye a kol. v práci *Assessment of Ethical Compliance of Handling and Usage of the Human Body in Anatomical Facilities of Ethiopian Medical Schools (2021)* zkoumá dodržování etických standardů v několika etiopských lékařských fakultách. Podle autora Etiopie v současné době nedodržuje obecně platné etické standardy, především v oblasti dobrovolnosti dárcovství. Tesfaye prokazuje, že práce s těly, která nebyla získána etickou cestou, a neetické zacházení s ostatky může vést k vytvoření negativních asociací,

emocionálnímu diskomfortu a pokřivenému vztahu k hodnotě lidského života (Tesfaye et al. 2021).

V závěru tedy lze říci, že dodržení etických standardů při práci s tělem není pouze aktem piety a respektu vůči dárci, případně vůči zákonu, ale také nezbytným nástrojem duševní hygieny, napomáhající zachování zdravého přístupu k hodnotě života a zdraví. Ve světle výše zmíněného se etika a estetický komfort práce jeví jako zásadní aspekt, který by měl být zvážen při výběru metody balzamování.

## **2.7 Vliv balzamování na životní prostředí**

Vezme-li v potaz skutečnost, že se metody balzamování v průběhu věků rozšířily v té či oné formě prakticky po celém světě, nabízí se otázka, jaký vliv má masové užití těchto praktik má životní prostředí. Většina dnešních balzamovacích technik je využívána v pohřebnictví, zejména v zemích, kde je preferován pohřeb do země, často kombinovaný s vystavením těla před pohřbením. Například v USA je tento způsob po dlouhá léta výrazně preferován oproti zpopelnění, které je naopak oblíbeno v našem, středoevropském prostředí (Walter 2005). Ačkoliv balzamování pro účely výuky (a pro účely vědecké obecně) nepředstavuje mezi počtem provedených fixací velké procento, stále není od věci podívat se na problematiku vlivu balzamování na životní prostředí z širšího hlediska.

Už v dobách, kdy byl k balzamování hojně využíván arsen, bylo možné sledovat jeho vliv na okolí. Ke konci 19. století se v USA objevily studie, které sledovaly nárůst arsenu ve spodních vodách v okolí hřbitovů. Podobně navýšené byly hodnoty prvků využívaných k výrobě rakví, například mědi, zinku nebo olova. Přes tato zjištění byly pohřební praktiky ve Spojených státech ponechány beze změny. O jejich zachování mimo jiné rozhodly změny spojené s tehdejší populací, které

znemožňovaly do té doby běžnou praktiku vystavování těla zemřelého v domácím prostředí. V této době se také začala vylepšovat životní úroveň a úroveň lékařské péče a kontakt se smrtí se ve společnosti stal mnohem méně častým než doposud. I z toho důvodu měli pozůstalí potřebu učinit mrtvé tělo blízké esteticky snesitelnějším. Balzamování proto zůstalo stejně frekventované jako doposud (Chiappelli a Chiappelli 2008).

V současné době je nejpoužívanějším fixativem v pohřebnictví formaldehyd. Uvádí se, že k balzamování jednoho těla dospělého člověka je potřeba kolem 13. litrů formaldehydového roztoku. Chiappelli a Chiappelli podotýkají, že v USA je ročně balzamováno až 2 miliony zesnulých. To v konečném důsledku znamená obrovské množství formaldehydu ukládaného přímo do půdy (Tamtéž, s. 25).

Názory na vliv této látky na životní prostředí se nicméně liší. V současnosti je formaldehyd vytvářen především jako vedlejší produkt masové industriální výroby, ale také antropogenními faktory se zdrojů v každodenním lidském životě, například kouření cigaret, vaření na ohni, krby a ohniště. Za podstatnou část jeho produkce stojí černouhelné elektrárny. Balzamování jako takové v tomto měřítku nepředstavuje vysoké procento v celkovém objemu formaldehydu, který se vlivem lidské činnosti dostává do životního prostředí. Kanadská studie udává, že konkrétně na území Kanady nejsou hodnoty formaldehydu tak vysoké, aby přímo ohrožovaly ekologickou variabilitu nebo lidské zdraví (Chénier 2003).

Mimo to, že při balzamování může docházet ke kontaminaci životního prostředí fixačními roztoky, jak jsem zmínila výše, existuje množství studií, které se zabývají nakládáním s odpadem jako je krev a jiné tělní tekutiny. V současné době se má za to, že adekvátní systém

čištění odpadních vod je schopen takové látky efektivně regulovat (Chiappelli a Chiappelli 2008).

Zdá se, že v podobě, ve které se nalézá dnes, není proces balzamování prokazatelně škodlivý pro životní prostředí, alespoň ne v takové míře, jako znečištění pocházející z jiných typů lidské činnosti. Větším rizikem zůstává vliv balzamovacích látek na zdraví těch, kteří s nimi přicházejí pravidelně do styku.

## **2.8 Význam balzamování ve výuce**

Dnes je již běžné, ne-li preferované komunikovat převážně přes internet a hmatatelný svět se pevně prolíná s tím, který vidíme na obrazovkách. V posledních letech se s nástupem pandemie Covid-19 výhody virtuální komunikace projeví ještě zřetelněji. I před pandemií jsme na technologii významně spoléhali například ve výuce. Jsme schopni získat data z 3D skenerů, v medicíně se objevila virtuální pitva (Thali et al. 2007). Zdá se přirozené položit si otázku, zda při takové technické vybavenosti neztrácí balzamování pro účely anatomických pitev nebo pro vytváření výukových preparátů svůj význam. Je nutné ve výuce zachovat proces anatomické pitvy v jeho celém rozsahu, nebo je možné jej částečně, nebo snad zcela nahradit?

Znalost anatomie je základním stavebním kamenem pro úspěšnou práci jak v medicíně, tak i ostatních oborech zabývajících se lidským, ale i jiným živým tělem (Turney 2007). Jakým způsobem by se měla vyučovat, je opodstatněně předmětem diskuze. Hlavním argumentem pro zachování využití balzamovaných těl zůstává zcela zřejmá skutečnost, že například adekvátní chirurgickou praxi nelze získat bez zkušenosti s prací na lidském těle a její základy taktéž není možné bezpečně získat při práci s tělem žijícího člověka. Pokud jde ale o anatomii jako takovou, nebylo by možné

nahradit kontakt s tělem virtuálně? Pro jaká odvětví výuky medicíny je tedy práce s těly zcela nezbytná?

Hlubší, spíše filosofické nahlédnutí do této komplexní tematiky nabízí Gareth Jones v práci *Reassessing the Importance of Dissection: A Critique and Elaboration* (1997). Jones, ač se sám nestaví důrazně proti využití anatomických pitev ve výuce, zároveň poukazuje na nutnost nahlížet na ně jako na aktivitu, která u jistého procenta studentů prokazatelně způsobuje emocionální neklid až deprese a která může do jisté míry snižovat schopnost efektivně se učit a ochotu studenta na pitevnu docházet. Vyzdvihává taktéž otázku, zda není role pitvy ve výuce nadhodnocena a je-li pitva zcela nutná například pro získání zcela základních znalostí anatomie. Z druhé strany jsou v práci střízlivě zvažovány faktory jako jsou finanční náklady na získání, balzamování a udržování lidských těl v porovnání se stejně vysokými ne-li často vyššími náklady spojenými s potenciální virtualizací takové výuky (Jones 1997).

Problematiku je možné shrnout do zjednodušujícího tvrzení, že nutnost využití balzamovaných těl ve výuce determinována mnoha faktory, mezi nimiž figuruje specializace, ve které se student vzdělává, možnosti v oblasti skladování těl a v neposlední řadě i finanční vybavenost dané univerzity nebo jiného vzdělávacího zařízení. V závěru můžeme usoudit, že celkové odstranění výuky na balzamovaných tělech z osnov výukových programů po celém světě, je v současné době velice nepravděpodobné. V rámci situace by proto mělo balzamování splňovat následující podmínky: Zajistit možnost bezpečné a hygienické manipulace s ostatky, přizpůsobit techniku balzamování typu práce, pro kterou je tělo připravováno a poskytnout esteticky a eticky důstojné prostředí jak pro vyučující a studenty, ale také zajistit pietní zacházení s tělem.



## 2.9 Současné metody balzamování

V současnosti využívané metody balzamování jsou v celosvětovém měřítku značně rozmanité, a to v počtu balzamovacích roztoků, ale také co se týče techniky jejich použití. Přesto lze v tomto širokém spektru nalézt jisté kategorie, podle kterých se můžeme orientovat. Pro naše účely je můžeme nazvat metodami formaldehydovými, tedy metodami využívajícími k fixaci roztoky s vysokou koncentrací formaldehydu, a metody neformaldehydovými, které formaldehyd v procesu nevyužívají vůbec, nebo jej obsahují velmi málo.

Pro úplnost je nutné podotknout, že mimo tyto možnosti je pro dlouhodobější zachování těla, zejména v USA, využíváno i zchlazení, nebo zmražení. Takto zachovaná tkáň je nicméně vždy zmražením částečně znehodnocena a zároveň je možné ji vyjmout z chladicího boxu a využít např. k pitvě pouze jednou, nebo velmi omezenými způsoby (Bilge a Celik 2017). Pro kontext současného prostředí na LF UK a s ohledem na využití roztoků pro muzejní účely, kde je tato metoda zcela bez využití, budeme hovořit pouze o metodách fixace založených na vpravení balzamovacího roztoku do krevního oběhu a následné imerzi takto připraveného těla do lázně.

## 2.10 Složení roztoků

Složení balzamovacích roztoků lze rozdělit do několika skupin přísad, z nichž každá disponuje jiným souborem vlastností. Značná rozmanitost a početnost chemikálií, které je možné využít, pochopitelně neumožňuje věnovat se všem podrobně, pokusím se tedy o shrnutí nejpoužívanějších

Za první skupinu lze označit samotná fixativa, tedy látky, které zastavují proces rozkladu. Nejvíce je v současnosti používán formaldehyd ze skupiny aldehydů, Mezi fixativa dále patří alkoholy jako metanol

a etanol či isopropylol, které se podílejí na denaturaci proteinů. Jako fixativum taktéž působí soli jako dusičnan sodný, dále pak kyselina boritá.

Druhou skupinou jsou dezinfekční prostředky. Jako dezinfekce se často využívá fenol, který má schopnost deaktivovat enzymy uvnitř buněk a ovlivnit tak jejich propustnost, a to už při velmi malé koncentraci v roztoku. Podobně působí i deriváty fenolu, např. kyselina salicylová, nebo pentachlorofenát sodný, který, ač méně iritující pro kůži, nemá tak dobré výsledky v zachování barvy jako fenol. Dezinfektantem, který se běžně objevuje v přírodě je thymol, který vykazuje výborné dezinfekční vlastnosti, aniž by zároveň způsoboval nežádoucí vedlejší účinky, snad krom možného podráždění kůže. Významným desinfekčním činidlem je dále 4-chloro-3-methylfenol, využívaný například v Thielově roztoku (1992), kterému se budeme podrobněji věnovat dále.

Důležitou složkou jsou tzv. buffery (*buffers*), které udržují pH balzamovací směsi kolem hodnot 7-9 a zajišťují další ochranu proti růstu plísní a rozkladu bakterií (Macdonald and MacGregor, 1997 v Brenner 2014). Mezi buffery patří například hydrogenuhličitan sodný, uhličitan sodný, borax nebo uhličitan hořečnatý.

Další skupinou látek jsou humektanty neboli zvlhčovačla, jejichž název hovoří sám za sebe. Významným zvlhčovačem využívaným v mnoha balzamovacích roztocích je glycerin, který nejen udržuje tkáň poddajné a zabraňuje jejich ztvrdnutí, ale taktéž podporuje desinfekční vlastnosti některých látek jako je formaldehyd. Podobně lze využít sorbitol, mono-, di-, a polyetylen glykol a další.

Mimo výše zmíněné se v balzamování využívá například soli, u kterých byl zjištěn slabší denaturační efekt zejména u proteinů.

V některých případech je možné použít difosforečnan tetrasodný jako uvolňovač svalů. (Brenner 2014)

### **2.11 Mechanismus fixace**

Doposud jsme se stručně dotkli možností, které se nám nabízejí v rámci širokého spektra balzamovacích roztoků. Na jakém principu fixační tekutiny pracují?

Fixační látky, které budou použity v praktické části této práce, stejně tak drtivá většina fixačních roztoků jako takových, pracuje na základě denaturace buněčných bílkovin. Při balzamování dochází k infuzi balzamovací látky do buněk a tkání skrze kapiláry. Například formaldehyd fixuje tkáň tak, že nenávratně spojuje primární aminovou skupinu v molekule proteinu s dusíkem přes  $\text{CH}_2$  vazbu nazývanou Schiffova báze (Biswadeep a Patowary 2016). Buňky vystavené balzamovacím látkám tak dále nemohou sloužit jako zdroj potravy pro mikroorganismy a tím je znemožněn rozklad tkáně.

Ostatní složky balzamovacího roztoku, jak jsem zmínila výše, modifikují účinnost těchto vlastností a jsou zodpovědné za estetické a mechanické vlastnosti preparátu jako je elasticita, zachování barvy, roztažitelnost arterií a celková kvalita manipulace s balzamovaným materiálem.

### 3 VYUŽITÍ FIXAČNÍCH ROZTOKŮ V MUZEJNICTVÍ

Prozatím jsme hovořili o využití balzamování zejména pro využití ve výuce mediků. Edukativní význam fixace tkání nicméně zasahuje i do odvětví muzejnictví a vizuální kultury. Charakteristika preparátů pro takové účely může být zásadně odlišná od těl balzamovaných pro účel výuky, ve které se snažíme dosáhnout podobnosti s živým tělem ve všech směrech. V případě potřeby nehybného exponátu je naopak kladen důraz především na trvanlivost, odolnost vůči vnějším vlivům a v neposlední řadě zdravotní nezávadnost.

#### 3.1 Plastinace

Poměrně novou technikou využívanou v muzeích je plastinace, technika vynalezená v roce 1977 Guntherem von Hagensem, který ji původně vyvinul pro potřeby Anatomického institutu Heidelberské univerzity. Metodu chtěl využít pro lepší zachování vzorků ledvin. Technika plastinace byla po ustanovení patentována a velmi rychle rozšířena. Velkou pozornost na sebe strhla v roce 1995, kdy byla v Tokiu uvedena první výstava Body Worlds (Pashaei 2010). Tato expozice byla v současné době prezentována již téměř všude na světě a dodnes vzbuzuje silné emoce jak z hlediska etiky, tak svým rozporem s některými náboženskými představami. Ačkoliv můžeme polemizovat o morální a etické vhodnosti využití lidských těl za tímto účelem, sám Gunther von Hagens vidí Body Worlds jako způsob vyjádření respektu k ojedinělým charakteristikám těla jednotlivce a zvěčnění jeho pozůstatků (Moore a Brown 2004).

Proces plastinace pro účely výstav je vždy stejný, jen s malými odchylkami souvisejícími s typem a velikostí plastinovaného těla. V rozmezí 2-10 dní post mortem je tělo napuštěno tzv. roztokem Keiserling

I obsahujícím formaldehyd, dusičnan draselný, octan draselný a deionizovanou vodu. Takto upravená těla jsou přemístěna do nádrží. Pakliže je žádoucí z těla oddělit části, je roztokem naplněné tělo zmrazeno po dobu několika dní. Části jsou po oddělení dehydratovány uložením do 80% ethanolu. Následně je tkáň upravována použitím různých druhů pryskyřic a vytvrzena v pecích vyhřátých na 40 °C po dobu 4-5 týdnů. Plastinované tkáně jsou extrémně trvanlivé a je možné je beze změny uchovat několik desítek let (Hagens et al. 1987).

Pro výuku anatomie je možné využít plastinace na silikonové bázi. Aplikací metody lze vytvořit velmi slabé řezy celými orgány, končetinami nebo i torzem. Výsledné preparáty se vyznačují výborným zachováním velmi jemných struktur, které lze sledovat mikroskopicky. Tyto preparáty byly mnohokrát využity jako předloha pro anatomické virtuální modely, které jsou široce využívány právě ve výuce anatomie (Pashaei 2010). Přísluší se dodat, že metoda plastinace vždy tkáň vytvrdí a není proto možné je využít pro klasickou anatomickou pitvu. Je vhodná především pro muzejnictví, nebo výuku systematické a topografické anatomie na modelu, nikoliv formou práce na pitevně.

Z dostupných zdrojů není patrné, zda se plastinace podle von Hagens uplatňuje v muzejní praxi v ČR. V současné chvíli využívá plastinované pomůcky k výuce například Fakulta zdravotnicích studií ZČU v Plzni, samotný proces plastinace však pravděpodobně není prováděn v českých muzeích ani zdravotnicích zařízeních.

### **3.2 Zoologické a jiné preparáty**

Pro uchování měkkých tkání nebo celých menších zvířat výuku nebo zachování vzácných a vyhynulých druhů, se u nás využívá v drtivé většině tekutinových preparátů, obvykle formaldehydových nebo etanolových.

Tradičně jsou uchovávány ve válcových nebo hranatých kyvetách. Zejména pro potřeby výuky je v ČR stále preferován formaldehyd. (Frišhons et al. [b.r.] )

Co se týče zdravotní nezávadnosti takových preparátů, jedná se o metodu zcela bezpečnou pro studenty, případně návštěvníky muzeí, vzhledem k tomu, že roztok zůstává po celou dobu pevně uzavřen v kyvetě. Výhodou je v tomto případě také to, že je preparáty určené pro tyto účely možné libovolně dobarvovat, aniž bychom byli limitováni takovými faktory, jako nutnost zachovat všestrannou podobnost živému tělu (Tamtéž).

Na základě dostupných informací se dá předpokládat, že je v muzeích a vzdělávacích institucích v současné době využívána metoda fixace drobných preparátů, která nepředstavuje zdravotní riziko pro návštěvníky ani studenty. Formaldehydová a etanolová fixace se ukazuje jako efektivní způsob dlouhodobého zachování preparátu pro tyto účely.

## 4 FORMALDEHYDOVÉ METODY

Formaldehyd (dále také FA), je v současnosti užívaný v mnoha odvětvích lidské činnosti od potravinářství, přes zemědělství, až po medicínu od doby svého vzniku prokázal vynikající výsledky v oblasti balzamování. Ačkoliv jsem v úvodu uvedla zcela zásadní nedostatky využití formaldehydu, především v souvislosti s jeho toxicitou, je třeba zdůraznit, že objev formaldehydových metod v druhé polovině 19. století přinesl v oboru rapidní posun kupředu, bez kterého by dnešní metody fixace neměly na čem stavět.

### 4.1 Vývoj formaldehydových metod

Na možnost plošného využití formaldehydu věda čekala poměrně dlouhou dobu. Přestože byl formaldehyd objeven již v roce 1859 ruským vědcem Alexandrem Michajlovičem Butlerovem, k jeho většímu rozšíření došlo až v roce 1868, kdy německý chemik August Wilhelm von Hoffman vynalezl praktický způsob, jak formaldehyd syntetizovat z metanolu a položil tak základ pro jeho pozdější výrobu ve velkém množství. V době, kdy se patent na výrobu formaldehydu dostal do rukou nejprve evropských a následně globálně působících chemických a farmaceutických společností, bylo již povědomí o antibakteriálních a desinfekčních účincích této látky ve vědeckých kruzích rozšířeno. Zatímco byly účinky formaldehydu zkoumány stále více dopodrobna, na trhu se začaly objevovat komerčně dostupné roztoky, jejichž koncentrace i obchodní název se značně lišily. V Anglii byl formaldehydový roztok znám jako kyselina mravenčí (formic acid), v Německu jako formol nebo formalín, v některých zemích figuroval pod obchodní značkou Formal. Spolu s rozšiřující se nabídkou roztoků formaldehydu a s ní úzce související snížením ceny, se tato substance dostala do povědomí vědců z celého světa a odstartovala svou zlatou éru (Musiał et al. 2016).

Mezi roky 1880 a 1890 byly učiněny jedny z nejzásadnějších objevů týkající se vlastností formaldehydu. O jeden z prvních experimentů zkoumajících jeho antiseptické a antibakteriální vlastnosti, se pokusil frankfurtský lékař a biolog Ferdinand Blum. V článku *Der formaldehyd als antisepticum* (1893), Blum prezentoval úspěšné využití formaldehydu ke zničení bakterií jako např. *Bacillus anthracis*, *B. typhi*, *Staphylococcus aureus* a *Proteus* a došel k závěru, že je formaldehyd velmi efektivním, ač poněkud pomalu působícím antibakteriálním činidlem (Fox et al. 1985). Ve srovnání s doposud využívanou fixací na bázi alkoholu, která po zjištění extrémně toxických vlastností nahradila metody balzamování za použití arsenu, dosahoval formaldehyd významně lepších výsledků, a to jak v ohledu antimikrobiálního působení, tak věrnějšího zachování buněčné struktury. Blumova kariéra v experimentální medicíně obohatila současnou vědu v mnoha ohledech a jeho práce je dodnes hojně citována jak v medicíně, tak chemii. Blumovu práci dále rozvíjeli lékaři jako Ferdinand Julius Cohn. Frederick C. Kenyon i syn Isaac Blum, kteří otevřeli cestu od balzamování vzorků rostlin a malých zvířat k první fixaci celého lidského těla. (Musiał et al. 2016)

## 4.2 Vliv formaldehydu na zdraví

Rozšíření formaldehydu časem nevyhnutelně vedlo k objevu jeho nepříznivého vlivu na zdraví. Jeden z prvních článků zabývajících se jeho toxicitou byl publikován už v roce 1905 americkým lékařem Martinem H. Fisherem. Ve své práci shrnul negativní vlivy formaldehydu na lidský organismus, mezi kterými vyzdvihнул především bronchitidu, zápalu plic, ale i nemoci ledvin. Mimo jiné identifikoval formaldehyd jako silný alergen. Navzdory těmto účinkům na lidské zdraví formaldehyd zůstal, a stále zůstává, rozšířeným, zejména díky své dostupnosti a nízké ceně (Musiał et al. 2016).



Formaldehyd je uznaným karcinogenem, jehož rakovinotvorné účinky byly opakovaně vysledovány ve studiích po celém světě. Prokázána byl například jeho vliv na incidenci myeloidní leukémie u patologů a anatomů (Hauptmann et al. 2009). Souvislost s dlouhodobým vystavením formaldehydu byla zjištěna také u nasopharyngeálního karcinomu (Blair et al. 1990).

Vliv chemikálie na pracovníky amerických pohřebních ústavů zaznamenali Moore a Ogrodnik v článku *Occupational Exposure to Formaldehyde In Mortuaries* (1986). Formaldehyd se při kontaktu vyznačuje především svým iritujícím účinkem na kůži a respirační ústrojí. Zároveň má jeho odér velmi nízkou prahovou hodnotu detekce zápachu, která se obvykle vyjadřuje v ppm (*parts per million*). Lidský čich je schopen zápach formaldehydu zachytit již při 0,05 ppm. Od koncentrace 0,5 ppm se může objevit podráždění v hrdle, podráždění očí se obvykle vyskytne v rozmezí 0,13-0,45 ppm. Podle Evropské agentury pro bezpečnost a ochranu zdraví při práci (OSHA) je horní hranice pro osmihodinovou expozici formaldehydu 3 ppm. *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* v roce 1983 označila formaldehyd za karcinogenní látku a doporučila maximální koncentraci 1 ppm pro osmihodinovou práci s ním. Moore a Ogrodnik při srovnání 17. pohřebních ústavů zjistili, že vystavení formaldehydu při 45-75 minut trvajícím balzamování zřídka přesáhne hranici ustanovenou OSHA. Zároveň však dodávají, že většina zkoumaných zařízení nemá dostatečné odvětrávání a jejich pracovníci jsou povětšinou zcela neinformováni o možných karcinogenních účincích (Moore a Ogrodnik 1986).

Evidence směřující k přímému vlivu formaldehydu na vznik různých druhů karcinomu je v mnoha případech nejasná a vyžaduje další výzkum, potenciální nebezpečí je nicméně legislativně ukotveno v zákoně velké

spousty zemí. V ČR je hranice povolené koncentrace formaldehydu upravována Vyhláškou ministerstva zdravotnictví 6/2003 Sb. Řečená vyhláška stanovuje limit v místnostech na  $60 \mu\text{g m}^{-3}$ . Legislativně je dále také upraven limit koncentrace na pracovištích ( $0,5-1 \mu\text{g m}^{-3}$ ). V České republice je také zakázáno využití formaldehydu v potravinářství (Ferus a Cihelka 2008).

Negativní vliv krátkodobého vystavení formaldehydu je nezřídka pozorován v kontextu anatomických pitev pro účely výuky. Například studenti lékařské fakulty v Myanmaru uváděli jako častý vedlejší účinek nepříjemný zápach (téměř v 80 %), následovaný podrážděním očí, nadměrným slzením, bolesti nosní sliznice anebo i vertigo (Aung et al. 2021).

V posledních třiceti letech vešlo do povědomí téma teratogenních účinků formaldehydu. Potenciální nebezpečí pro vývoj nenarozených dětí, například u pracovníků pohřebních ústavů, sester či lékařek, ale také zaměstnankyň v industriálním prostředí, pravidelně vystavených kontaktu s formaldehydem, se tak z pochopitelných důvodů stalo předmětem mnoha studií. Tato problematika byla podrobněji shrnuta v podrobném přehledu *A Review of Adverse Pregnancy Outcomes and Formaldehyde Exposure in Human and Animal Studies* (2001). Kolektiv autorů detekoval v dosavadním diskurzu jistou tendenci přisuzovat formaldehydu zásadní teratogenní účinky na člověka i zvířata. Opak se nicméně zdá být pravdou. Autoři se zaměřili na srovnání studií z prostředí, v nichž byl subjekt přímo vystaven působení formaldehydu, jak v podobě inhalace, tak například ve formě injekčního podání (využívaného pravidelně u potkanů), v potaz byl brán také kontakt s kůží. Zkoumány byly faktory jako je neplodnost, riziko spontánního potratu a porodní váha.

Výsledek srovnávací studie ukázal, že pakliže došlo při testování na zvířatech k negativnímu ovlivnění některého z výše zmíněných faktorů, obvykle se jednalo o míru vystavení formaldehydu, které by v běžném pracovním prostředí nebylo možné u člověka dosáhnout. Taktéž studie na člověku neukázaly průkazný vliv formaldehydu na reprodukční procesy ženského těla a vývoje plodu. Je nicméně nutné uvést, že ačkoliv se teratogenita neprokázala u drtivé většiny studií, není možné ji zcela vyloučit. (Collins et al. 2001)

V závěru je nutné zdůraznit, že toxicita není zdaleka jedinou nevýhodou formaldehydových roztoků. Formaldehyd je obecně spojován s vysokou ztuhlostí jím fixovaných tkání. Kromě značné rigidity preparátů také zapříčiňuje rychlou koagulaci krve, působí blednutí, nebo změnu barvy fixovaného preparátu (Brenner 2014).

### **4.3 Metody bez formaldehydu**

Excelentní fixační vlastnosti formaldehydu, jeho nízká cena a dlouhá doba, po níž je možné tkáně v něm fixované využívat, vedla k takovému rozšíření formaldehydových roztoků, že je nyní celosvětově považujeme za standardní metodu balzamování. Je to ale z části právě toto masové rozšíření, které v posledních letech vedlo k úsilí vyvinout alternativy, které by disponovaly stejnými fixačními schopnostmi a zároveň eliminovaly obsah formaldehydu, a s nimi i nebezpečí spojená s jeho toxicitou, na minimum.

Fixace lze dosáhnout za pomoci mnoha netoxických materiálů, v první řadě například solí. Dále je hojně využíváno alkoholu, glycerinu i některých látek, které lze nalézt v přírodě.

Goodarzi et al. (2018) dosahuje dobrého výsledku fixace za využití chloridu zinečnatého. Myšlenka využití soli jako hlavní složky balzamovacího roztoku je inspirována potravinářstvím, kde se již po staletí využívá pro uchování potravin jako jsou různé druhy masa, ryb, ale i zeleniny. Roztok obsahuje 40%  $ZnCl_2$ , litr glycerinu a 200 g thymolu na 10 litrů. Glycerin zde působí jako změkčovač, thymol má antifungální účinky. Autor využívá roztok k fixaci těl několika větších zvířat. Výsledek studie prokazuje, že roztok  $ZnCl_2$  je možné využít jako náhražku formaldehydových roztoků, v porovnání je schopen lépe zachovat barvu, klouby zůstávají hybné a flexibilní. Oproti formaldehydovému roztoku však uvádí vyšší cenu a složitost přípravy. (Goodarzi et al. 2018)

Výše zmíněný thymol je využíván i v etanolo-glycerinovém fixačním roztoku podle Hammer a kol. (2012). Kolektiv autorů porovnává vlastnosti roztoku glycerinu, etanolu a thymolu oproti formaldehydu. Ze studie vyplývá, že je při použití tohoto roztoku možné dosáhnout dostatečné míry fixace a zcela zastavit rozklad tkání a autolýzu buněk. Jako pozitivu autoři dále uvádějí příjemný odér roztoku zapříčiněný přidaným thymolem. Další výhodou je samozřejmě i kýžená absence toxických složek. Roztok byl hodnocen pozitivně i z hlediska práce s tělem, při které bylo zaznamenáno dobré zachování barvy jednotlivých tkání, stejně tak jako jejich snadná vzájemná rozlišitelnost.

Negativně se působení roztoku projevilo zejména na mozku, kde došlo k jeho znatelnému zmenšení oproti fixaci formaldehydem. Parenchymatózní orgány si po balzamování nezachovaly dostatečnou pevnost. Nevýhodou této směsi je také téměř dvojnásobná cena oproti práci s běžným roztokem formaldehydu (Hammer et al. 2012).

#### 4.4 Thielův roztok

V roce 1992 vyvinul německý chemik Walter Thiel balzamovací metodu, která umožňuje uchování přirozeného zabarvení fixovaných tkání. Podobně jako většina balzamovacích technik, Thielova metoda spočívá ve vpravení roztoku do kardiovaskulárního systému a následném ponoření těla. V tomto případě jsou však roztoky pro imerzi těla a jeho intervaskulární imerzi odlišné. Jak imerzní, tak infuzní roztok obsahují velmi malé množství formaldehydu a tím značně snižují až odstraňují vliv nepříjemných, a hlavně toxických účinků. Thielův roztok mimo jiné obsahuje složky jako 4-chloro-3-metylfenol, několik typů solí, kyselinu boritou pro desinfekci a etylenglykol pro zachování plasticity (Ottone et al. 2016).

Infuzní roztok se do těl vpravuje skrze *a. femoralis* nebo *a. carotis*. V původní Thielově studii se používal ještě třetí roztok pro perfusi plic skrze tracheální rourku, po čase od jeho použití bylo však ustoupeno, protože byl shledán zbytečným, zejména při použití těl pro účely anatomických pitev při výuce mediků. Lidské tělo takto upravené je ponecháno v roztoku přibližně 6 měsíců. Po vyjmutí z roztoku jsou těla skladována v igelitových pytlích a lze je takto vyžívat až několik let. Výsledkem balzamování dle Thiela jsou barevně autentické, elastické tkáně, preparáty si zachovávají dobrou mobilitu kloubu a zůstávají bez iritujících a toxických chemických výparů. (Ottone et al. 2016)

Těla balzamovaná Thielovým roztokem vykazují žádoucí vlastnosti taktéž co se týče zachování přirozené elasticity tkáně. Ve studii srovnávající elasticitu rozličných tkání živých dobrovolníků a Thielovým roztokem balzamovaných těl mrtvých dárců bylo prokázáno, že si fixované tkáně zachovávají velmi podobnou elasticitu jako za života. Text zároveň

ověřuje vhodnost metody Shear Wave elastografie pro měření tuhosti balzamovaných tkání (Joy et al. 2015). Prokázána byla také velmi dobrá využitelnost Thielova roztoku při tréninku aplikace lokální anestezie u studentů zubního lékařství (Lone et al. 2017). Využitelnost takto balzamovaných těl zaznamenal také kolektiv University of Dundee ve Skotsku, který oceňuje zejména jeho využitelnost pro získání chirurgické praxe a do budoucna plánuje Thielovou metodou balzamovat všechna těla (Eisma et al. 2013).

Do dnešního dne prošel Thielův roztok mnohými modifikacemi a je po světě používán v různých variantách. V roce 2011 bylo nicméně proveden výzkum ukazující, že přes výborné výsledky je Thielova roztoku pravidelně využíváno pouze v 11 % zkoumaných výzkumných center a univerzit. Tato skutečnost je povětšinou vysvětlována složitostí a komplexitou přípravy (Ottone et al. 2016). Podobné výsledky vzešly i ze studie kolektivu francouzských autorů, který zaznamenal podobně nízkou rozšířenost, kterou mimo jiné vysvětlují původním materiálem dlouhodobě přístupným pouze v němčině (Benkhadra et al. 2011).

## 5 METODY A MATERIÁL

### 5.1 Výzkumné otázky

Cíle a záměr této práce byly již naznačeny v úvodu, pro shrnutí je však nasnadě definovat konkrétní výzkumné otázky. V práci se snažíme odpovědět na následující: Jsou balzamovací roztoky s obsahem formaldehydu plně nahraditelné roztoky s velmi sníženou, nebo zcela absentující formaldehydovou složkou? Existuje patrný rozdíl komfortu práce s formaldehydovými a neformaldehydovými roztoky? Jakým způsobem je možné eliminovat zdravotní rizika spojená s vystavením formaldehydu v rámci výuky a muzejní praxe? Který ze zkoumaných roztoků se jeví jako nejvhodnější pro další využití v prostředí Anatomického ústavu LF UK v Plzni?

### 5.2 Sběr a analýza dat

Výzkum probíhal od září roku 2021 do dubna 2022, přičemž přípravná fáze včetně studia podkladů začala v roce 2020. Konkrétní časovou osu praktické části výzkumu shrnuje Tabulka 1.

**Tabulka 1:** Data jednotlivých vyšetření a kontrol u potkanů 1-6. U roztoku 005 a 006 třetí kontrola zatím neproběhla.

Potkan	Balzamování	1. kontrola	2. kontrola	3. kontrola	Mikrobiol.	Elastografie
001	3.9.21	7.10.21	29.10.21	6.1.22	29.10.21	23.11.21
002	3.9.21	7.10.21	29.10.21	6.1.22	29.10.21	23.11.21
003	16.11.21	6.1.22	18.1.22	24.3.22	13.1.22	4.2.22
004	16.11.21	6.1.22	18.1.22	24.3.22	13.1.22	4.2.22
005	15.2.22	1.4.22	16.4.22	/	1.4.22	20.4.22
006	15.2.22	1.4.22	16.4.22	/	1.4.22	20.4.22

Na základě porovnání literatury byly vybrány 4 balzamovací roztoky, z toho jeden byl použit k balzamování dvou zvířat. Jedno další zvíře bylo balzamováno roztokem formaldehydu v podobě, ve které se nyní používá

na Ústavu anatomie LF UK. V průběhu výzkumu byly nabalzamované vzorky kontrolovány v cca měsíčních rozestupech. Kontrolu jsem prováděla sama, pouze s občasným vstupem konzultantky MUDr. Eberlové, u výstupů lze tedy předpokládat subjektivní zbarvení. U každého vzorku bylo také provedeno kultivační mikrobiologické vyšetření a vyšetření orgánů USG Shear Wave elastografií. Data z mikrobiologie byla zaslána ve finální podobě Ústavem mikrobiologie FN Plzeň, data z USG elastografií jsou získána přímo z přístroje a zprůměrována.

### 5.3 Roztoky

Pro balzamování byly využito 5 typů roztoku, jejichž složení je uvedeno v Tabulce 2 a Tabulce 3. Jako kontrolní vzorek byl jeden z jedinců nabalzamován současnou verzí formaldehydového roztoku. Jako alternativa roztoku zcela bez obsahu formaldehydu byl využit roztok oxidu zinečnatého ve směsi s thymolem (Goodarzi et al. 2018). Dále byly namíchány dva roztoky na bázi směsi, která je využívána Ústavem anatomie v současné době. Procentuální zastoupení formaldehydu v těchto roztocích bylo sníženo a zkoumáno ve dvou různých koncentracích, a to za účelem srovnání vlastností roztoku při zachování stejných složek, avšak za zásadního snížení obsahu formaldehydu. Jako poslední byl vybrán roztok dle Waltera Thiela, konkrétně ve variaci používané ve srovnávací studii *Walter Thiel's Embalming Method. Review of Solutions and Applications in Different Fields of Biomedical Research* (Ottone et al. 2016).



**Tabulka 2:** Přehled složení použitých roztoků

Roztok č.	Název	Složení
001	Aktuální roztok 15 % FA	Alkohol (96 %) 40% formaldehyd, aceton, glycerin, voda
002	Roztok ZnCl <sub>2</sub> s thymolem	40 % ZnCl <sub>2</sub> , thymol, glycerin
003	Roztok se sníženým obsahem formaldehydu - FA do 7 %	Alkohol (96 %) 40% formaldehyd, aceton, glycerin, voda
004	Roztok se sníženým obsahem formaldehydu - FA do 5 %	Alkohol (96 %) 40% formaldehyd, aceton, glycerin, voda
005	Thielův roztok (Ottone et al. 2016)	imerzní + infuzní roztok

**Tabulka 3:** složení Thielova roztoku v modifikaci dle Ottone et al. 2016

Roztok A	Roztok B	Infuzní roztok	Imerzní roztok
kyselina boritá	etylenglykol	roztok A	etylenglykol
etylenglykol	4-chloro-3-metylfenol	roztok B	roztok B
dusičnan amonný		formaldehyd	kyselina boritá
dusičnan draselný		síran sodný	dusičnan amonný
horká voda			dusičnan draselný
			síran sodný
			horká voda

Zkoumané roztoky jsme míchali svépomocí v prostorách Ústavu anatomie, v některých případech za pomoci laborantky. Bylo tak možné posoudit jak technicky a časově náročná je jejich příprava.

## 5.4 Zvířata

Pro výzkum byly využití potkani poskytnutí Biomedicínským centrem LF UK v Plzni. Celkem bylo balzamováno šest zvířat, všechna chovaná ve

stejných podmínkách zvěřince Biomedicínského centra, s podobným režimem a totožným krmným plánem. Všechna zvířata byla samčího pohlaví, vážící v rozmezí 625-720 g.

Před nástřikem tekutiny byl každý potkan humánně usmrčen předávkováním barbiturátu (Penthabarbitol Exagon mg/1 ml) podaným injekčně do podkoží. Po uplynutí přibližně pěti minut byly zvířeti zkontrolovány reflexy způsobením bolestivého podnětu. Pakliže zvíře na podněty nereaguje a je tedy jisté, že mu nemůže být způsobena bolest, je přikročeno k odstranění kůže hrudi a následnému prostřížení sternu. V této chvíli zvířeti stále bije srdce a nedochází k rapidní koagulaci krve, která by mohla znesnadnit nebo zcela zabránit úspěšnému naplnění vaskulárního systému balzamovací tekutinou. Právě kvůli srážení krve je proto potřeba postupovat rychle.

Kanylou byl roztok zaveden do levé srdeční komory a nastříženo bylo pravé srdeční ouško, aby mohla krev zvířete volně odtékat a být nahrazena fixační tekutinou. Pumpou byl do těla zvířete rychlostí 300 ml/min aplikován balzamovací roztok. Po dosažení viditelné ztráty krve z oběhu a odkapávání balzamovací směsi z nosu, bylo zvíře přesunuto do plastového boxu označeného číslem roztoku, uloženo na záda otevřeným hrudníkem vzhůru, překryto kompletně gázou a zalito imerzní tekutinou tak, aby bylo částečně ponořeno a gáza se nasákla roztokem.

U Thielova roztoku jsme využili toho, že byla Biomedicínským centrem dána k dispozici dvě zvířata a aplikovali roztok na obě pro srovnání. Podrobnější přehled postupu nástřiků lze vidět v Tabulce 4.

**Tabulka 4:** Přehled nástřiků zvířat. Uvedeno je datum nástřiku, pohlaví zvířete, hmotnost zvířete v gramech, objem infuzního roztoku v ml a objem roztoku lázně v ml.

Zvíře č.	Fixativum	Datum	Pohlaví	Hmotnost (g)	Infuze (ml)	Lázeň (ml)
001	Stávající roztok FA (15 % FA)	03.09.2021	M	670	300	700
002	40 % ZnCl <sub>2</sub>	03.09.2021	M	720	300	700
003	modifikace 001 (FA do 7 %)	16.11.2021	M	615	300	700
004	modifikace 001 (FA do 5 %)	16.11.2021	M	613	300	700
005	Thielův roztok	16.02.2022	M	625	300	700
006	Thielův roztok	16.02.2022	M	630	300	700

## 5.5 Kontrola preparátů

Preparáty v plastových boxech byly uloženy na šerém místě za pokojové teploty. V průběhu výzkumu byl každý preparát třikrát kontrolován (s výjimkou 005 a 006, kde z časových důvodů třetí kontrola teprve proběhne), byla odkryta gáza a potkan vyjmut z lázně ke kontrole nebo odběru vzorků. Slovně byly zaznamenávány poznámky ohledně změn v zápachu, změn barvy, pohyblivosti v kloubech, komfortu manipulace s tělem zvířete, ale i celkový dojem z práce.

U pohyblivosti v kloubu nebylo možné využít standardního goniometru, jako by tomu bylo u těla mrtvého lidského dárce, velikost zvířete totiž umožňuje jen velmi omezenou manipulaci. Z tohoto důvodu byl jemnou manipulací končetinami pohmatem zjišťován odpor, který končetina klade při vychýlení do různých směrů a při pokusu o rotaci. Výsledek byl slovně podrobně zaznamenán.

Při hodnocení barvy byl zhodnocen odklon od stavu za života, nebo bezprostředně po usmrcení zvířete. Hodnocení bylo opět podobě zapsáno a mimo jiné pořízeny fotografie. Zápach byl hodnocen čistě subjektivně, s důrazem na komfort práce s preparátem a případné iritující prvky výparů.

Vzhledem k tomu, že mimo tyto kontroly bylo nutné ze zvířat odebrat vzorky pro mikrobiologii a elastografii, byla hodnocena i míra obtížnosti takové manipulace.

## 5.6 Mikrobiologie

Po dvou měsících od balzamování zvířete byly preparáty testovány na přítomnost mikroorganismů a plísní. Odběrovými sadami byly z každého potkana setřeny tři vzorky. První odběr byl nabrán z nosní sliznice. Druhý z oblasti srdce, která zůstala otevřena po procesu nástřiku tekutiny přes srdeční komoru. Třetí vzorek byl odebrán z břišní dutiny z oblasti trávicího ústrojí. K jeho odběru je nutné na zvířatech provést podlouhlý řez ve spodní části břicha. Oblasti, ze kterých byly vzorky odebrány jsou záměrně vybrány tak, aby pokryly různé typy tkáně a prostředí (Balta et al. 2019). Takto odebrané vzorky jsme předali na Ústav mikrobiologie fakultní nemocnice v Plzni, kde proběhla jejich kultivace. Vyšetřením byla zjišťována přítomnost aerobních i anaerobních bakterií a plísní.

## 5.7 Elastografie

Pro hodnocení změn elasticity tkáně jsme využili metodu USG elastografie v prostorách Kliniky zobrazovacích metod Biomedicínského centra LF UK. Pro hodnocení byly z těla potkanů odebrány čtyři orgány odlišné buněčné struktury: srdce, plíce, játra a sval. Z již otevřeného hrudníku bylo vyjmuto srdce, odstřižen z něj byl *apex cordis*. Z plic byl odebrán jeden plicní lalok. Z jater zvířat byla odstřižena část *lobus*

*medianus*. Sval jsme odebrali ze zadní strany stehna zadní končetiny. Objem odebrané tkáně u každého orgánu odpovídal zhruba 1 cm<sup>3</sup>. Hruď zvířete zůstala otevřena již z balzamování, pro odběr jater bylo nutné otevřít břišní dutinu.

Pro vyšetření elasticity USG přístrojem je vyžadováno umístění tkáně v sonorním, izotropním prostředí a preparát se nesmí dotýkat stěn nádoby. Toho bylo dosaženo zalitím připravených tkáňových bloků do potravinářského želé. Na několikacentimetrovou vrstvu částečně zatuhlého želé byl umístěn orgán a následně zalit zbytkem želatiny do potřebné výšky tak, aby z každé strany nádoby zůstalo volné místo.

Při samotném vyšetření byla použita shear wave elastografie, konvexní sonda 3,5 MHz. Měřena byla kvantifikace tuhosti v m/s a kPa. Každý připravený bloček orgánu byl měřen 10x a výsledek všech měření následně zprůměrován.

## 6 VÝSLEDKY

### 6.1 Výsledky pozorování

Pozorování stavu preparátů v jednotlivých fixačních roztocích bylo prováděno celkem třikrát, v rozestupu 3-5 týdnů. Hodnocena byla pohyblivost v kloubu, barva preparátu a jeho zápach, obtížnost manipulace se vzorkem a celkový dojem z práce.

#### 6.1.1 Roztok 001

Roztok 001, ústavní roztok FA, při první kontrole způsobil celkové ztuhnutí těla zvířete, s výjimkou distální části ocasu. Končetinami bylo pohybováno ve všech kloubech, nicméně pohybu nebylo možné dosáhnout bez vynaložení poměrně velké síly, při jejíž použití by pravděpodobně došlo k poničení tkáně nebo vykloubení končetiny. Hlavou taktéž nešlo manipulovat.

Barva preparátu se téměř nezměnila, pokud jde o kůži a srst. Původně bílá barva srsti zvířete zůstala stejná. Patrné změny se objevily v oblasti hrudi, otevřené při balzamování. Zde došlo ke zesvětlení tkáně původně sytě zbarveného srdce. Došlo k zašednutí v celé otevřené oblasti.

Zápach vzorku nesl pouze výrazné stopy formaldehydu, zcela bez známek biologického zápachu ze zvířete nebo možného zahnívání. Manipulace se vzorkem byla ztížena ztvrdnutím a vysušením tkáně, potíže činilo také umístění zvířete do jiné polohy než do polohy, ve které bylo fixováno.

Vzorek 001 vykazoval nevykazoval u druhé kontroly výrazné změny. Patrné byly známky dalšího ztuhnutí končetin. Deformace torza v poloze, ve které bylo fixována přetrvávala. Při řezu do dutiny břišní za účelem odběru vzorků pro mikrobiologii klade tkáň břicha značný odpor.

Z estetického hlediska vzorek zůstaly téměř totožný s prvním pozorováním. Zápach formaldehydu přetrvával ve stejné míře, při práci bylo nutné větrat. Třetí pozorování vzorku 001 bylo taktéž téměř beze změny, bez známky rozkladu či plesnivění. Při odběru orgánů pro elastografii bylo snadné rozlišit jednotlivé orgány. Při odběru svalů bylo možné svalovou tkáň elektivně oddělit od kůže a podkoží, neporušené zůstaly také plíce i játra. Srdce bylo vyjmuto bez větších obtíží z již otevřené hrudi.

### **6.1.2 Roztok 002**

Roztok 002 při první kontrole na rozdíl od vzorku 001 sice vykazoval známky ztuhlosti, nicméně s končetinami bylo možné pohnout do addukce. Klouby všech končetin byly volnější, avšak ne na úrovni stavu za života.

Na otevřené části hrudníku bylo zřejmé začernání tkáně, včetně srdce a sternu. Na srsti a kůži zvířete nebyly znatelné žádné změny, barva nosu zůstává stejná.

Roztok 002 se vyznačoval značně nepříjemným, nakyslým zápachem připomínajícím rozklad. Roztok  $ZnCl_2$  je ve své původní podobě charakteristický oděrem thymolu, který v této chvíli již nebyl znatelný.

Druhé pozorování vzorku odhalilo zesílení ztuhlosti kloubů zvířete, na rozdíl od 001 však zůstala mírná pohyblivost do všech směrů. Torzo zvířete zůstalo tvárné, neztuhlo v jedné poloze jako u kontrolního vzorku.

Barva tkání, kromě téměř nezměněné barvy srsti a kůže, podlehl zjevně viditelné změně, vnitřní orgány se zbarvily do šeda až černa. Celková barva tkání byla jednolitá, velmi nepodobná stavu za života. Pohledem lze tušit na tkáních přítomnost plísní.

Zásadním nedostatkem tohoto roztoku se už při druhém (a následně pak třetím) pozorování ukázal být nepříjemný zápach, který postupem času sílil. Původní odér roztoku byl již zcela neznatelný a byl překryt velmi intenzivním odérem celého vzorku. Ten nejen, že značně ovlivňuje celkový komfort práce, ale také nutí k odvětrávání, přesto, že roztok jinak neobsahuje žádné toxické složky, které by vyžadovaly ventilaci z důvodu bezpečnosti práce.

Při manipulaci a odběru vzorku pro mikrobiologii byl proveden řez do dutiny břišní bez velkých obtíží. Při odběru orgánů pro elastografii dva měsíce po fixaci byla distální část jedné z hrudních končetin nalezena ve stavu částečného oddělení od těla a při manipulaci, ač šetrné, zcela odpadla. Odběr srdce byl snadný, orgán zůstal v celistvé podobě. Preparace svalů odhalila problém se soudržností svalové tkáně, která se při manipulaci snadno trhala. Játra zvířete byla zašedlá a pokrytá tekutinou. Celkový stav orgánů nebyl podobný stavu za života, dutina břišní podléhala zjevnému rozkladu, jednotlivé orgány, zejména trávicí ústrojí se „vpíjely“ do sebe navzájem. Plíce byly vlivem rozkladu téměř nerozlišitelné od okolní tkáně, odebrána byla zbytková tkáň z pravé strany hrudního koše.

### **6.1.3 Roztoky 003 a 004**

U roztoku 003 a roztoku 004 (oba se sníženým obsahem formaldehydu) se při první kontrole nijak nelišili co se týče pohyblivosti v kloubech. Svým charakterem byly velmi podobné vzorku číslo 001. Těla potkanů zůstala deformovaná v poloze, ve které byla uložena a nebylo možné je bez použití síly navrátit do přirozené formy, aniž by došlo k poškození preparátu.



Pokud mělo zvíře při fixaci otevřené oči, došlo k jejich výraznému zblednutí, až do světle šedé barvy. Otevřená část hrudi v obou případech zbledla, podobně jako u kontrolního vzorku. Srst se u obou vzorků zbarvila do žluta, u 004 méně. V tomto případě nevylučujeme možnost odchylky způsobené typem zvířete.

Vzorek byl v obou případech cítit pouze formaldehydem, jeho odér však nebyl tolik výrazný jako u kontrolního roztoku. Oba vzorky reagovaly na první pohled velmi podobně až stejně. Na první pohled nebyly znatelné žádné známky hnití nebo rozkladu.

U roztoků 003 a 004 se u druhé a třetí kontroly neprojevily žádné očitelné změny napovídající rozkladu či hnití. Oba vzorky také reagovaly stejně na zkoušku hybnosti kloubů. Končetiny zůstaly částečně pohyblivé, bez vynaložení velké síly, ztuhnutí těla bylo nicméně stále patrné. Hlava obou zvířat zůstala „spojena“ nehybně s tělem.

Změnu bylo možné zaznamenat při kontrole barvy. Oba vzorky projevily další postup blednutí tkání, u vzorku 004 o něco méně. Přetrvalo mléčné zabarvení očí zvířat a také zežloutnutí srsti. Zápach obou preparátů stále připomínal pouze formaldehyd, subjektivně se dá říci, že nižší koncentrace formaldehydu v roztoku 004 působí o něco méně dráždivě než u vzorku 003. Rozhodně je však šetrnější než u kontrolního roztoku 001, nezpůsobuje například slzení očí nebo „štípání“ nosní sliznice.

Preparáty 003 a 004 je v konečném výsledku možné subjektivně prohlásit za téměř totožné. U obou vzorků proběhla bezproblémově jak extrakce orgánů pro elastografii, tak odběr pro mikrobiologii. Při řezu do dutiny břišní nekladla tkáň takový odpor jako u velmi tuhého vzorku 001.

Odběr orgánů lze označit za totožný s preparátem 001, orgány zůstaly celistvé, snadno odlišitelné a bylo možné je odebrat rychle a přehledně.

#### **6.1.4 Thielův roztok**

Preparáty 005 a 006 fixované Thielovým roztokem při první kontrole vykazovaly pohyblivost kloubů nejvíce podobnou stavu za života. S končetinami bylo možné pohybovat do všech směrů i v cirkumdukci, nicméně stále nedosahovaly plného rozsahu dosažitelného za života zvířete, aniž by musela být vynaložena nadměrná síla. Hlava obou zvířat byla zachována pohyblivá.

U obou vzorků 005 a 006 při první kontrole nedošlo k výraznému zblednutí ani sjednocování barvy tkání. V otevřené oblasti hrudi byly patrné známky tmavnutí způsobeného sražením zde ponechané krve. Zaplísňení nebo změny rozkladem nebyly na první pohled patrné. Na rozdíl od všech předchozích preparátů bylo možné otevřít oči zvířat, které zůstaly v obou případech tmavé, s mírným zakalením. Stejně jako u formaldehydových roztoků došlo k zežloutnutí srsti zvířat.

U druhé kontroly byly preparáty nalezeny zcela beze změny. V obou případech lze ocenit téměř neexistující odér roztoku, ve kterém je, subjektivně, nejvíce znatelný zápach etanolu. I v nevětrané místnosti nezpůsobuje podráždění očí, který se, zejména u delší práce při extrakci orgánů, vyskytl u vzorku 001. Vizually bylo patrné pouze zežloutnutí srsti zvířat u obou vzorků, zejména u oblastí zcela ponořených do roztoku. Barvy zůstaly zachovány, vzájemná rozlišitelnost tkání zůstala výborná.

Při odběru vzorků mikrobiologie z břicha překvapila měkkost tkáně při řezu do břišní dutiny. Kůže a podkoží zůstaly pružné, ve srovnání s řezem při balzamování téměř totožně. Volná kůže na břicho zůstala snadno

oddělitelná od svalové tkáně pod ní. Svaly zůstaly taktéž pružné. Extrakce orgánů pro elastografické vyšetření proběhla bez problémů. Odebírané orgány byly od sebe snadno odlišitelné jak barevně, tak strukturálně, pozitivně překvapil stav trávicího ústrojí, jehož jemné struktury zůstaly neporušené.

## 6.2 Výsledky mikrobiologického vyšetření

Po měsíci až sedmi týdnech od balzamování byly z těl balzamovaných zvířat odebrány vzorky k mikrobiologickému vyšetření. Z každého preparátu byly odebrány tři vzorky, z nosní sliznice, otevřené části hrudi a břišní dutiny. Ve FN Plzeň Lochotín bylo následně provedeno vyšetření na přítomnost plísní, aerobních a anaerobních mikroorganismů.

Vzorek 001 měl všechny výsledky negativní, balzamovací a dezinfekční účinky roztoku lze tedy považovat za výborné. V tomto případě byl výsledek očekávatelný, s ohledem na to, že je roztok již léta používán, aniž by byly zaznamenány vážné potíže s plesnivěním nebo rozkladem.

Kultivace u vzorku 002 taktéž ukázala negativní výsledek u nosní sliznice a srdce, v dutině břišní byla nalezena bakterie typu *enterococcus species*. *Enterococcus* je genus obsahující více než 38 typů bakterie vyskytující se běžně v lidském těle i těle jiných savců (Vu a Carvalho 2011). Podobný nález byl učiněn například při výzkumu neformaldehydových roztoků pro veterinární praxi, konkrétně v oblasti trávicího ústrojí balzamované kočky. Autoři studie uvádějí, že rozklad trávicího traktu je po smrti obzvláště rapidní, zejména z důvodu již existující mikrobiální populace. Schopnost přežít v antimikrobiálních podmínkách jak aerobního, tak anaerobního charakteru, je podle autorů výsledkem obecného trendu resistance vůči antibiotickým

a antimikrobiálními látkami jak u lidí, tak zvířat a mělo by být bráno v úvahu při volbě balzamovacího roztoku (Preetha Menon et al. 2021). Skutečností zůstává, že se vzorek 002 nevyznačoval závažným bakteriálním osídlením. Tento fakt byl poněkud zarážející, vzhledem ke změně barvy preparátu připomínající plísňové kolonie a celkovým vizuálním stavem balzamovaného zvířete. Je tedy vhodné položit si otázku z jakého důvodu docházelo k tak nápadnému rozmělnění vnitřních orgánů, pakliže nebyl tento rozklad nebyl způsoben mikrobiálně.

Vzorky z preparátu 003 ukázaly ve všech třech případech negativní výsledky. U vzorků z preparátu 004 byly vzorky z nosní sliznice a dutiny břišní také negativní, ze vzorku z oblasti srdce byly vykultivovány bakterie typu *Staphylococcus epidermis*. Podobně jako u *enterococcus species* mluvíme o bakterii přirozeně se vyskytující v těle, v tomto případě na kůži. Jedná se o koaguláza negativní stafylokoky, které jsou přítomny ve více než 32 % vzorků krve pacientů hospitalizovaných s nozokomiálními infekcemi krve. Vyznačuje se vysokou resistencí na antibiotika (Raad et al. 1998).

Přesto, že byly odběry prováděny sterilními sadami a v rukavicích, bylo pracovištěm FN provádějícím odběry sděleno, že není možné vyloučit kontaminaci při odběru. Tento faktor by tedy měl hrát roli při interpretaci výsledků.

Výsledky všech stěrů ze vzorků 005 a 006 byly negativní ve všech zkoumaných parametrech. Finální shrnutí výsledků mikrobiologie je zaznamenáno v Tabulce 3.

**Tabulka 5:** Přehled výsledků mikrobiologie ze tří oblastí vzorků 001-006. \*neg. = negativní

	<b>001</b>	<b>002</b>	<b>003</b>	<b>004</b>	<b>005</b>	<b>006</b>
nosní sliznice	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
dutina břišní	neg.	<i>E. species</i>	neg.	neg.	neg.	neg.
srdce	neg.	neg.	neg.	<i>S. epidermis</i>	neg.	neg.

V současné chvíli lze výsledky mikrobiologie interpretovat jako uspokojivé, a to u všech dosavadně testovaných roztoků. Pozitivem je v každém případě zjištění, že ani zásadní snížení obsahu formaldehydu v roztoku nemá vliv na kvalitu fixace. Snížení jeho koncentrace se tedy nabízí jako jedna z alternativ na cestě k menší zdravotní závadnosti balzamování. Zcela negativních výsledků dosáhl krom kontrolního vzorku roztok se sníženou koncentrací formaldehydu 003 a Thielův roztok u obou fixovaných vzorků.

### 6.3 Výsledky elastografie

Vyšetření tkání USG bylo vyhodnoceno v m/s a přepočítáno na kPa. Nižší hodnota kPa ukazuje na vyšší elasticitu daného orgánu. Průměry deseti pořízených snímků u každého ze čtyř vzorků tkání srovnává Tabulka 6.

**Tabulka 6:** Průměrná elasticita v kPa u orgánů vzorků 1-6

Potkan č.	Průměrná elasticita v kPa			
	Srdce	Plíce	Sval	Játra
001	74,5	103,2	124,9	83,20
002	124,6	99,4	102	94,8
003	37,6	39,1	71,8	27,7
004	33,67	46,6	82,4	32,04
005	17,8	24,7	42,4	15,2
006	45,6	17,9	21,2	12,4

Z naměřených hodnot je patrné, že vzorky fixované roztoky s menším obsahem formaldehydu vykazují vyšší elasticitu. Výjimkou je roztok 002, který, ač zcela bez obsahu formaldehydu, dosáhl vyšších hodnot, než například roztoky 003 a 004, zejména pak při vyšetření srdce.

Mezi zkoumanými roztoky dosáhl nejpříznivějších výsledků Thielův roztok. Jím fixované tkáně si u vzorku 005 i 006 zachovaly vysokou elasticitu. Výjimkou je měření srdce u potkana 006, kde hodnota dosahuje 45,6 kPa, oproti 17,8 kPa naměřených u vzorku 005 fixovaného stejnou látkou. V ohledu zachování elasticity tkání Thielova balzamovací metoda dostala své reputaci a skutečně zanechala fixované tkáně měkké a podobné stavu za života.

## 7 ZÁVĚR

V závěru práce bych ráda zodpověděla výzkumné otázky, které jsme definovali v začátku, zhodnotila pozitivní i negativní aspekty svého výzkumu a nastínila možnosti dalšího pokračování práce.

V současné chvíli lze tvrdit, že dva zkoumané roztoky se sníženým obsahem formaldehydu, jsou, co se týče antibakteriálního působení a celkové úrovně fixace, srovnatelné s roztokem kontrolním. Pokud jde o ostatní ostatních zkoumané parametry, nabízejí dokonce realističtější zachování „živého“ vzhledu preparátu, aniž by bylo lepší zachování barev a elasticita kompenzováno nižší kvalitou ostatních testovaných vlastností.

Roztok 002, zcela bez formaldehydu a jiných dráždivých látek, nedosáhl celkově dobrých výsledků. Porovnáme-li naše výsledky s výsledky z literatury, dají se označit za podprůměrné až nevydařené. Ačkoliv nelze vyloučit, že byl celkový neúspěch při fixaci roztokem 002 způsoben náhodnou shodou okolností nebo nestandardním chováním tkáně, kterou nelze při pokusu na jednou zvířeti odhalit, výsledky nejsou oproti jiným zkoumaným roztokům dostatečně přesvědčivé na to, abychom byli motivováni s ním pracovat dál.

Na základě dosavadního výzkumu lze tvrdit, že obsah formaldehydu v roztoku snižuje komfort práce zejména svým nepříjemným oděrem a výpary dráždícími oči a sliznice. Tento závěr, ač zdánlivě banální, poukazuje na skutečnost, že daný faktor nelze přejít bez povšimnutí. Je-li totiž i krátká práce s tak malým preparátem, jako je balzamované tělo potkana, znatelně nepříjemná, není těžké si představit, jak působí na pitevnách bez dostatečného odvětrávání, nebo přímo v prostorách, kde jsou těla macerována. Jako řešení se nabízí se možnost snížení obsahu formaldehydu, což bylo naším záměrem od začátku, nebo alespoň

důsledné zajištění ventilace v pracovních prostorách, nošení ochranných pomůcek a dodržování bezpečnosti práce zejména s ohledem na dobu strávenou v místnosti s toxickou látkou. Pokud by se nepodařilo dosáhnout úplného odstranění formaldehydu z balzamovacího roztoku, ideálním řešením by byla kombinace obojího zmíněného, tedy zvýšení opatření i pokus o snížení koncentrace v roztocích.

Z dat, které jsme doposavad získali, pochopitelně není možné vyslovit finální závěr, co do vhodnosti jednotlivých roztoků pro každodenní praxi. V této chvíli nicméně můžeme vybrat směsi, se kterými by bylo do budoucna dále pracovat.

Thielův roztok oproti ostatním směsím vynikal realistickým charakterem fixovaných tkání a téměř žádným zápachem, práce s ním byla po všech stránkách zatím příjemná a bezproblémová, a to u obou fixovaných zvířat. Z dostupných zdrojů je patrné, že by Thielova balzamovací směs neměla způsobovat zdravotní potíže. Stejně jako u ostatních roztoků bychom pochopitelně byli schopni získat ucelenější představu o charakteru této fixační látky po balzamování dalších zvířat.

Dostupnost některých složek Thielova roztoku a celková komplexita přípravy bohužel poněkud neguje jinak výborné výsledky na poli zachování elasticity a výborných antimikrobiálních účinků. Cena roztoku je podstatně vyšší než původní směs formaldehydu. Lze očekávat, že by se při jeho objednání ve velkém množství finanční náklady snížily, výsledná částka by nicméně stále značně přesahovala cenu dosavadního roztoku. Namíchání Thieleho směsi je bez předchozí zkušenosti s podobnou činností komplikované až nemožné a probíhalo za asistence laborantky. V současné chvíli je bohužel nepravděpodobné, že by Thielův roztok mohl být na Anatomickém ústavu LF UK využíván pravidelně, nebo zcela



nahradil roztok dosavadní, a to právě kvůli vysoké ceně a chybějícím organizačním možnostem v oblasti míchání a uchovávání takového roztoku ve větším množství. Realisticky by se však dalo předpokládat možné využití pro specifické případy tam, kde formaldehydový roztok nebude dostačovat.

Jako realistická volba pro další výzkum se jeví oba roztoky se sníženým obsahem formaldehydu (003 a 004). Jelikož se ukázalo, že značné snížení FA v roztoku nemá vliv na bakteriální ani plísňové osídlení preparátu, a zároveň je lépe zachována barva i elasticita tkání, bylo by vhodné stejný roztok, ideálně v podobě 004, aplikovat na více jedinců a pozorovat je dlouhodoběji. Za výhodu tohoto roztoku považují taktéž volnou dostupnost a snadné míchání, které lze provést téměř v jakémkoliv dobře odvětraném prostoru i bez předchozí znalosti postupů. Po zvážení všech faktorů se proto nejstřízlivěji jeví možnost dále zkoumat roztoky se zásadně sníženým obsahem formaldehydu, a to v současné čtyřsložkové podobě a experimentovat s poměrem jednotlivých přísad. Adresován by dále měl být obsah alkoholu ve vztahu k těkavosti celého roztoku, případně výzkum látek, které mohou vylepšit elasticitu.

V průběhu výzkumu bylo nutné udělat několik ústupků. V tomto případě se nejednalo pouze o odchylku od prvotního plánu pracovat s těly dárců, které nám bylo znemožněno aktuální epidemiologickou situací, ale především o překážky související s experimentálním charakterem práce.

Právě proto, že se v našem prostředí, alespoň podle našich současných informací, jedná o pilotní studii, nebylo možné předvídat některé situace, tak jako by tomu bylo u postupů s jasně ustanovenou metodikou. Vzhledem k tomu, že byla podstatná část výzkumu závislá na spolupráci s jinými pracovišti, museli jsme počítat s jistými omezeními.

Například počet využitých laboratorních zvířat musel respektovat etické a celkově provozní podmínky zvěřince Biomedicínského centra, nebylo tedy možné balzamovat větší počet potkanů ve stejnou dobu. Omezeny byly také časové možnosti jednotlivých pracovišť.

Pakliže bude projekt dál rozvíjen, vhodným krokem by bylo přistoupit k fixací větších zvířat a po testu objemnějších preparátů balzamovat i těla lidských dárců. Pro hodnocení vizuálních změn a změn zápachu navrhuji do budoucna využít hodnocení nezávislých osob ve větším počtu, a to ideálně na neoznačených vzorcích.

V závěru si dovoluji tvrdit, že se nám v průběhu výzkumu podařilo získat základní přehled o širokých možnostech nabízejících se v oboru balzamování a naznačit směr, kterým je možné se v prostředí LF UK dále ubírat. Metody fixace si z mého pohledu v ČR zaslouží zásadní modernizaci a více prostoru. Každé, byť nepatrné, zvýšení povědomí o tematice balzamování, jeho možnostech a zdravotních rizicích, je krokem k bezpečnějším a efektivnějším metodám.



## 8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY A PRAMENŮ

### 8.1 Internetové zdroje

AJILEYE, Ayodeji Blessing, Ebenezer Olubunmi ESAN a Oluwakemi Abidemi ADEYEMI, 2018. Human Embalming Techniques: A Review. *American Journal of Biomedical Sciences* [online]. 82–95. ISSN 19379080. Dostupné z: doi:10.5099/aj180200082

ARRIAZA, Bernardo T, 1995. Chinchorro Bioarchaeology : Chronology and Mummy Seriation CHINCHORRO BIOARCHAEOLOGY : CHRONOLOGY AND MUMMY SERIATION. *Latin American Antiquity*. 6(1), 35–55.

AUNG, Win-Yu, Hironari SAKAMOTO, Ayana SATO, Ei-Ei-Pan-Nu YI, Zaw-Lin THEIN, Myint-San NWE, Nanda SHEIN, Htin LINN, Shigehisa UCHIYAMA, Naoki KUNUGITA, Tin-Tin WIN-SHWE a Ohn MAR, 2021. Indoor Formaldehyde Concentration, Personal Formaldehyde Exposure and Clinical Symptoms during Anatomy Dissection Sessions, University of Medicine 1, Yangon. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 18(2), 712. ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph18020712

BALTA, J.y., J.f. CRYAN a S.m. O'MAHONY, 2019. The antimicrobial capacity of embalming solutions: a comparative study. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 126(3), 764–770. ISSN 1365-2672. Dostupné z: doi:10.1111/jam.14191

BENKHADRA, Mehdi, Julien GÉRARD, Denis GENELOT, Pierre TROUILLOUD, Claude GIRARD, Friedrich ANDERHUBER a Georg FEIGL, 2011. Is Thiel's embalming method widely known? A world survey about its use. *Surgical and Radiologic Anatomy* [online]. 33(4), 359–363. ISSN 0930-1038, 1279-8517. Dostupné z: doi:10.1007/s00276-010-0705-6

BILGE, Okan a Servet CELIK, 2017. Cadaver embalming fluid for surgical training courses: modified Larssen solution. *Surgical and Radiologic Anatomy* [online]. 39(11), 1263–1272. ISSN 0930-1038, 1279-8517. Dostupné z: doi:10.1007/s00276-017-1865-4

BISWADEEP, Paul a AJ PATOWARY, 2016. Embalming: The Art of Preserving the Dead. 2016. 02(01), 10–14. ISSN 2454-5139.

BLAIR, Aaron, Rodolfo SARACCI, Patricia A STEWART, Richard B HAYES a Carl SHY, 1990. Epidemiologic evidence on the relationship between formaldehyde exposure and cancer. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. **16**(6), 381–393. ISSN 0355-3140.

BRENNER, Erich, 2014. Human body preservation - old and new techniques. *Journal of Anatomy* [online]. **224**(3), 316–344. ISSN 00218782. Dostupné z: doi:10.1111/joa.12160

COLLINS, James J., Roberta NESS, Rochelle W. TYL, Neil KRIVANEK, Nurtan A. ESMEN a Thomas A. HALL, 2001. A Review of Adverse Pregnancy Outcomes and Formaldehyde Exposure in Human and Animal Studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* [online]. **34**(1), 17–34. ISSN 02732300. Dostupné z: doi:10.1006/rtph.2001.1486

ČESKO. § 26 odst. 1 písm. e) zákona č. 256/2001 Sb., o pohřebnictví a o změně některých zákonů - znění od 1. 2. 2022. In: *Zákony pro lidi.cz* [online]. © AION CS 2010-2022 [cit. 21. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-256#p26-1-e>

EISMA, R., C. LAMB a R.W. SOAMES, 2013. From formalin to thiel embalming: What changes? One anatomy department's experiences: Experiences With Thiel Embalming. *Clinical Anatomy* [online]. **26**(5), 564–571. ISSN 08973806. Dostupné z: doi:10.1002/ca.22222

FERUS, Martin a Jaroslav CIHELKA, 2008. FORMALDEHYD V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ – STANOVENÍ FORMALDEHYDU METODOU LASEROVÉ A FOTOAKUSTICKÉ DETEKCE. *Chem. Listy*. 10.

FOLTYN, Jacque Lynn, 2008. The corpse in contemporary culture: Identifying, transacting, and recoding the dead body in the twenty-first century. *Mortality* [online]. **13**(2), 99–104. ISSN 1357-6275, 1469-9885. Dostupné z: doi:10.1080/13576270801954351

FOX, C H, F B JOHNSON, J WHITING a P P ROLLER, 1985. Formaldehyde fixation. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* [online]. **33**(8), 845–853. ISSN 0022-1554. Dostupné z: doi:10.1177/33.8.3894502

FRIŠHONS, Jan, Jan KRAJSA a Tomáš KOČÍ, [b.r.]. Zoologické preparáty pro výuku přírodovědy, přírodopisu a biologie 1. Tekutinové preparáty. 3.

GHOSH, Sanjib Kumar, 2020. The practice of ethics in the context of human dissection: Setting standards for future physicians. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* [online]. **232**, 151577. ISSN 0940-9602. Dostupné z: doi:10.1016/j.aanat.2020.151577

GOODARZI, Nader, Ghasem AKBARI a Payam RAZEGHI TEHRANI, 2018. Zinc Chloride, A New Material for Embalming and Preservation of the Anatomical Specimens. *Anatomical Sciences Journal*. **15**(1), 25–30.

HAGENS, Gunther, Klaus TIEDEMANN a Wilhelm KRIZ, 1987. The current potential of plastination. *Anatomy and Embryology* [online]. **175**(4), 411–421. ISSN 0340-2061, 1432-0568. Dostupné z: doi:10.1007/BF00309677

HAMMER, Niels, Sabine LÖFFLER, Christine FEJA, Mara SANDROCK, Wolfgang SCHMIDT, Ingo BECHMANN a Hanno STEINKE, 2012. Ethanol-glycerin fixation with thymol conservation: A potential alternative to formaldehyde and phenol embalming. *Anatomical Sciences Education* [online]. **5**(4), 225–233. ISSN 1935-9780. Dostupné z: doi:10.1002/ase.1270

HAUPTMANN, M., P. A. STEWART, J. H. LUBIN, L. E. BEANE FREEMAN, R. W. HORNUNG, R. F. HERRICK, R. N. HOOVER, J. F. FRAUMENI, A. BLAIR a R. B. HAYES, 2009. Mortality From Lymphohematopoietic Malignancies and Brain Cancer Among Embalmers Exposed to Formaldehyde. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* [online]. **101**(24), 1696–1708. ISSN 0027-8874, 1460-2105. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/djp416

CHÉNIER, Robert, 2003. An Ecological Risk Assessment of Formaldehyde. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* [online]. **9**(2), 483–509. ISSN 1080-7039, 1549-7860. Dostupné z: doi:10.1080/713609919

CHIAPPELLI, Jeremiah a Ted CHIAPPELLI, 2008. Drinking Grandma: The Problem of Embalming. *Journal of Environmental Health*. **71**(5), 24–29. ISSN 0022-0892.

JONES, D. Gareth, 1997. Reassessing the importance of dissection: A critique and elaboration. *Clinical Anatomy* [online]. **10**(2), 123–127. ISSN 1098-2353. Dostupné z: doi:10.1002/(SICI)1098-2353(1997)10:2<123::AID-CA9>3.0.CO;2-W

JOY, Joyce, Graeme MCLEOD, Nhan LEE, Shilpa MUNIRAMA, George CORNER, Roos EISMA a Sandy COCHRAN, 2015. Quantitative assessment of Thiel soft-embalmed human cadavers using shear wave elastography. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* [online]. **202**, 52–56. ISSN 09409602. Dostupné z: doi:10.1016/j.aanat.2015.06.007

KUTSCHERA, Walter a Werner ROM, 2000. Ötzi, the prehistoric Iceman. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* [online]. **164–165**, 12–22. ISSN 0168583X. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-583X(99)01196-9

LENTZ, Carola, 2017. Culture: the making, unmaking and remaking of an anthropological concept. *Zeitschrift für Ethnologie*. **142**(2), 181–204. ISSN 0044-2666.

LONE, Mutahira, Joseph P. MCKENNA, Joy Y. BALTA, Siobhain M. O'MAHONY, John F. CRYAN, Eric J. DOWNER a André TOULOUSE, 2017. Assessment of Thiel-Embalmes Cadavers as a Teaching Tool for Oral Anatomy and Local Anesthesia. *Journal of Dental Education* [online]. **81**(4), 420–426. ISSN 00220337. Dostupné z: doi:10.21815/JDE.016.012

MACDONALD, Gordon J. a Douglas B. MACGREGOR, 1997. Procedures for Embalming Cadavers for the Dissecting Laboratory. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* [online]. **215**(4), 363–365. ISSN 0037-9727. Dostupné z: doi:10.3181/00379727-215-44144

MARTÍN-GIL, J., F. J. MARTÍN-GIL, G. DELIBES-DE-CASTRO, P. ZAPATERO-MAGDALENO a F. J. SARABIA-HERRERO, 1995. The first known use of vermilion. *Experientia* [online]. **51**(8), 759–761. ISSN 0014-4754, 1420-9071. Dostupné z: doi:10.1007/BF01922425

MOORE, Charleen M. a C. Mackenzie BROWN, 2004. Gunther von Hagens and Body Worlds part 2: The anatomist as priest and prophet. *The Anatomical Record Part B: The New Anatomist* [online]. **277B**(1), 14–20. ISSN 1552-4914. Dostupné z: doi:10.1002/ar.b.20005

MOORE, L. Lamont a Eugene C. OGRODNIK, 1986. Occupational Exposure to Formaldehyde In Mortuaries. *Journal of Environmental Health*. **49**(1), 32–35. ISSN 0022-0892.

MUSIAŁ, Agata, Ryszard W. GRYGLEWSKI, Stanislas KIELCZEWSKI, Marios LOUKAS a Justyna WAJDA, 2016. Formalin use in anatomical

and histological science in the 19th and 20th centuries. *Folia Medica Cracoviensia*. **56**(3), 31–40. ISSN 0015-5616.

NIELSEN, Nina H., Peter Steen HENRIKSEN, Morten Fischer MORTENSEN, Renée ENEVOLD, Martin N. MORTENSEN, Carsten SCAVENIUS a Jan J. ENGHILD, 2021. The last meal of Tollund Man: new analyses of his gut content. *Antiquity* [online]. **95**(383), 1195–1212. ISSN 0003-598X, 1745-1744. Dostupné z: doi:10.15184/aqy.2021.98

OTTONE, Nicolás Ernesto, Claudia A VARGAS, Ramón FUENTES a Mariano DEL SOL, 2016. Walter Thiel's Embalming Method: Review of Solutions and Applications in Different Fields of Biomedical Research. *International Journal of Morphology* [online]. **34**(4), 1442–1454. ISSN 0717-9502. Dostupné z: doi:10.4067/S0717-95022016000400044

PASHAEI, Shahyar, 2010. A Brief Review on the History, Methods and Applications of Plastination. *International Journal of Morphology* [online]. **28**(4), 1075–1079. ISSN 0717-9502. Dostupné z: doi:10.4067/S0717-95022010000400014

PREETHA MENON, , ADNAN ALDARWICH, , LAYALY HAMDAN, , MAHA HAMMOUD, a AHMAD AL AIYAN, 2021. Novel formaldehyde-free embalming fluid formulation for long-term preservation of cadavers for anatomy teaching. *2021* [online]. **33**(9), 718–725. Dostupné z: doi:10.9755/ejfa.2021.v33.i9.2753

RAAD, Issam, Amin ALRAHWAN a Kenneth ROLSTON, 1998. *Staphylococcus epidermidis*: Emerging Resistance and Need for Alternative Agents. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **26**(5), 1182–1187. ISSN 1058-4838, 1537-6591. Dostupné z: doi:10.1086/520285

REISCHER, Erica a Kathryn S. KOO, 2004. The Body Beautiful: Symbolism and Agency in the Social World. *Annual Review of Anthropology*. **33**, 297–317. ISSN 0084-6570.

SHRESTHA, Sunil, Saru BHATTARAI, Samyog MAHAT, Manisha JHA a Kapil AMGAIN, 2019. Embalming – History to its Recent Advancements. *Europasian Journal of Medical Sciences* [online]. **1**(1), 62–68. ISSN 2717-4654. Dostupné z: doi:10.46405/ejms.v1i1.15

SOUCHON, Edmond, 1908. Embalming of bodies for teaching purposes. *The Anatomical Record* [online]. **2**(6), 244–247. ISSN 0003-276X, 1097-0185. Dostupné z: doi:10.1002/ar.1090020605



TESFAYE, Solomon, Niguse HAMBABA, Wakjira KEBEDE, Mitiku BAJIRO, Lemessa DEBELA, Tihahun Alemayehu NIGATU a Asfaw GERBI, 2021. Assessment of Ethical Compliance of Handling and Usage of the Human Body in Anatomical Facilities of Ethiopian Medical Schools. *Pragmatic and Observational Research* [online]. **12**, 65–80. ISSN 1179-7266. Dostupné z: doi:10.2147/POR.S321646

THALI, Michael J., Christian JACKOWSKI, Lars OESTERHELWEG, Steffen G. ROSS a Richard DIRNHOFER, 2007. VIRTopsy – The Swiss virtual autopsy approach. *Legal Medicine* [online]. **9**(2), Special section: Forensic Pathology: New Concepts and Technologies, 100–104. ISSN 1344-6223. Dostupné z: doi:10.1016/j.legalmed.2006.11.011

TURNEY, Bw, 2007. Anatomy in a Modern Medical Curriculum. *The Annals of The Royal College of Surgeons of England* [online]. **89**(2), 104–107. ISSN 0035-8843, 1478-7083. Dostupné z: doi:10.1308/003588407X168244

VU, John a John CARVALHO, 2011. Enterococcus: review of its physiology, pathogenesis, diseases and the challenges it poses for clinical microbiology. *Frontiers in Biology* [online]. **6**(5), 357–366. ISSN 1674-7984, 1674-7992. Dostupné z: doi:10.1007/s11515-011-1167-x

WALTER, Tony, 2005. Three ways to arrange a funeral: Mortuary variation in the modern West. *Mortality* [online]. **10**(3), 173–192. ISSN 1357-6275. Dostupné z: doi:10.1080/13576270500178369

WEI, C. N., K. HARADA, S. OHMORI, Q. J. WEI, K. MINAMOTO a A. UEDA, 2007. Subjective symptoms of medical students exposed to formaldehyde during a gross anatomy dissection course. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* [online]. **20**(2 Suppl 2), 23–25. ISSN 0394-6320. Dostupné z: doi:10.1177/03946320070200S205

## **9 RESUMÉ**

This master's thesis addresses the issue of embalming anatomical specimens, mainly for educational and museum purposes. Considering the known carcinogenic properties of formaldehyde, my research aims to discover methods of tissue preservation that do not use formaldehyde as a main fixing agent.

The research shows, among other things, that formaldehyde content in embalming solutions can be significantly reduced without adversely affecting the antibacterial properties of the whole solution. The results also show increased elasticity of soft tissue and reduction of unpleasant odor in solutions with decreased formaldehyde.

In the future we strive to put the use of embalming fluids with low formaldehyde content into practice at Department of Anatomy of Charles University in Pilsen.

## 10 PŘÍLOHY

Příloha č. 1 – Druhá kontrola vzorku 002



Příloha č. 2 – Extrakce pro elastografii – 001





**Příloha č. 3 – Břišní dutina, extrakce pro elastografii, potkan 005**





**Příloha č. 4** – bloček připravený k elastografickému vyšetření, potkan 006, játra





**Příloha č. 5 – vyšetření USG sondou**



**Příloha č. 6** – sval zadní části stehna u potkana fixovaného Thielovým roztokem, odběr pro elastografii

