



# Alteraciones histológicas en la lombriz de tierra inducidas por la exposición al explosivo HMX (octahidro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocina)



Formosa Lemoine, Florencia<sup>1,3</sup>; Costantini, Martín H.<sup>1,3</sup>; Fuchs, Julio S.<sup>1,3</sup>; Ross, Pablo G.<sup>2</sup>; Castro, Gerardo D.<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Investigaciones en Bioseguridad y Toxicología. <sup>2</sup>Departamento de Química Aplicada. <sup>3</sup>UNIDEF (MINDEF-CONICET).

CITEDEF. San Juan B. de La Salle 4397. Villa Martelli, Buenos Aires. Contacto: [gcastro@citedef.gob.ar](mailto:gcastro@citedef.gob.ar)



## INTRODUCCIÓN:

Los compuestos químicos explosivos se liberan al ambiente durante la fabricación, el manejo, el uso y la eliminación de municiones en sitios militares en todo el mundo. Las consecuencias para el ambiente y la salud humana derivan de la contaminación de aguas subterráneas y superficiales, suelos y sedimentos. En todo el mundo, los suelos están contaminados por dichos compuestos debido a operaciones de fabricación, actividades militares, conflictos de diferentes niveles, detonaciones abiertas o vertido de municiones.

En un trabajo anterior de nuestro laboratorio se estudiaron las alteraciones histológicas producidas en lombrices de tierra (*Eisenia foetida*) por exposición al explosivo RDX. Estos anélidos son organismos esenciales para el ecosistema suelo, ya que favorecen la aireación, el drenaje y la descomposición de materia orgánica. Además, se utilizan ampliamente como bioindicadores en estudios ecotoxicológicos, debido a su sensibilidad frente a un amplio espectro de xenobióticos, lo que los convierte en un modelo idóneo para el monitoreo de la calidad del suelo. El explosivo HMX (octahidro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocina) pertenece también a la familia de las ciclonitraminas, con un peso molecular mayor que el RDX y un poder explosivo considerablemente más elevado. Su uso en actividades vinculadas con la defensa plantea riesgos de persistencia y toxicidad en el ambiente. En este trabajo se evaluó el impacto tóxico del HMX sobre la lombriz de tierra, considerando su relevancia como modelo ecotoxicológico.

El objetivo de este trabajo fue evaluar cambios histológicos y morfométricos en la lombriz de tierra inducidos por la exposición al explosivo HMX (octahidro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocina) por la vía de ingreso cutánea.

## MATERIALES Y METODOS:

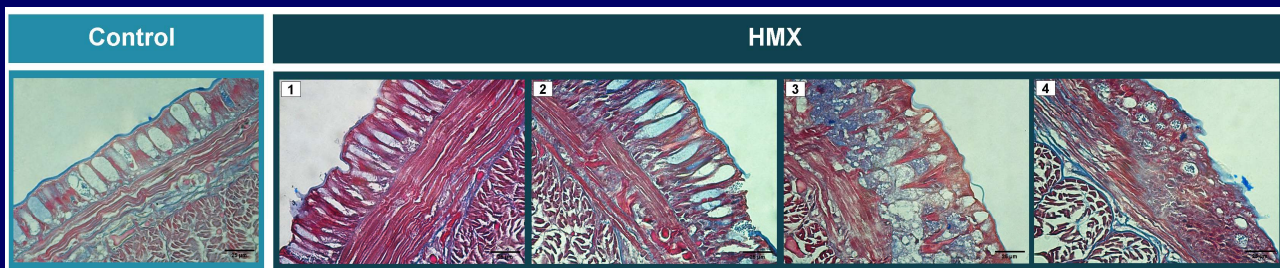
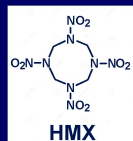
Grupos de cinco (5) lombrices (*Eisenia foetida*) con pesos entre 350 y 550 mg fueron expuestas durante 72 horas a cuatro concentraciones subletales de HMX (de 2, 4, 8 y 16 µg/cm<sup>2</sup>) y al correspondiente control (acetónitrilo), utilizando el método de ensayo de papel de filtro (OECD 207). Las lombrices se obtuvieron de la colonia de nuestro bioterio, iniciada a partir de ejemplares donados por el Bioterio de Oligoquetos Terrestres del INTEC-Universidad Nacional del Litoral.

Como criterio de valoración subletal, se determinó el porcentaje (%) de pérdida del peso corporal de las lombrices, evaluando al inicio (Pi) y al final del experimento (Pf) el peso de cada animal, y su cambio se calculó como porcentaje respecto al peso inicial:  $100 \cdot (Pf - Pi)/Pi$ .

Inmediatamente luego de la exposición, cada lombriz fue sacrificada para su disección y análisis histológico. Se obtuvieron muestras de la región pre-clitelo, clitelo y post-clitelo. Las secciones se cortaron transversalmente y se fijaron por 24 horas en formol-buffer (10%). Posteriormente se procesaron, se infiltraron en parafina, se cortaron y se tiñeron con coloración de hematoxilina-eosina. Adicionalmente, se realizó el método de tinción con tricrómico de Masson. Esta tinción permite resaltar las estructuras del tejido conjuntivo, destacando las fibras colágenas en el estroma celular, la cutícula y células glandulares productoras de mucus en la epidermis, en comparación con las fibras musculares de las capas musculares circular y longitudinal.

## RESULTADOS:

Cortes de la pared corporal utilizando tinción tricrómico de Masson



Control: Características histológicas de la pared corporal de la lombriz de tierra, aspecto normal del tejido epidérmico y capas musculares. (600x).

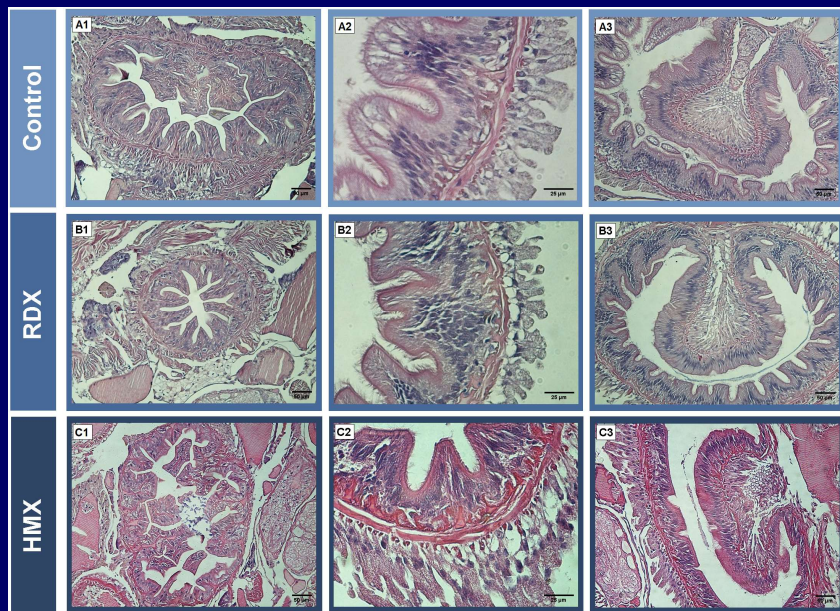
1. HMX (2 µg/cm<sup>2</sup>), vacuolización de células epidérmicas, una desorganización de las fibras musculares y edema. (600X).

2. HMX (4 µg/cm<sup>2</sup>), vacuolización citoplasmática, desorganización de células epidérmicas y de fibras musculares circulares y longitudinales, edema e incremento del colágeno. (600X).

3. HMX (8 µg/cm<sup>2</sup>), marcada vacuolización epidérmica, desorganización de fibras musculares con edema intersticial y signos de fibrosis incipiente. (600X).

4. HMX (16 µg/cm<sup>2</sup>), marcada vacuolización y una completa desorganización de las fibras musculares. (600X).

Cortes de diferentes regiones utilizando tinción hematoxilina-eosina



Alteraciones histológicas en la lombriz de tierra (*Eisenia foetida*) por exposición externa (método de ensayo de papel de filtro OECD 207) a HMX.

A. Control. 1. Corte transversal de la primera sección del tubo digestivo: aspecto normal (Hematoxilina-Eosina 200X). 2. Corte transversal de la zona clitelar: aspecto normal del epitelio intestinal, la membrana basal y el tejido cloragógeno (600X). 3. Corte transversal de la zona post-clitelo: aspecto normal del tifloso, epitelio intestinal y tejido cloragógeno. (200X).

B. RDX (8 µg/cm<sup>2</sup>). 1. Corte transversal de la primera sección del tubo digestivo: arquitectura conservada, se observan células vacuoladas y edematosas. (200X). 2. Corte transversal de la zona clitelar: degeneración epitelial moderada con vacuolización de los enterocitos. (600X). 3. Corte transversal de la zona post-clitelo: arquitectura conservada con leve degeneración del epitelio del tifloso y vacuolización celular. (200X).

C. HMX (8 µg/cm<sup>2</sup>). 1. Corte transversal de la primera sección del tubo digestivo: mostrando desorganización del tejido e hiperplasia de células epiteliales (200X). 2. Corte transversal de la zona clitelar: mostrando leve atrofia, edema y fusión de las vellosidades, vacuolización citoplasmática del tejido cloragógeno. (600X). 3. Corte transversal de la zona post-clitelo: se observa degeneración epitelial y desorganización tisular. (200X).

## CONCLUSIONES:

Se observaron alteraciones estructurales significativas en distintos tejidos y zonas anatómicas de la lombriz de tierra *Eisenia foetida*, en todas las concentraciones ensayadas. A nivel de la epidermis y cutícula se observaron desprendimiento y erosión, junto con cambios en las células glandulares, caracterizados por proliferación leve y presencia de cuerpos eosinófilos, posiblemente asociados a secreciones anómalas. En las capas musculares se evidenció separación de fibras y signos iniciales de fibrosis en las concentraciones más elevadas.

En el intestino medio, el HMX generó alteraciones epiteliales como fusión de vellosidades y pérdida parcial de microvellosidades, además de edema y vacuolización del tejido cloragógeno. Estos efectos se intensificaron con el aumento de la concentración, aunque sin llegar a provocar la lisis celular observada previamente con el RDX.

La comparación entre ambos explosivos muestra que el HMX, si bien comparte algunos efectos histológicos con el RDX, produce un daño tisular de menor severidad a nivel intestinal y glandular. Mientras que el RDX induce una respuesta más marcada, con hiperplasia y vacuolización extensa, el HMX se caracteriza por generar secreciones anómalas más abundantes en el epitelio y alteraciones fibróticas incipientes en las capas musculares.

A lo largo del estudio, la exposición a HMX no resultó en una pérdida de peso corporal significativa en las lombrices de tierra.

En el grosor de la pared corporal, solo la capa muscular circular mostró cambios leves, aunque no significativos.