

# Impactul poluanților acvatici asupra histologiei peștilor: analiză digitală și cuantificare computerizată a leziunilor tisulare

-Raport de etapă II (Iulie - Decembrie 2025)-

**Șef lucrări Dr. Maria-Cătălina MATEI-LAȚIU, DVM, PhD**

Disciplina de biologie celulară, Histologie și Embriologie  
Facultatea de Medicină Veterinară, Departamentul I – preclinic  
Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară  
Calea Mănăștur 3-5, Cluj-Napoca, România  
E-mail: catalina.matei@usamvcluj.ro  
Telefon: 0755683292

Decembrie 2025

## Acord membri proiect

Subsemnații Matei-Lațiu Maria-Cătălina, în calitate de director de proiect, respectiv, Dăescu Adela Maria, Păpuc Tudor Andrei și Muntean George Cătălin, în calitate de membri în proiect, declarăm că suntem de acord cu datele conținute în acest raport intermediar.

Data 03.12.2025

Echipa de proiect

**Director de proiect:** Dr. Matei-Lațiu Maria-Cătălina \_\_\_\_\_

**Membri:** Dr. Dăescu Adela Maria \_\_\_\_\_

Dr. Păpuc Tudor Andrei \_\_\_\_\_

Drd. Muntean George Cătălin \_\_\_\_\_

# Cuprins

1. Context/argumentare activitate .....	4
2. Scop și obiective .....	5
3. Metodologie și rezultate parțiale.....	5
3.1. Capturarea peștilor .....	5
3.2. Disecția exemplarelor mature reținute .....	9
3.3. Prelevarea probelor de țesut hepatic, renal și branhial .....	10
3.4. Prelucrarea histologică a eșantioanelor tisulare .....	11
3.5. Obținerea și stocarea secțiunilor histologice colorate.....	11
5. Bibliografie .....	13
6. Evaluarea gradului de finalizare conform propunerii de proiect .....	15
7. Diseminarea rezultatelor cercetării cu afiliere AOSR .....	16

## 1. Context/argumentare activitate

Poluarea apelor cu metale grele reprezintă una dintre cele mai severe forme de degradare a mediului acvatic, având consecințe directe asupra echilibrului ecosistemelor și sănătății organismelor care le populează. Prin natura lor persistentă și capacitatea ridicată de bioacumulare, metale precum arsenul, cadmiul, plumbul, mercurul, nichelul și cuprul se acumulează progresiv în sedimente, plante acvatice, dar și vertebrate acvatice, determinând efecte toxice cronice și modificări structurale la nivel celular și tisular. Aceste elemente pot induce stres oxidativ, dereglări metabolice, generarea speciilor reactive de oxigen (SRO) și efecte mutagene, afectând astfel funcționalitatea organelor vitale și reducând capacitatea adaptativă a faunei acvatice [1, 2].

Etapă inițială a proiectului, concentrată pe identificarea bazinelor hidrografice și delimitarea clară a zonelor poluate și nepoluate, a constituit baza unui design experimental riguros, care permite comparații relevante între mediile acvatice supuse influenței antropice și cele considerate de referință (martor negativ – curs de apă nepoluat). Marcarea precisă pe hartă și monitorizarea cu ajutorul coordonatelor GPS a asigurat reproductibilitatea recoltărilor și a oferit suport pentru evaluarea evoluției fenomenelor de poluare pe termen lung.

În acest context, recoltarea și prelucrarea histologică a probelor de țesut provenite din materialul piscicol din aceste bazine reprezintă o etapă esențială în înțelegerea modului în care contaminarea cu metale grele se reflectă la nivel biologic. Analiza histologică permite identificarea leziunilor structurale, a modificărilor morfologice ale organelor (ficat, branhii, țesut renal) și a gradului de alterare celulară, oferind o legătură directă între factorii de stres chimic din mediul acvatic și răspunsul organismelor expuse [3, 4, 5].

Astfel, investigarea microscopică a probelor de țesut nu doar completează informațiile obținute din analizele fizico-chimice ale apei și sedimentelor, ci și contribuie la stabilirea unui cadru coerent de monitorizare ecotoxicologică. Aceasta permite:

- evaluarea comparativă a efectelor poluării între zonele selectate (poluate și nepoluate);
- validarea relațiilor cauzale dintre nivelul de contaminare și răspunsul histologic observat;
- consolidarea unui model de monitorizare integrată, care îmbină parametrii de mediu cu indicatori biologici sensibili.

Prin urmare, prelucrarea histologică a probelor de țesut reprezintă un pas fundamental pentru interpretarea integrată a datelor obținute în cadrul proiectului, asigurând o înțelegere aprofundată a impactului poluării cu metale grele asupra ecosistemelor acvatice și furnizând suport științific pentru strategii viitoare de protecție și remediere a mediului.

## 2. Scop și obiective

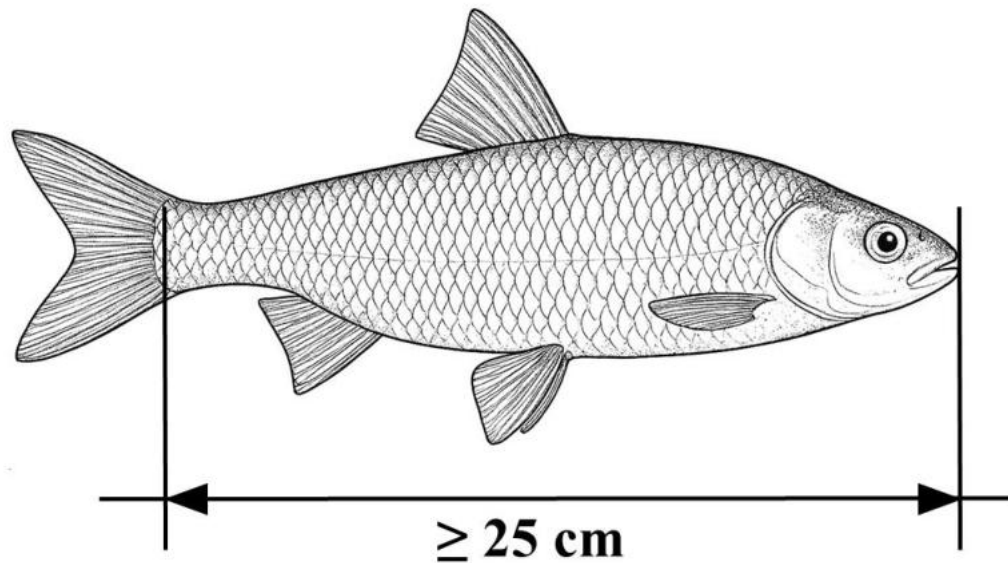
**Scopul** acestei de a doua etape este de a prelucra din punct de vedere histologic probele de țesut (ficat, branhii, țesut renal) după recoltarea materialului piscicol santinelă [6, 7, 8, 9] din bazinele hidrografice poluate și nepoluate selectate în etapa I a proiectului. Concret, ne-am propus următoarele **obiective**:

- capturarea peștilor (clean – *Squalus cephalus* Linnaeus, 1758) din cele două bazine hidrografice selectate în etapa I;
- disecția exemplarelor mature reținute;
- prelevarea probelor de țesut hepatic, renal și branhial;
- prelucrarea histologică a eșantioanelor tisulare;
- obținerea secțiunilor histologice colorate cu două colorații (hematoxină-eozină și tricrom Goldner) și stocarea acestora pentru prelucrarea ulterioară.

## 3. Metodologie și rezultate parțiale

### 3.1. Capturarea peștilor

În cadrul acestei etape a investigației, capturile exemplarelor de clean (*Squalus cephalus* Linnaeus, 1758) au fost efectuate în două bazine hidrografice distincte, selectate în etapa inițială a proiectului. Astfel, au fost realizate deplasări pe teren în locurile marcate pe hartă în evaluarea precedentă a bazinelor hidrografice (martor negativ, nepoluat cu metale grele - cursul de apă Hășdate și martor pozitiv, afectat de poluare cu metale grele - afluenți ai râului Arieș în zona Roșia Montană/Abrud). Capturarea exemplarelor a fost realizată pe durata lunilor august–septembrie 2025 prin metoda pescuitului la lansetă, utilizând momeli artificiale. Au fost reținuți în analiză doar acei pești care au atins lungimea minimă legală (25 cm), conform legislației române privind dimensiunile minime de reținere pentru specia clean [10]. Lungimea fiecărui exemplar a fost determinată prin măsurarea distanței de la vârful botului până la baza înotătoarei caudale (Figura 1), toate exemplarele sub acest prag fiind imediat eliberate în apă, în stare vie.



**Figura 1.** Lungimea minimă legală (25 cm) pentru exemplarele de clean (*Squalus cephalus* Linnaeus, 1758)

Astfel, pe parcursul lunilor august-septembrie 2025 au fost realizate 8 deplasări pe teren (câte 4 deplasări pentru fiecare curs de apă). Similar cu situațiile observate în decursul lunilor mai-iulie 2025 (când au fost realizate deplasări pe teren în vederea selecției bazinelor hidrografice, precum și recoltarea probelor de apă și substrat), și de data aceasta evaluarea vizuală a cursurilor de apă a furnizat rezultate foarte apropiate de evaluarea inițială (Figura 2, Figura 3).

Astfel, pentru bazinul hidrografic martor negativ, a putut fi observată o turbiditate moderată a apei, dar restul condițiilor de mediu au fost favorabile pescuitului sportiv și capturării unui număr semnificativ de exemplare (Figura 2).



**Figura 2.** Bazin hidrografic martor negativ (nepoluat industrial cu metale grele) – Râul Hășdate; **A** – zona de intrare în Cheile Turzii; **B** – tronson de râu potrivit pentru recoltarea materialului piscicol.

Pe de altă parte, în ceea ce privește bazinul hidrografic martor pozitiv, capturarea exemplarelor de clean a fost problematică. Turbiditatea crescută a apei (Figura 3) ar fi putut reprezenta un factor explicativ al acestei situații, dar cel mai probabil cauza principală a fost reprezentată de poluarea exagerată întâlnită pe aceste cursuri de apă. Astfel, deoarece este cunoscut faptul că migrația clenilor de-a lungul unui curs de apă este un fenomen întâlnit și fiziologic [8, 9], arealul de recoltare a fost ușor extins. Prin urmare, acțiunea de pescuit a fost realizată pe tronsonul luat inițial în studiu (Figura 3 A, B), dar și pe afluenți din amonte ai pârâului Abrudel (pârâul Valea Șeșii, respectiv Roșia) (Figura 3 C, D), cât și în aval de gura de vărsare a pârâului Abrudel în Râul Arieș (Figura 3A).



**Figura 3.** Bazin hidrografic martor pozitiv (poluat industrial cu metale grele) – Afluenți ai râului Arieș, zona Abrud; **A** – zona de vărsare a pârâului Abrudel în Arieș; **B** – tronson de pe pârâul Abrudel potrivit pentru recoltarea materialului piscicol; **C, D** – tronsoane ale afluenților din amonte potrivite pentru recoltarea materialului piscicol.

Cu ajutorul lansetelor, la finalul sesiunilor de pescuit, din totalul exemplarelor capturate, au fost reținuți un număr total de 30 de clenți adulți ( $n=15$ /bazin hidrografic martor negativ, respectiv  $n=15$ /bazin hidrografic martor pozitiv), fiecare exemplar având minim 25 cm lungime (Figura 4).

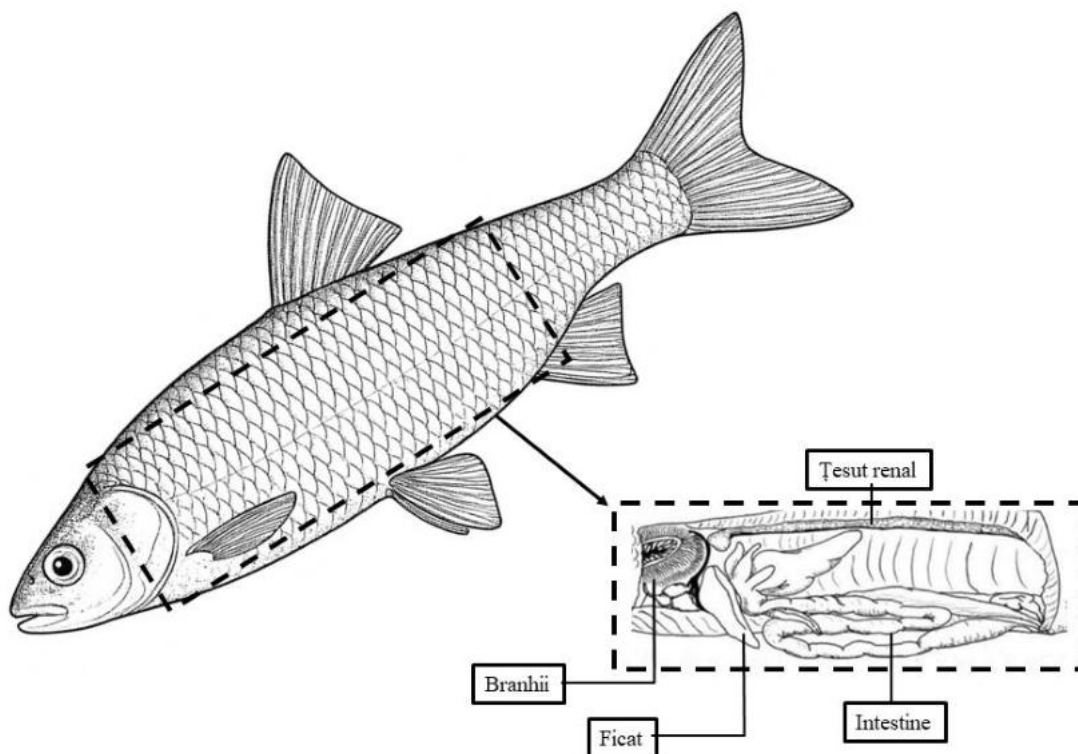


**Figura 4.** Exemplar adult de clean (*Squalus cephalus* Linnaeus, 1758)

### **3.2. Disecția exemplarelor mature reținute**

După eutanasierea conformă a exemplarelor (narcoză cu extract *Eugenia caryophyllata*, urmată de dislocare cervicală), speciemenle au fost etalate pe un platou de disecție, fiind stabilizate cu ajutorul unor pense pe durata secționării [11]. Ulterior, cu ajutorul unei lame de bisturiu, s-a efectuat o incizie longitudinală pe linia ventrală, de la nivelul înotătorii anale până la nivelul operculului, secționând pielea și stratul muscular. Pentru a facilita accesul la cavitatea celomică și expunerea organelor, incizia a fost extinsă dorsal, perpendicular pe incizia inițială spre linia dorsală, iar lamboul tisular astfel obținut a fost îndepărtat cu ajutorul unei pense. Ulterior, pentru

expunerea arcurilor branhiale, s-a procedat la excizia completă a operculului. Cu ajutorul instrumentarului adecvat (pense, bisturiu și foarfecă de disecție), s-au izolat cele trei organe de interes (Figura 5) [11]. De asemenea, în timpul disecției anatomice a fost realizată și analiza macroscopică a organelor, urmărindu-se culoarea, volumul, topografia organelor, dar și prezența/absența unor leziuni vizibile macroscopic (puncte de necroză, posibile mase tumorale etc).



**Figura 5.** Disecția anatomică realizată exemplarelor luate în studiu în vederea recoltării organelor de interes: branhii, țesut hepatic și țesut renal.

### 3.3. Prelevarea probelor de țesut hepatic, renal și branhial

După izolarea organelor țintă, s-a recurs la prelevarea acestora, utilizând bisturie cu lame de unică folosință. Pentru țesutul branhial, au fost recoltate arcurile branhiale pereche, în întregime, iar pentru țesutul hepatic, respectiv renal, au fost prelevate eșantioane care au respectat grosimea maximă de 5 mm. Imediat după recoltarea fiecărei probe, acestea au fost introduse în soluția

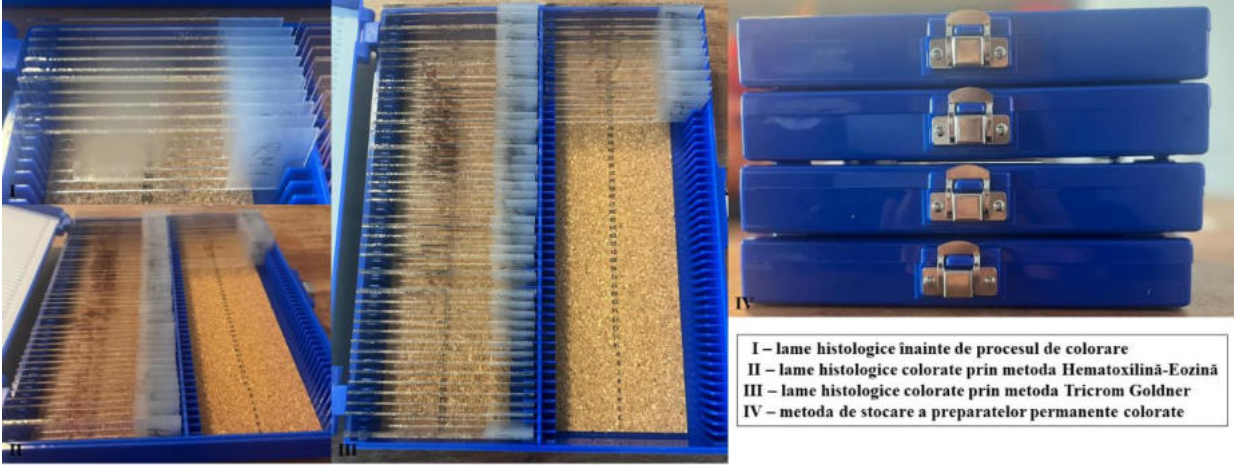
fixatoare (reprezentată de formol histologic tamponat 10%) și etichetate (codul atribuit tronsonului respectiv, precum și apartenența la bazinul hidrografic martor negativ/pozitiv). După finalizarea recoltării probelor, acestea au fost transportate în condiții de siguranță către laborator [12, 13, 14].

### **3.4. Prelucrarea histologică a eșantioanelor tisulare**

Odată ajunse în laboratorul de tehnică histologică, probele prelevate au fost supuse procesării prin tehnica uzuală de includere la parafină. Astfel, toate cele trei categorii de țesuturi au parcurs etapa de fixare (7 zile). După încheierea completă a fixării, probele reprezentate de țesutul branhial au necesitat o etapă intermediară, reprezentată de procesul de demineralizare (realizat cu acid tricloracetic 5%, pentru o perioadă de 2 săptămâni). Ulterior fixării, respectiv demineralizării, probele au fost supuse proceselor succesive de spălare și deshidratare (cu băi seriate de alcool, în concentrații crescânde), clarificare (cu alcool butilic), includere în parafină, secționare, etalare, colorare și montare. Pentru toate cele trei organe luate în studiu au fost realizate două colorații histologice: colorația Hematoxilină-eozină, o tehnică de rutină în laboratoarele de histologice, precum și colorația tricromică după metoda lui Goldner, care are capacitatea de a diferenția și evidenția pregnant țesuturile de natură conjunctivă [12, 13, 14].

### **3.5. Obținerea și stocarea secțiunilor histologice colorate**

Ultima etapă pentru obținerea bibliotecii histologice care include cele trei organe luate în studiu a fost reprezentată de obținerea și stocarea secțiunilor histologice colorate. Astfel, la finalizarea obținerii preparatelor permanente (reprezentate de etapa montării lamelor cu agent de montare - DPX), lamele colorate au fost stocate în cutii speciale de păstrare (Figura 6). Pentru asigurarea menținerii calității lamelor obținute, cutiile au fost menținute la întuneric, într-un spațiu special amenajat, până la procesarea ulterioară (reprezentată de fotografierea lamelor obținute și digitalizarea secțiunilor histologice).



**Figura 6.** Subset reprezentativ de lame histologice realizate, atât înainte de colorare, cât și post-colorare, respectiv stocare.

## 5. Bibliografie

1. Fatima et al., “Heavy metals affecting Neotropical freshwater fish: A review of the last 10 years of research,” *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2021.
2. Farias, J.P.; Okeke, B.C.; Demarco, C.F.; Carlos, F.S.; da Silva, R.F.; da Silva, M.A.; Quadro, M.S.; Pieniz, S.; Andrezza, R. Cadmium Contamination in Aquatic Environments: Detoxification Mechanisms and Phytoremediation Approach. *Sustainability* 2024, 16, 10072. <https://doi.org/10.3390/su162210072>.
3. Yancheva V, Velcheva I, Stoyanova S, Georgieva E. Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: a review. *Applied ecology and environmental research*. 2016 Jan 1;14(1):47-75.
4. Bernet D, Schmidt H, Meier W, Burkhardt-Holm P, Wahli T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of fish diseases*. 1999 Jan;22(1):25-34.
5. Reddy PB, Rawat SS. Assessment of aquatic pollution using histopathology in fish as a protocol. *International Research Journal of Environment Sciences*. 2013;2(8):79-82.
6. Hajkova K, Pulkrabova J, Hajšlová J, Randak T, Žlábek V. Chub (*Leuciscus cephalus*) as a bioindicator of contamination of the Vltava River by synthetic musk fragrances. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 2007 Oct;53(3):390-6.
7. Havelkova M, Blahova J, Kroupova H, Randak T, Slatinska I, Leontovycova D, Grabic R, Pospisil R, Svobodova Z. Biomarkers of contaminant exposure in chub (*Leuciscus cephalus* L.)–Biomonitoring of major rivers in the Czech Republic. *Sensors*. 2008 Apr 11;8(4):2589-603.
8. Muntean GC, Lațiu C, Uiuu P, Păpuc T, Constantinescu R, Mireșan V, Cocan D. Comparative morphometry of a lotic and a lentic population of European chub (*Squalius cephalus*, Linnaeus 1758).
9. Mireșan V, Lațiu C, Cocan D. Age structure and growth dynamics of European chub, *Squalius cephalus*, Linnaeus 1758 (*Actinopterygii: Cyprinidae*) from two catchments in Transylvania-Romania.

10. \*\*\*<https://legislatie.just.ro/Public/DetaliuDocumentAfis/93564>
11. Gupta, T., Mullins, M.C. Dissection of Organs from the Adult Zebrafish. *J. Vis. Exp.* (37), e1717, doi:10.3791/1717 (2010).
12. Gal Adrian Florin, Matei-Latiu Maria-Catalina, Rus Vasile, 2024, *Biologice celulare – manual pentru activitati practice*, Editura Academic Press, eISBN 978-630-309-124-2 – CD, pp 16-19.
13. Mumford S, Heidel J, Smith C, Morrison J, MacConnell B, Blazer V. *Fish histology and histopathology*. US Fish and Wildlife National Conservation Training Center, Amerika Serikat. 2007.
14. Genten F, Terwinghe E, Danguy A. *Atlas of fish histology*. CRC Press; 2009 Jan 1.

## 6. Evaluarea gradului de finalizare conform propunerii de proiect

Conform proiectului depus, etapa II își propusese să furnizeze următoarele rezultate intermediare prezentate în tabelul 1:

**Tabel 1.** *Livrabilele estimate la finalul etapei II (conform propunerii de proiect)*

Etapa	Activitatea	Rezultatele estimate (livrabile)
1.	1.1. Selecția bazinelor hidrografice de interes și stabilirea tronsoanelor de râu folosite ca și areal de recoltare	Identificarea și caracterizarea geografică a cel puțin două sau mai multe bazine hidrografice cu niveluri diferite de poluare – zone industriale vs. zone mai puțin afectate;
	1.2. Prelevarea probelor de apă și analiza calității apei	Determinarea gradului de poluare prin analize chimice și fizico-chimice ale probelor de apă recoltate; Corelarea inițială între gradul de poluare și distribuția habitatelor de pești;
2.	<b>2.1. Capturarea peștilor din zonele de interes</b>	<b>Obținerea eșantioanelor tisulare din trei organe țintă: branhii, ficat, țesut renal; Obținerea lamelor histologice colorate (cel puțin două colorații: Hematoxină-eozină/colorație tricromică) din organele de interes;</b>
	<b>2.2. Prelevarea probelor de țesut</b>	
	<b>2.3. Prelucrarea histologică a eșantioanelor tisulare</b>	

De asemenea, conform calendarul activităților pentru anul 2025 (Tabel 2), aceste rezultate erau propuse a fi furnizate până la finalul lunii decembrie.

**Tabel 2.** *Calendarul activităților propuse pentru anul 2025*

	Aprilie 2025	Mai 2025	Iunie 2025	Iulie 2025	August 2025	Septembrie 2025	Octombrie 2025	Noiembrie 2025	Decembrie 2025
1.	-	-	-	-					
1.1.	-	-	-	-					
1.2.									
2.									
2.1									
2.2									
2.3									

Prin urmare, analizând rezultatele furnizate, putem concluziona că rezultatele estimate au fost livrate în proporție de 100%.

## 7. Diseminarea rezultatelor cercetării cu afiliere AOSR

Până în prezent, din rezultatele cumulate ale prezentei cercetări, a fost redactat un manuscris intitulat “Histopathological changes of the countercurrent system in fish gills constantly exposed to heavy metal-polluted waters”, care a fost trimis la redacție și se află momentan sub evaluare. Jurnalul selectat se adresează domeniului îngust al morfologiei microscopice, fiind reprezentat de International Journal of Morphology, un jurnal indexat ISI, cu FI (2024: 0.5) (Anexa 1).

De asemenea, abstractul intitulat “Histomorphological hepatic alterations in *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758) exposed to heavy metals: a cross-watershed comparative study of two Romanian river basins” a fost înscris în vederea prezentării la conferința 5th Edition of the International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture", care urmează să aibă loc în luna Iunie 2026.