



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL, HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CMN SIGLO XXI. UMAE

INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA, IAP CONDE DE VALENCIANA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA, FACULTAD DE MEDICINA

**“DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y CITO ESTRUCTURAL DE
LA SUPERFICIE OCULAR EXPUESTA A LA
CONTAMINACIÓN AMBIENTAL ATMOSFÉRICA EN UN
GRUPO VULNERABLE”**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

ADRIANA HERNÁNDEZ LÓPEZ

TUTOR:

DR. RUBÉN ARGÜERO SÁNCHEZ
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. NOVIEMBRE 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORIAL

DR. ARTURO EDGAR ZENTENO GALINDO
DR. ADOLFO CHÁVEZ NEGRETE
DRA. RITA ANGELICA GOMEZ DIAZ
DR. SERGIO FLORES HERNÁNDEZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. NOVIEMBRE 2017

AGRADECIMIENTOS ACADEMICOS E INSTITUCIONALES

- Dr. Rubén Argüero Sánchez

- Dra. Patricia Alonso y Viveros
- Dr. Enrique Luis Graue Wiechers
- Dr. Amílcar Alpuche Hernández

- Instituto de Oftalmología FAP Fundación Conde de Valenciana
- Instituto Mexicano del Seguro Social, UMAE H. Especialidades CMN Siglo XXI

- Colegio Alejandro Guillot, Ciudad de México
- Colegio Springfield, Toluca, Estado de México

- Departamento de Patología, Hospital General de México
- Departamento de Patología. UMAE HE CMN SXXI

- Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina. UNAM

- *Gracias a Dios*
- *Gracias a mi familia, especialmente a mi madre y al abuelo Alberto*
- *Gracias a mis hijos Karla y Carlos Adrián*
- *Gracias a mis amigos y compañeros de ideales:*

*Dr. Omar Sánchez Ramírez,
Lic. Edson Montiel Magaña
Diana Lucia Cruz Acosta
Rene Medina Marroquín
Ing. José Jorge García Loya*

- *Gracias a mis tutores por su confianza y apoyo incondicional en todo momento*
- *Gracias a los distinguidos miembros del comité tutorial y jurado*
- *Gracias a todas las personas que permitieron la conclusión de la presente*

Mi gratitud y reconocimiento al Doctor Amílcar Alpuche Hernández, por su invaluable asesoría ...

Mi agradecimiento al Dr. Alejandro Climent Flores y familia, por su amistad, confianza y soporte ...

Una especial mención y agradecimiento al Doctor Antonio Silva Oropeza por permitir marcar en mi vida, un después...

DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y CITO ESTRUCTURAL DE LA SUPERFICIE OCULAR EXPUESTA A LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL ATMOSFÉRICA EN UN GRUPO VULNERABLE

RESUMEN

La Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM), es considerada como la Ciudad con más problemas de contaminación en el mundo. El ozono (O₃) es el principal contaminante del medio atmosférico con repercusión en mucosas, su extraordinaria avidez por las lipoproteínas altera y degenera las membranas celulares. Los tejidos más sensibles son las mucosas, principalmente la ocular y la respiratoria.

OBJETIVO: Identificar las manifestaciones clínicas en la superficie ocular y citoestructurales de la conjuntiva bulbar en los escolares expuestos a la contaminación ambiental atmosférica en la ZMCM.

MÉTODO: Estudio transversal, descriptivo, observacional y prospectivo.

Estuvo diseñado en tres *fases*: 1. *Consenso de expertos*, para la caracterización de las manifestaciones clínicas de los síntomas y signos. 2. *Concordancia*, para los evaluadores en la identificación de los signos a considerar. 3. *Campo*, se interrogó, exploró y se realizó toma de muestra por citología de impresión a la conjuntiva bulbar expuesta, de las poblaciones de estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: *Fases* 1. Construcción de las manifestaciones clínicas por consenso, seis síntomas IVC 0.86 y seis signos con IVC 0.80. 2. *Concordancia*, para los evaluadores con índice Kappa con adecuada fuerza de concordancia para los signos a explorar. 3. *Campo*, se evaluaron las manifestaciones clínicas. De los seis síntomas consensados para realizar el interrogatorio, el *ardor, lagrimeo, fotofobia y sensación de cuerpo extraño* mostraron un comportamiento estadísticamente significativo a considerar en la construcción de esta entidad. De los seis signos explorados por el especialista, la presencia de *hiperemia, folículos, alteraciones en la ruptura de la película lagrimal y la tinción (+)* de la superficie ocular muestran un comportamiento estadístico significativo, que asociado a los síntomas referidos nos permiten fortalecer el reconocimiento de la entidad.

CONCLUSIONES: Se establecieron diferencias en la caracterización de los síntomas y signos. Se evidenció una disminución en el número de células caliciformes de los escolares expuestos a la contaminación ambiental atmosférica en la ZMCM.

PALABRAS CLAVE: Daño por O₃, repercusión ocular, alteración citoestructural, células caliciformes.

DIFFERENCES IN THE CLINICAL CHARACTERIZATION AND CYTOESTRUCTURAL OF THE OCULAR SURFACE EXHIBITED TO THE ATMOSPHERIC ENVIRONMENTAL CONTAMINATION IN A VULNERABLE GROUP

ABSTRACT

The Metropolitan Zone of Mexico City (ZMCM), is considered the city with the most pollution problems in the world. Ozone (O₃) is the main contaminant of the atmospheric environment with mucosal repercussions, its extraordinary avidity by the lipoproteins alters and degenerates the cell membranes. The most sensitive tissues are the mucous membranes, mainly the ocular and the respiratory.

OBJECTIVE: To identify the clinical manifestations in the ocular and cytoestructural aspects of the bulbar conjunctiva in schoolchildren exposed to atmospheric environmental contamination in the ZMCM.

METHOD: Cross-sectional, descriptive, observational and prospective study.

It is designed in three phases: 1. Experts' consensus, for the characterization of the clinical declarations of the symptoms and signs. 2. Concordance, for the assessors in the identification of the signs to be considered. 3. Field, they interrogated, explored and realized a capture of the cytology sample of impression to the bulbous conjunctive exposed, of the study populations.

RESULTS AND DISCUSSION: Phases 1. Construction of the clinical manifestations by consensus, six symptoms IVC 0.86 and six signs with IVC 0.80. 2. Concordance, for the Kappa index assessors with the adequate concordance for the signs to be explored. 3. Field, clinical manifestations were evaluated. Of the six symptoms by consensus to carry out for the interrogation, the ardor, lacrimation, photophobia and sensation of foreign body showed a statistically significant behavior to consider in the construction of this entity. Of the six signs explored by the specialist, the presence of hyperemia, follicles, alterations in the tear film rupture and staining (+) of the ocular surface show a statistically significant behavior, if we associated them with the symptoms referred this will allow us to strengthen the recognition of the entity.

CONCLUSIONS: Differences were established in the characterization of the symptoms and signs. It was evidenced a decrease in the number of goblet cells of the students exposed to the atmospheric environmental contamination in the ZMCM.

KEY WORDS: O₃ damage, ocular repercussion, cytoestructural alteration, goblet cell

1. INTRODUCCIÓN	09
1.1 Contaminación ambiental atmosférica	09
1.2 Importancia de la conjuntiva	14
1.2.1 Signos y síntomas	16
1.2.2 Citología de la impresión	17
2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
3.- JUSTIFICACIÓN	19
4.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	20
5.- HIPÓTESIS	20
6.- OBJETIVOS	21
6.2 Objetivo general	21
6.3 Objetivos específicos	21
7.- MÉTODO	22
7.1 Variables generales de estudio	22
7.2 Tipo y diseño de estudio	23
7.3 Muestra	23
7.3.1 Selección de la muestra y cálculo	23
7.4 Criterios de selección	24
7.5 Instrumento	25
7.6 Consideraciones éticas	25
7.7 Procedimiento	26
7.7.1 Fase 1, Consenso de expertos	27
7.7.2 Fase 2, Concordancia	28
7.7.3 Fase 3, Estudio de campo	30

7.8 Descripción general y recolección	32
8.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
9.- RESULTADOS	35
9.1 Fase 1, Consenso de expertos	35
9.2 Fase 2, Concordancia	38
9.3 Fase 3, Estudio de campo	43
10.- DISCUSIÓN Y PERSPECTIVA	59
11.- CONCLUSIONES	63
12.- LIMITACIONES Y SUGERENCIAS	64
13.- ANEXOS	65
13.1 Carta de consentimiento	65
13.2 Hoja de recolección	66
14.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Contaminación Ambiental Atmosférica

Los humanos interactuamos constantemente con el medio ambiente. Esta interacción afecta la calidad de vida, años de sobrevida y la igualdad en las condiciones de salud. La contaminación atmosférica es el principal riesgo ambiental para la salud en las américas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que una de cada nueve muertes en todo el mundo es el resultado de condiciones relacionadas con la contaminación atmosférica. Existen contaminantes más relevantes que otros en el impacto a la salud ¹(WHO, 2016).

Los riesgos y efectos en la salud no se distribuyen de manera uniforme en la población. Las personas con enfermedades previas, los niños menores de cinco años y los adultos entre 50-75 años de edad son los más afectados ¹(WHO, 2016).

Muchas de las grandes ciudades del mundo (mega ciudades) son afectadas por una serie de problemas relacionados con el medio ambiente, en que existe deterioro de la calidad del aire. El área metropolitana de la Ciudad de México, ha experimentado un desarrollo grande y rápido de la población urbana, tiene un serio problema de contaminación del aire, el cual se ha visto agravado debido al crecimiento de la ciudad y la población, así como por la presencia de un mayor número de industrias y en particular del tráfico vehicular² (Bravo A. , 1999)



Información tomada del: Programa de Investigación en Cambio Climático de la UNAM.

La Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM), es considerada actualmente como la Ciudad con más problemas de contaminación en México y quizá en el mundo. Se estima que poco más de 9.5 millones de habitantes, del total de la población en la ZMCM, está expuesta diariamente a diferentes grados de contaminación por ozono por arriba de la norma de calidad del aire de 0.11 partes por millón (ppm) promedio máximo de ozono en una hora. ³ (Bravo A. , 1999)

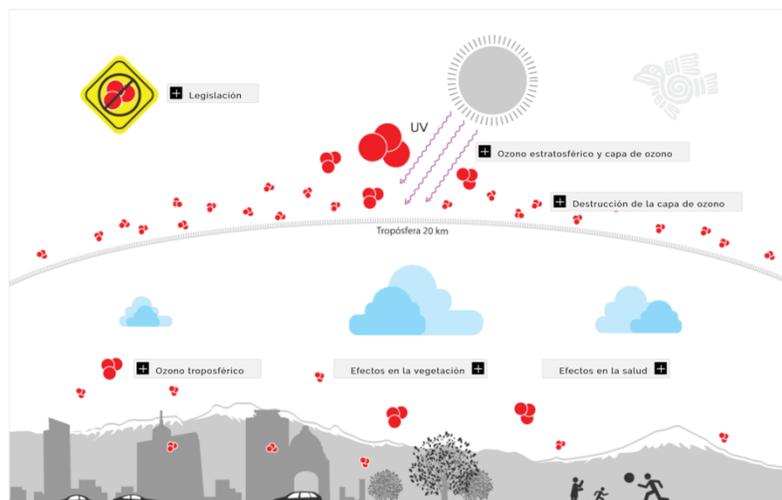


Contaminación en la Ciudad de México. Imagen tomada de: <http://geographyblog.eu/wp/wp-content/uploads/2011/06/mexico-city.jpg>, acceso 27 de noviembre de 2014.

La contaminación fotoquímica por oxidantes, mejor conocida como “smog”, es realmente la mezcla de diversos compuestos gaseosos y aerosoles, de entre los que destacan el ozono (O_3), el dióxido de nitrógeno (NO_2) y los nitratos (NO_3). Una característica importante de los oxidantes es que éstos no son emitidos directamente a la atmósfera, sino que son formados en el aire a través de complicadas reacciones fotoquímicas, las cuales han sido extensamente estudiadas a nivel mundial. La cantidad de oxidantes que se forma en la atmósfera muestra una relación directa con la hora del día, así como con las condiciones meteorológicas y de la naturaleza de las fuentes emisoras de precursores. Los niveles más importantes de O_3 se presentan viento debajo de las principales fuentes de emisión. ³ (Bravo A. , 1999)

El O_3 existe en forma natural en la atmósfera y en ambientes rurales, su presencia se puede deber a dos factores: producción fotoquímica a partir de trazas naturales de monóxido de nitrógeno, metano y monóxido de carbono, o bien a intromisiones de ozono estratosférico a las bajas de la troposfera por medio de complicados mecanismos. Sin embargo, en atmósferas urbanas, la formación del ozono “antropogénico” involucra la interacción de cientos de reacciones simultáneas en las que los mecanismos tipo-radicales libres actúan sobre un gran número de especies y subproductos y compuestos inorgánicos, los cuales llevan a producir niveles de ozono por arriba de los 0.11 ppm.³ (Bravo A. , 1999)

 Ozono (O_3)



La Red Automática de Monitoreo Ambiental (RAMA) es un subsistema integrado por veintinueve estaciones de monitoreo que cuenta con un laboratorio para el mantenimiento y calibración de los equipos. La función principal de la RAMA consiste en rastrear los principales contaminantes y cada día comunica las cifras promedio del día anterior en la dirección electrónica del gobierno de la Ciudad de México, mediante la tabla IMECA (índice metropolitano de la calidad del aire); este índice se basa en los estándares estadounidenses de calidad del aire elaboradas en 1970 por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica, donde se establecieron las concentraciones máximas permisibles (CMP) de lo que se consideró ser los

contaminantes mayores, aquellos que en función directa de tiempo e intensidad de exposición pueden causar daños a la salud.⁴ (www.aire.cdmx.gob.mx, s.f.)

Una manera de proteger la salud de la población es a través del monitoreo y la difusión continuos del estado de la calidad del aire. En la Ciudad de México, actualmente también existe el Sistema de Monitoreo Atmosférico (SIMAT) del que depende la RAMA, el cual es responsable de la medición permanente de los principales contaminantes del aire generando información para toma de decisiones a favor de la población. El SIMAT cuenta con más de 40 sitios de monitoreo distribuidos en el área metropolitana, estos sitios se conocen como estaciones de monitoreo, que miden de manera continua los contaminantes. Indicadores requeridos por la normatividad federal: dióxido de azufre, monóxido de carbono, dióxido de nitrógeno, ozono y partículas suspendidas. En la actualidad también se mide la radiación solar ultravioleta.⁴ (www.aire.cdmx.gob.mx, s.f.)

Un factor importante para la vida es el aire, lo preocupante es que hoy, no es lo suficientemente limpio para garantizar el bienestar humano. El aire puro es una mezcla gaseosa compuesta por un 78% de nitrógeno, un 21% de oxígeno y 1% de diferentes compuestos tales como el argón, el dióxido de carbono y el ozono. Y cualquier cambio en el equilibrio de esos componentes, se entenderá como contaminación ambiental atmosférica, es decir, la que altera las propiedades físicas y químicas del aire.

Una atmósfera contaminada, implica enfermedad, complicaciones económicas y muerte. Para que una ciudad sea competitiva es fundamental que mejore su calidad de aire.⁵ (Riojas, 2017)

Recientemente se ha demostrado que existe una relación entre el incremento en la concentración de los contaminantes del aire y el aumento de las enfermedades respiratorias y cardiovasculares. Algunos contaminantes como las partículas suspendidas además están asociadas con el aumento en las visitas a sala de urgencias y a la mortalidad.⁴ (www.aire.cdmx.gob.mx, s.f.)

Los principales contaminantes del aire se clasifican en:

Primarios: son los que permanecen en la atmósfera tal y como fueron emitidos por la fuente.

Secundarios: son los que han estado sujetos a cambios químicos, o bien, son el producto en la reacción de dos o más contaminantes primarios en la atmósfera. Entre ellos destacan los oxidantes fotoquímicos y algunos radicales de corta existencia como el ozono² (Bravo A. H., 1990)

Se han estudiado los efectos tóxicos por el ozono (O₃) en las mucosas, la mayor repercusión es sobre el tracto respiratorio. Cabe señalar que diversas investigaciones empleando modelos animales de experimentación, han reportado hiperplasia de las células secretoras de la mucosa nasal, pérdida de cilios y reacción inflamatoria de predominio polimorfonuclear (PMN) después de 6 días de exposición a 0.15 ppm por 8 horas y en animales expuestos por 90 días a 0.30 ppm de O₃ por 8 horas al día, además se han descrito anomalías en las células caliciformes y secreción, aumentando así el daño epitelial⁶ (Calderon, 1994).

El ozono (O₃) es considerado como el principal contaminante del medio atmosférico con repercusión en mucosas, es un gas constituido por moléculas triatómicas de oxígeno. Hasta el momento actual se considera que su efecto sobre los tejidos vivos estriba en su extraordinaria avidéz por las lipoproteínas, las que se degeneran dando lugar a la alteración en las membranas celulares y superoxidación de las enzimas. Los tejidos más sensibles a esta alteración son las mucosas, principalmente la ocular y la respiratoria⁶ (Calderon, 1994)⁷ (McClellan, 1997).

El medio ambiente es un factor determinante en la salud de la población. Hay grupos más vulnerables como los niños, ancianos y neumópatas.¹ (WHO, 2016) ⁸ (Brundtlan, 1999)

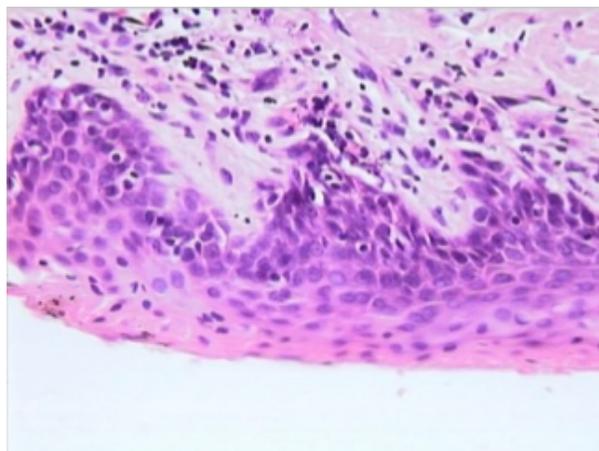
Existen diversos reportes de los efectos nocivos sobre la salud en el humano debido a la contaminación atmosférica. Hay reportes de daño en mucosas del ojo, nariz y garganta, presentando disminución de la función respiratoria y aumentos en las infecciones respiratorias⁸ (Brundtlan, 1999). En los ojos, la película lagrimal es referida con volumen escaso y teniendo una gran superficie de contacto con la atmósfera, no es raro que los contaminantes ambientales actúen con intensidad sobre esta. La acción de los contaminantes se lleva a cabo en la capa lipídica, descomponiéndola, depositándose sobre el margen palpebral y produciendo una blefaritis, mientras actúa con menor intensidad sobre la secreción mucosa y la serosa. La exposición de la superficie ocular y/o un ambiente inapropiado pueden desencadenar síntomas de ojo seco aún en ausencia de otra patología.⁶ (Calderon, 1994) ⁷ (McClellan, 1997).

1.2 Importancia de la conjuntiva

La conjuntiva es una membrana mucosa delgada y transparente que reviste la cara interna de los párpados (conjuntiva palpebral) y cubre la esclerótica anterior (conjuntiva bulbar).

Microscópicamente la conjuntiva está compuesta por:

- a) Epitelio anterior cilíndrico estratificado.
- b) Lámina anterior compuesta de las capas adenoides y fibrosa.



Sus dos principales funciones son: proveer la capa mucosa de la película lagrimal y brindar protección inmunológica.

La córnea y la conjuntiva normal tienen epitelio estratificado no queratinizado. El epitelio tiene numerosas glándulas mucosas unicelulares (células caliciformes o de Goblet) que secretan la capa mucosa interna de la película lagrimal ⁷ (McClellan, 1997) .

La mucina es secretada por las células caliciformes (Goblet) en la conjuntiva, la cual tiene una importante función que consiste en cubrir el epitelio de la superficie ocular para que este se encuentre hidratado. La mucina de la superficie ocular es un componente de la película lagrimal y esto puede evaluarse con la tinción con Rosa de Bengala.⁹ (Shwu-Huey, 1997) ¹⁰ (Pflugfelder, 1985)

La lágrima mantiene la superficie húmeda, lubrica los párpados, transporta metabolitos como oxígeno y CO₂, lava estímulos nocivos, permite el paso de leucocitos después de una herida e inhibe el desarrollo bacteriano por medio de inmunoglobulina A(IgA), lisozima, lactoferrina ¹¹ (Tseng, 1997).

La defensa externa del ojo es efectiva en la población, la cual es conservada por:

- Superficie epitelial intacta
- El flujo de lágrima con sus mecanismos específicos y no específicos
- Presencia de una adecuada y correcta flora conjuntival

Una combinación de factores mecánicos, anatómicos, inmunológicos y microbiológicos previenen el desarrollo de infecciones al globo ocular. Factores mecánicos y anatómicos incluyen el epitelio intacto de la conjuntiva como una parte del organismo que se encuentra expuesta a la tierra y ambiente seco, la superficie ocular también necesita

asumir un rol protector para prevenir la evaporación inducida por deshidratación y la invasión microbiana ⁷ (McClellan, 1997)¹¹ (Tseng, 1997).

Un desequilibrio entre superficie ocular y película lagrimal puede ser apreciada en la enfermedad Queratoconjuntivitis seca (QCS), en la cual los cambios anormales de la superficie ocular se expresan por deficiencia moderada o severa de la lágrima. Estos cambios son caracterizados como metaplasia escamosa¹¹ (Tseng, 1997) ¹² (Scheffer, 1985).

El epitelio debe ser no queratinizado y que produzca mucina para permitir la estabilidad de la película lagrimal. La densidad de las células caliciformes varía en diferentes regiones (conjuntiva bulbar o tarsal). La conjuntiva tarsal tiene mayor densidad de células caliciformes que la bulbar y en la conjuntiva bulbar la densidad de las células es mayor a la limbar ¹² (Scheffer, 1985) ¹³ (Nelson, 1984) ¹⁴ (Saraux, 1985). La pérdida de las células caliciformes (Goblet) y ausencia de mucina en la metaplasia escamosa agravan la severidad de la QCS. Esto ha sido descrita en una variedad de alteraciones de la superficie ocular¹² (Scheffer, 1985) ¹⁵ (Hwang, 2016) ¹⁶ (Singh, 2005).

1.2.1 Signos y síntomas

Los signos y síntomas presentes en estos pacientes son: ojo rojo, ardor, sensación de cuerpo extraño, lagrimeo y prurito ocular, hiperemia conjuntival, papilas, escasos folículos, ruptura lagrimal menor de 10 segundos¹² (Scheffer, 1985) ¹⁵ (Hwang, 2016). La sequedad ocular esta ocasionada por múltiples factores y constituye un grupo de enfermedades bastante frecuentes en la clínica diaria¹⁷ (Shalaby, 1998) ¹⁸ (Murat, 2001). Existen numerosas pruebas utilizadas para el diagnóstico de ojo seco, sin embargo, destacamos la información proporcionada por la citología de impresión, que es la única que permite observar número de células caliciformes, su tamaño y disposición en la

superficie ocular, así como el grado de metaplasia escamosa cuando esta exista¹⁹ (Puangrichrem, 1995)²⁰ (Watanabe, 1997)²¹ (Pflugfelder S. , 1990)²² (Gill, 2016).

Clínicamente para detectar los cambios que se observan a nivel conjuntival, se utiliza la citología de impresión¹⁹ (Puangrichrem, 1995)²² (Gill, 2016) . La tinción de rosa de Bengala para examinar la integridad de la capa de mucina preocular⁹ (Shwu-Huey, 1997)¹¹ (Tseng, 1997).

1.2.2 Citología de impresión

La citología de impresión usando una pieza de papel filtro de acetato de celulosa fue adoptada primero por Egbert, Lauber y Maurice como un procedimiento simple para biopsia conjuntival¹⁶ (Singh, 2005)²² (Gill, 2016). esta técnica ha sido utilizada para estudiar la morfología de la mucosa conjuntival humana. Nelson, la ha utilizado para medir densidad de células caliciformes (Goblet) en ojo seco o bien en otras alteraciones de la superficie ocular. La citología de impresión es una técnica bien tolerada para evaluar los cambios epiteliales de la superficie ocular¹³ (Nelson, 1984)¹¹ (Tseng, 1997)¹⁶ (Singh, 2005).

La metaplasia escamosa de las citologías de impresión fue graduada según la **escala de Nelson:**

0 normal

1 leve

2 moderado

3 grave

Grado 0. Células epiteliales pequeñas y redondas con citoplasma eosinófilo. El núcleo es grande, con una relación núcleo-citoplasma (N/C) de 1:1-1:2. Las células de Goblet >500 cel./mm² de forma oval y con un citoplasma intensamente a la tinción positiva al ácido peryódico de Schiff (PAS (+)).

Grado 1. Células epiteliales ligeramente mayores y más poligonales con citoplasma eosinófilo. El núcleo es menor, con una relación N/C de 1.2, las células de Goblet menos en número 350-500 cel./mm² de forma oval con citoplasma intenso intensamente PAS (+).

Grado 2. Células epiteliales mayores y más poligonales con citoplasma variablemente teñido. El núcleo es menor, con una relación N/C de 1.4-1.5. Las células de Goblet marcadamente disminuidas 100-350 cel./mm² y con citoplasma menos intenso.

Grado 3. Se caracteriza por tener células epiteliales grandes y poligonales con citoplasma basófilo. El núcleo es pequeño, picnótico y, en muchos casos, completamente ausente. La relación N/C es superior a 1.6. El número de células de Goblet es muy pequeño, <100 cel./mm² ¹³ (Nelson, 1984) ¹⁶ (Singh, 2005) ²³ (Sigler, 1995).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El medio ambiente es un factor determinante en la salud de la población. La zona metropolitana de la ciudad de México (ZMCM), está considerada como la Ciudad con más problemas de contaminación atmosférica en México y quizá en el mundo. Se estima que poco más de 9.5 millones de habitantes, del total de la población en la ZMCM, está expuestas diariamente a diferentes grados de contaminación por ozono por arriba de la norma de calidad del aire, existiendo grupos más vulnerables, como son los niños.

Al ozono (O₃) se le atribuye como el principal contaminante del medio atmosférico con repercusión en mucosas.

La conjuntiva bulbar es la mucosa ocular que se encuentra expuesta a los contaminantes ambientales presentes en la atmósfera, mientras se está de vigilia por lo que puede

condicionar cambios clínicos en la superficie ocular y cito estructurales en la conjuntiva bulbar en los escolares de la ZMCM.

Por lo que es necesario conocer en primera instancia las manifestaciones clínicas oftalmológicas (signos y síntomas) asociadas a dicha exposición e identificar si existen cambios citoestructurales en la conjuntiva bulbar derivado de ello.

El establecer las diferencias, nos permitirá considerar las mejores estrategias para continuar con estudios que mejoren la comprensión de estos cambios. Pero sobre todo proponer medidas de higiene ocular en la población expuesta, encaminadas a prevenir enfermedades de la superficie ocular.

3. JUSTIFICACIÓN

A pesar de conocer los daños a la salud que ocasionan la gran mayoría de los contaminantes ambientales atmosféricos, no se ha podido documentar el tipo de alteraciones u asociaciones a nivel ocular en poblaciones vulnerables.

Se debe caracterizar clínicamente el tipo de manifestaciones de la superficie ocular a través de síntomas y signos, e identificar las alteraciones estructurales de la conjuntiva ocular que presenta la población expuesta a la contaminación ambiental atmosférica, especialmente la susceptible. Esto abrirá los espacios en los diferentes campos de estudio (inmunológico, bioquímico, genético entre otros) que permitan conocer mejor a esta entidad. Con ello poder considerar medidas de prevención y protección. Emitir recomendaciones a considerar en las políticas públicas referentes a la conservación de la salud de la población.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuáles serán las manifestaciones clínicas y citoestructurales de la superficie ocular en un grupo vulnerable expuesto a la contaminación ambiental atmosférica en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México?

5. HIPÓTESIS*

La contaminación ambiental atmosférica condiciona manifestaciones clínicas de la superficie ocular y a nivel citoestructural en la conjuntiva bulbar en escolares de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México.

HIPÓTESIS NULA

La contaminación ambiental atmosférica no condiciona manifestaciones clínicas de la superficie ocular ni a nivel citoestructural en la conjuntiva bulbar en escolares de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México.

HIPÓTESIS ALTERNA

La contaminación ambiental atmosférica produce daño en la conjuntiva bulbar condicionando enfermedad de la superficie ocular de los escolares de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México.

*No requiere de hipótesis, el estudio pretende un alcance exploratorio y descriptivo.

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar las manifestaciones clínicas en la superficie ocular y citoestructurales de la conjuntiva bulbar en los escolares expuestos a la contaminación ambiental atmosférica en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México.

6.2 Objetivos Específicos

- I. Caracterizar las manifestaciones clínicas a través de los síntomas que se interrogan y los signos que se exploran en la población vulnerable expuesta.
- II. Establecer la concordancia entre los oftalmólogos evaluadores de los signos a evaluar en la población vulnerable expuesta.
- III. Caracterizar las alteraciones citoestructurales que presenta la conjuntiva bulbar en la población vulnerable expuesta.

7. MÉTODO

7.1 Variables generales de estudio

Superficie ocular.

Definición operativa: entidad anatómicamente compuesta por diferentes estructuras oculares: conjuntiva, limbo, córnea y película lagrimal.

Definición conceptual: síntomas a interrogar (ojo rojo, ardor, lagrimeo, fotofobia, sensación de cuerpo extraño, prurito) y signos a explorar (hiperemia, papilas, folículos, secreción, tiempo de la ruptura de la película lagrimal y tinción de la conjuntiva) señalados por consenso de expertos.

Contaminación ambiental atmosférica.

Definición operativa: cualquier cambio en el equilibrio de los componentes del aire puro, lo que altera las propiedades físicas y químicas.

Definición conceptual: exposición por arriba de las normas permitidas que incluya la medición ambiental de 0.11 ppm promedio máximo de ozono en una hora.

Grupo vulnerable.

Definición operativa: niños, ancianos y neumópatas (OMS).

Definición conceptual: escolares en rango de edad de 10-12 años.

7.2 Tipo y diseño de estudio

Tipo de estudio exploratorio

Diseño de investigación: Estudio transversal, observacional y prospectivo.

7.3 Muestra

7.3.1 Selección de la muestra y cálculo

Muestreo no probabilístico, por conveniencia²⁷ (Hulley, 2014) ²⁸ (Casal J. , 2003).

El tamaño de la muestra ²⁷ (Hulley, 2014) necesario se calculó en función de la diferencia de proporciones del parámetro en la alteración del tiempo de ruptura de la película lagrimal. Es decir, se espera que en el grupo de expuestos exista un porcentaje de 80% de alteraciones, mientras que solo el 20% en el grupo no expuesto.

Con un nivel de confianza 95% (NC)

Potencia 90%

Porcentaje esperado en el grupo de expuestos: 80% (P1)

Porcentaje esperado en el grupo de no expuestos 20% (P2)

El objetivo fue determinar el tamaño de muestra necesario para estimar si existen diferencias en las proporciones de los dos grupos.

Para poder estimar si la proporción de expuestos (80%) es distinta de la proporción de no expuestos (20%), se requiere evaluar 11 escolares de cada grupo.

Sí solo quisiéramos determinar que la proporción del grupo expuesto (80%) es mayor que la proporción del grupo no expuesto (20%) solo necesitaremos evaluar a 9 escolares de cada grupo ²⁸ (Casal, 2003).

7.4 Criterios de selección

A. Criterios de inclusión

- niños en el rango de 10 a 12 años,
- quinto o sexto año educación primaria,
- ambos sexos,
- buen estado de salud, sin alergias o atopias conocidas,
- haber cursado todo el año escolar previo en la misma escuela,
- vivir dentro de los límites de la delegación referida desde hace un año,
- consentimiento bajo información firmado de autorización por padre, madre o tutor legal, para realizar la citología de impresión.

B. Criterios de no inclusión

- escolares con antecedente o diagnóstico de enfermedad sistémica u ocular,
- se encuentren usando algún tipo de medicamento tópico y/u oral de cualquier índole,
- escolares usuarios de lentes de contacto,
- antecedente de trauma o cirugía ocular,
- escolares que practiquen natación.

C. Criterios de eliminación

- no haber completado el interrogatorio o revisión oftalmológica,
- escolares que no permitieran la realización de la citología de impresión y/o frotis.

7.5 Instrumento

El presente se conformó de varias fases, para su construcción.

Fase 1. Síntoma a interrogar y signos a explorar de acuerdo al consenso de expertos.

Fase 2. Concordancia para la evaluación de los signos a explorar, por especialistas.

Fase 3. Hoja de recolección para el trabajo de campo.

7.6 Consideraciones Éticas

Principios y preceptos Asociación Médica Mundial.

Apego al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, título segundo, capítulo I y III.

Dictamen de aprobación en comité de Ética e Investigación. IMSS Hospital de Especialidades CMN SXXI.

Consentimiento bajo información.

Trato digno y Confidencialidad.

7.7 Procedimiento

Para lograr lo anterior, el presente estuvo diseñado en tres fases, las cuales nombramos como:

1. *Consenso de expertos*, para la caracterización de las manifestaciones clínicas de los síntomas y signos que se deben considerar en el interrogatorio y en la exploración, pues aún no se reconoce como una entidad plenamente descrita en la patología oftalmológica.
2. *Concordancia*, este procedimiento nos permitió conocer que tanto coinciden los evaluadores (oftalmólogos) en la identificación de los signos a considerar según los expertos.
3. *Campo*, en él se llevó a cabo la aplicación de las dos fases anteriores, es decir, ante la población de estudio se interrogó, exploró y se realizó toma de muestra por citología de impresión a la conjuntiva bulbar expuesta.

7.7.1 FASE 1

Consenso de expertos

En esta fase se buscó la opinión de expertos para alcanzar un acuerdo, por consenso formal, método Delphi.

Este consenso fue conformado por diez expertos oftalmólogos subespecialistas en córnea, cirugía refractiva, trasplante y enfermedades externas de los ojos, con actividad clínica institucional ininterrumpida en los últimos tres años, que aceptaron la sesión de trabajo.

A partir de una presentación documentada y luego de presentar el objetivo de estudio por el moderador, se pasó a una discusión abierta para recoger la posibilidad de considerar los síntomas y signos que se deberían interrogar y explorar, con la intención de establecer las primeras asociaciones ante la exposición de la contaminación ambiental atmosférica y su repercusión ocular.

Toda vez que se identificaron los síntomas y signos (manifestaciones clínicas de la superficie ocular), se procedió a realizar votación de cada uno de los síntomas y signos (acuerdo o desacuerdo), y conocer el orden de importancia en el que consideraron a los síntomas.

Una vez construida la tabla que consideró los síntomas y signos (ítems) a valorar, el porcentaje de acuerdo y desacuerdo, se procedió a validar la confiabilidad de los ítems para la construcción del instrumento de evaluación.

Para establecer la frecuencia de presentación de las manifestaciones clínicas en una población expuesta, se participó de este consenso de expertos para realizar la aproximación de dicha estimación (que permitiría establecer el cálculo de la muestra).

7.7.2 FASE 2

Concordancia

El Instrumento de medición que se construye con los ítems del consenso de expertos, determinará la frecuencia de presentación de las variables validadas para síntomas y signos de una población vulnerable y expuesta a la contaminación ambiental atmosférica.

Derivado de que en la atención clínica no es raro, que existan diferencias de interpretación ante el mismo dato se debe establecer la concordancia ²⁶ (Cerde, 2008) entre observadores de los signos a evaluar como variables cualitativas de tipo dicotómica (presente/ausente). Se corrió prueba de evaluación a 10 pacientes a ciegas en antecedentes y diagnóstico de la consulta externa de primera vez del Instituto de Oftalmología FAP Conde de Valenciana, por dos oftalmólogos egresados como especialistas con un mínimo de experiencia de dos años.

Esta medida representa la proporción de observaciones en las cuales los observadores reportan resultados iguales, mide por tanto la variabilidad entre observadores. No considera la posibilidad de que las coincidencias sean debidas al azar. Para lo cual necesitaremos definir operativamente las variables a evaluar en el interrogatorio (síntomas) y sobre todo en esta fase, para la exploración, siendo necesario que los observadores que intervendrán en ella lo conozcan con precisión, de esta manera se determinó la concordancia por ambos observadores oftalmólogos.

Variables Síntomas oculares	Definición operativa	Escala de Medición dicotómica
Ojo Rojo	Enrojecimiento en la porción anterior del ojo	presente/ausente
Ardor	Sensación de irritación o quemazón	presente/ausente
Lagrimo	Exceso constante de lagrimas	presente/ausente
Fotofobia	Intolerancia anormal a la luz	presente/ausente
Sensación de cuerpo extraño	Sensación incomoda de algún objeto	presente/ausente
Prurito	Sensación de comezón o picor	presente/ausente
Variables Signos oculares	Definición operativa	Escala de Medición dicotómica
Hiperemia	Presencia de vasos ingurgitados (dilatados) en la conjuntiva	presente/ausente
Papilas	Inflamación crónica elevada con vasos sanguíneos centrales y tabicada	presente/ausente
Folículos	Hiperplasia de tejido linfoide vascularizado (traslucido y elevado)	presente/ausente
Secreción	Producción anormal de material seroso o mucoide en fondos de saco	presente/ausente
TRPL (tiempo de ruptura de la película lagrimal)	Medición del tiempo en segundos en el lapso de un primer parpadeo y la aparición de la primera imagen de sequedad, luego de la aplicación de fluoresceína (<10 seg)	Alterada (<10 seg) / no alterada (>10 seg)
Tinción conjuntiva (Fluoresceína)	Tinción que evidencia daño en la superficie del ojo, a través del teñido (+) en la superficie con luz azul de cobalto	alterada (+) / no alterada (-)

7.7.3 FASE 3

Estudio de Campo

Consistió en la caracterización clínica y cito estructural de la superficie ocular expuesta a la contaminación ambiental en un grupo vulnerable de escolares, en comparación a no expuestos. Luego de considerar las variables dependientes a evaluar, en las dos fases previas.

Variable Independiente

Exposición ambiental atmosférica (medido a través del Índice de la calidad de aire).

El índice de calidad de aire en la ZMVT (IMECA), en el mes de noviembre del 2001, fecha en la que llevo a cabo la fase de campo, registró un día de condición considerada buena, es decir, 27 días con índice de IMECA satisfactorio y 01 día malo, promedio de IMECAS máximo fue de 53. ³⁰ (htt) ³¹ (htt1)

Mientras que los índices de calidad del aire del ZMCM (IMECA), reportaban un promedio mensual máximos diarios de 94 (IMECAS) 0.103ppm y concentración máxima de 149 (IMECAS) y 0.170pmm con 13 días arriba de la norma. ³⁰ (htt) ³¹ (htt1)

COMPORTAMIENTO ANUAL DE VALORES DE O ₃				
ZM Valle de Toluca			ZM Ciudad de México	
Año	Concentración Máxima Promedio	Número de Días Fuera de Norma	Número de Días Fuera de Norma	%
2000	0.148	39	308	84.2
2001	0.144	15	273	74.8
2002	0.136	20	281	76.7
2003	0.15	14	253	69.3
2004	0.123	8	225	61
2005	0.131	22	221	60.5
		Fuente: RAMA-ZMVT		Fuente: RAMA-ZMCM

Grupo control (no expuestos)

-Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) Delegación Santa Cruz Atzacapotzaltongo. Colegio Springfield.

Grupo de estudio (expuestos)

- Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) Delegación Tlalpan, en avenida canal de Miramontes. Colegio Alejandro Guillot.

En ambos colegios se consideró nivel primaria, del quinto a sexto año escolar de su formación académica, ya que los síntomas a evaluar se interrogarían de manera directa, durante la última semana al estudio incluyendo el día de la evaluación, así mismo los colegios fueron de la iniciativa privada por la gestión administrativa de las autorizaciones y por la aparente igualdad de condiciones socioeconómicas (medio-alto), disminuyendo así de manera importantemente la probabilidad de deficiencias nutricionales que pudieran alterar la superficie ocular.



ZMVT



ZMCM

7.8 Descripción general y recolección

Realización de estudio oftalmológico (signos y síntomas) a 30 niños escolares por cada grupo (ZMCM y ZMVT).

Estudio de citología por impresión en la conjuntiva bulbar temporal inferior a 18 escolares de cada grupo, en ambos ojos.

Se impartió una plática inicial tanto a maestros, alumnos y padres de familia o tutores legales de los escolares de quinto y sexto grado escolar en primaria, para explicarles el objetivo del estudio, así como obtención del consentimiento informado debidamente firmado para realización de la evaluación. Se les ofreció la opción de canalizarlos a un centro de especialidad (Instituto de Oftalmología, FAP Fundación Conde de Valenciana, IAP) en caso de detectar alguna enfermedad oftalmológica sin tratamiento.

Se realizó Interrogatorio directo a los niños que sus padres hubieran firmado la hoja de consentimiento (Anexo I), preguntando antecedentes patológicos y oftalmológicos, sintomatología ocular (durante los últimos siete días), exploración con lámpara de hendidura por oftalmólogo con experiencia probada. Obtención de muestras de ambos ojos por medio de citología de impresión, previa anestesia tópica (clorhidrato de tetracaína 2.5mg.).



Para la citología de impresión se utilizó papel filtro Millipore de acetato de celulosa (EO4WP04700). Se realizó la Técnica Modificada de PAS para el proceso de papel filtro, la cual consiste en lavar en agua destilada las membranas para quitar el fijador (alcohol del 96%), poner en ácido peryódico al 0.5% por 2 minutos, lavar en agua destilada, agregar el reactivo de Schiff por minuto, lavar en agua corriente, poner en hematoxilina de Harris por 2 minutos, lavar en agua corriente, diferenciar en alcohol (alcohol 70% 50cc + 1.5 cc de ácido clorhídrico QP), lavar en agua corriente, virar en agua amoniacal (hasta que cambie el color, 500 cc de agua destilada + 1 cc de hidróxido de amonio), lavar en agua corriente, deshidratar en alcohol al 96% por 3 veces, un minuto cada uno, poner alcohol absoluto 3 veces por minuto y aclarar en xilol, cambiar 2 veces hasta que la membrana se transparente, por último se monta en resina sintética²² (Gill, 2016) ²⁹ (Fentanes, 1999).



La recolección de los datos obtenidos del interrogatorio fue por personal médico especialista. La revisión siempre fue bajo lámpara de hendidura y la toma de muestras con anestésico local. En ningún momento los autores intervinieron de este proceso, fueron los dos oftalmólogos que participaron en la prueba de concordancia.

El instrumento de evaluación que permitió recabar las variables a evaluar se construyó con los momentos de las fases 1 y 2 (Anexo II).

La revisión y análisis de las muestras fue realizada de manera a cegada por un patólogo experto en microbiología ocular y citología, para analizar la conjuntiva bulbar temporal inferior entre los pacientes de ambos grupos.

8. ANALISIS ESTADISTICO

Fase 1. Validez por CVR (Content Validity Ratio) y CVI (Content Validity Index, CVI).

Fase 2. Concordancia observada e Índice Kappa.

Fase 3. Estadística descriptiva, t de Student, prueba X^2 .

9. RESULTADOS

9.1 FASE 1

Consenso de expertos

Construcción de las manifestaciones clínicas por consenso ²⁴ (Escobar, 2008) de diez expertos de los síntomas y signos a explorar en los escolares expuestos a la contaminación ambiental atmosférica.

Ítem propuesto a interrogar Síntomas	Acuerdo	Desacuerdo	Orden de importancia del síntoma
Ojo Rojo	100	0	1
Ardor	100	0	2
Lagrimo	100	0	3
Fotofobia	90	10	6
Sensación de cuerpo extraño	90	10	4
Prurito	80	20	5

Ítem propuesto a evaluar Signos	Acuerdo	Desacuerdo
Hiperemia	100	0
Papilas	80	20
Folículos	90	10
Secreción	70	30
RPL	100	0
Tinción conjuntiva	100	0

Validez

La confiabilidad de un instrumento de medición hace referencia al “grado en que su aplicación repetida al mismo individuo u objeto produce resultados iguales”.

Por otra parte la validez se refiere al “grado en que un instrumento realmente mide la variable que pretende medir”.

De esta manera, la validez es un concepto que puede presentar distintos tipos de evidencia; una de ellas relacionada con el contenido, otra de ellas relacionada con el criterio, y una tercera relacionada con el constructo²⁵ (Pedrosa, 2014).

Razón de validez de contenido

Content Validity Ratio, CVR definida por la siguiente expresión:

$$CVR = (ne - N/2) / (N/2)$$

Donde: **ne**= número de panelistas que tienen acuerdo en la categoría “esencial”

N= número total de panelistas

No	VARIABLES SÍNTOMAS	RESULTADO CVR
1	Ojo Rojo	1
2	Ardor	1
3	Lagrimo	1
4	Fotofobia	0.8
5	Sensación de cuerpo extraño	0.8
6	Prurito	0.6
	Media	0.86

No	VARIABLES SIGNOS	Resultado CVR
1	Hiperemia	1
2	Papilas	0.6
3	Folículos	0.8
4	Secreción	0.4
5	RPL (ruptura de la película lagrimal)	1
6	Tinción corneo-conjuntival, fluoresceína	1
	Media	0.8

Índice de Validez de Contenido

Partiendo de la CVR calculada para todos los ítems, y aceptando aquellos que cuentan con valores superiores a los mínimos propuestos por Lawshe, se calcula la media de CVR, con lo que se obtiene el Índice de Validez de Contenido de toda la prueba (Content Validity Index, CVI), y que se debe interpretar como **la concordancia entre la capacidad solicitada en un dominio específico y el desempeño solicitado en la prueba que trata de medir dicho dominio**²⁴ (Escobar P. J., 2008).

La expresión para el CVI es:

$$CVI = \frac{\sum_{i=1}^M CVR_i}{M}$$

Donde: **CVR_i**= Razón de Validez de Contenido de los ítems aceptables de acuerdo con el criterio de Lawshe.

M= Total de ítems aceptables de la prueba.

En cuanto a la interpretación de este índice de validez de contenido (CVI), existen dos tendencias en función de que se adopte un criterio más o menos flexible. Así por un lado, es posible interpretarlo bien a nivel de significación estadística, teniendo que ser el CVI

superior a la probabilidad asociada de 0.05 o bien, interpretando directamente el índice obtenido y teniendo que ser superior a 0.80 para definir el conjunto de items como adecuado ²⁵ (Pedrosa, 2014).

Con acuerdo de probabilidad de 80% vs 20%, que se encontrarían alteraciones en la variable de tiempo de ruptura de la película lagrimal (<10 segundos) en la población de escolares expuestos vs no expuestos.

9.2 FASE 2

Concordancia

Para los diversos indicadores contruidos a partir del consenso por los expertos para hacer esta evaluación, se buscó el índice Kappa, el cual recibe una muy buena aceptación, al considerar en su cálculo el papel que pudo tener el azar en las coincidencias de las observaciones ²⁶ (Cerde, 2008).

Coefficiente o índice Kappa

$$K = \frac{Co - Ce}{1 - Ce}$$

Dónde:

Co = concordancia observada = $(a + d) / n$

Ce = concordancia esperada por azar

$$= \{[(a + b) / n] \times [(a + c) / n]\} + \{[(c + d) / n] \times [(b + d) / n]\}$$

Fórmula alternativa

$$K = \frac{Co - Ce}{1 - Ce}$$

$$1 - Ce$$

Dónde:

$$Co = (a + d) / n$$

$$Ce = \frac{(a + b)(a + c) + (c + d)(b + d)}{n^2}$$

	Observador 2		
Observador 1	Hiperemia presente	Hiperemia ausente	Total
Hiperemia presente	9	1	10
Hiperemia ausente	1	9	10
Total	10	10	20

Índice Kappa: 0.8

Concordancia observada: 0.9

Concordancia esperada: 0.5

	Observador 2		
Observador 1	Papilas presente	Papilas ausente	Total
Papilas presente	8	1	09
Papilas ausente	2	9	11
Total	10	10	20

Índice Kappa: 0.7

Concordancia observada: 0.85

Concordancia esperada: 0.5

	Observador 2		
Observador 1	Folículos presente	Folículos ausente	Total
Folículos presente	7	3	10
Folículos ausente	3	7	10
Total	10	10	20

Índice Kappa: 0.4

Concordancia observada: 0.7

Concordancia esperada: 0.5

	Observador 2		
Observador 1	Secreción presente	Secreción ausente	Total
Secreción presente	9	1	10
Secreción ausente	1	9	10
Total	10	10	20

Índice Kappa: 0.8

Concordancia observada: 0.6

Concordancia esperada: 0.5

	Observador 2		
Observador 1	Tinción presente	Tinción ausente	Total
Tinción presente	10	0	10
Tinción ausente	0	10	10
Total	10	10	20

Índice Kappa: 1

Concordancia observada: 1

Concordancia esperada: 0.5

No	Item Signos	Índice Kappa (k)
1	Hiperemia	0.8
2	Papilas	0.7
3	Folículos	0.4
4	Secreción	0.8
5	Tinción corneo-conjuntival	1

Medición de la consistencia: Criterios de Landis y Koch²⁶ (Cerde, 2008).

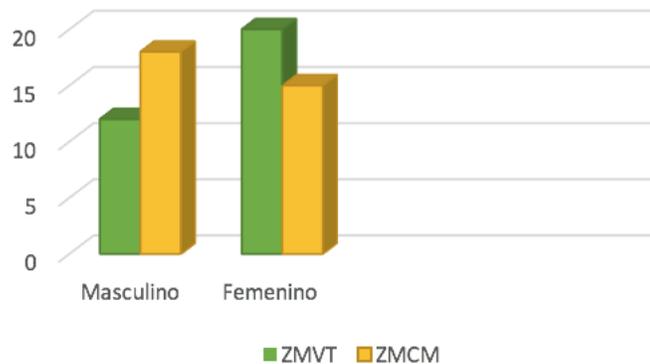
Valor de Kappa	Fuerza de la concordancia
<0	Pobre
0 a 0.20	Leve
0.21 a 0.40	Mediana
0.41 a 0.60	Moderada
0.61 a 0.80	Sustancial
0.81 a 1.00	Casi perfecta

Lo anterior permite contar con mediciones fiables por los observadores que evaluarán los signos propuestos por el consenso de expertos y que aplicará en el escenario de campo clínico.

9.3 Fase 3

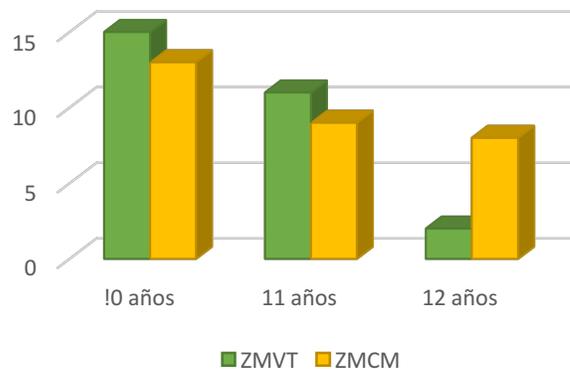
Estudio de campo

Los resultados de los 60 niños y las 36 citologías de ambos grupos, fueron los siguientes: Su distribución por sexo fue mayor para el femenino en la ZMVT (Toluca) como lo muestra la “GRÁFICA 1. DISTRIBUCIÓN POR SEXO”.



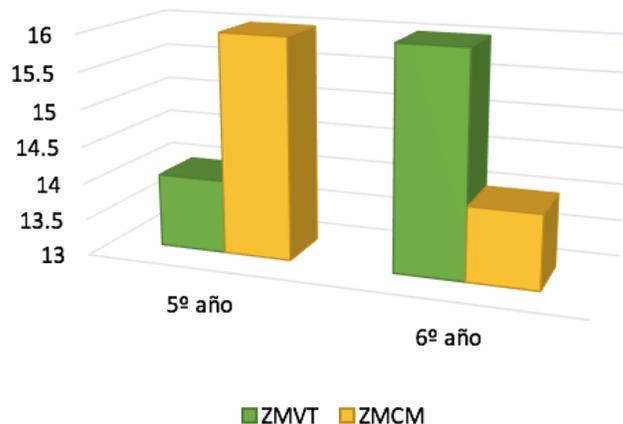
GRÁFICA 1. DISTRIBUCIÓN POR SEXO

La distribución por edades se muestra en la “GRÁFICA 2. GRUPO POR EDADES”, encontrando una media en la ZMVT (Toluca) de 10.46 años y en el ZMCM (DF) de 10.86 años.



GRÁFICA 2. GRUPO POR EDADES.

En cuanto al grado escolar, la “GRÁFICA 3. GRADO ESCOLAR” muestra que la mayoría de los niños de la ZMVT (Toluca) corresponden al 6º grado escolar. En la ZMCM (D.F.) son del 5ª grado.



GRÁFICA 3. GRADO ESCOLAR

Las características clínicas oculares son representadas en las siguientes tablas:

Tabla 1. Síntomas oculares y Tabla 2. Signos oculares.

TABLA 1. SÍNTOMAS OCULARES						
Síntomas	ZMVT (Toluca)		ZMCM (D.F.)		Valor estadístico	
	Ausente	Presente	Ausente	Presente	X ²	P
Ojo rojo	22	8 (26.6%)	22	8 (26.6%)	---	NS*
Ardor	27	3 (10%)	14	16(53.3%)	10.8	0.0011
Lagrimo	28	2 (6.6%)	17	13(43.3%)	10.755	0.0011
Fotofobia	28	2 (6.6%)	20	10(33.3%)	6.666	0.0099
Sensación de cuerpo extraño	28	2 (6.6%)	14	16(53.3%)	15.555	0.0001
Prurito	16	14(46.6%)	14	16(53.3%)	0.2666	NS

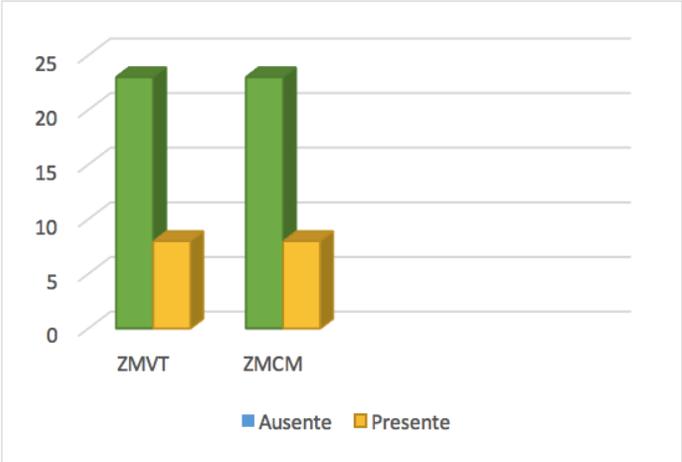
*Valor no significativo. El valor p define la probabilidad de error de la diferencia entre los grupos.

TABLA 2. SÍGNOS OCULARES				
Signos	ZMVT (Toluca)	ZMCM (D.F.)	Valor estadístico	
	Presente	Presente	X ²	P
Hiperemia	24 (80%)	30 (100%)	6.666	0.009
Papilas	24 (80%)	23 (76.6%)	0.0981	NS*
Folículos	24 (80%)	11 (36.6%)	11.588	0.0007
Secreción	9 (30%)	11 (36.6%)	0.3	NS

	ZMVT (Toluca)	ZMCM (D.F.)	Valor estadístico	
	Alteración	Alteración	X ²	p
RPL	3 (10%)	16 (53.3%)	13.016	0.0004
Tinción				
Conjuntiva	0 (0%)	5 (16.6%)	5.4545	0.019
Córnea	0 (0%)	5 (16.6%)		

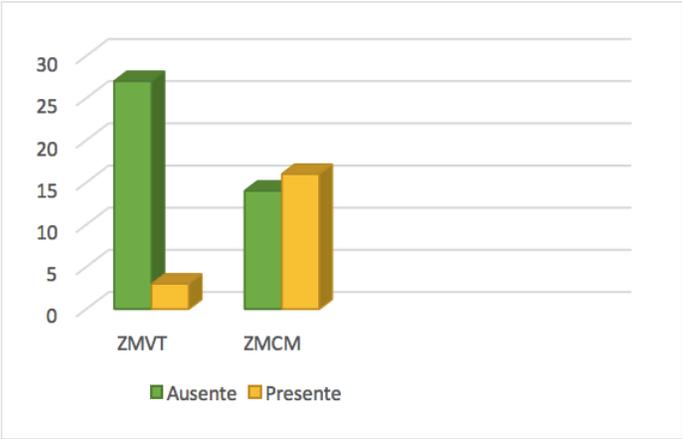
*Valor no significativo. El valor p define la probabilidad de error de la diferencia entre los grupos.

A continuación, se muestran los resultados de forma gráfica del síntoma de ojo rojo (GRÁFICA 4. OJO ROJO). No hay diferencias entre los escolares de la ZMVT (Toluca) y de la ZMCM (D.F.).



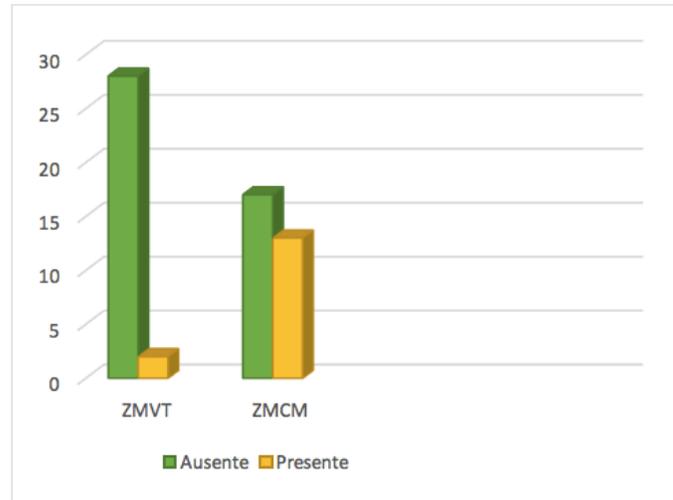
GRÁFICA 4. OJO ROJO

El síntoma ardor se muestra en la “GRÁFICA 5. ARDOR”, se observa un mayor número de presentación para la ZMCM (D.F.).



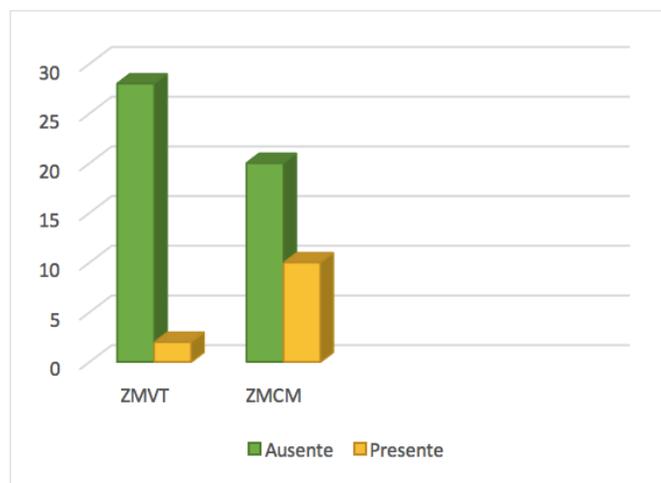
GRÁFICA 5. ARDOR

En la “GRÁFICA 6. LAGRIMEO”, el lagrimeo también es mayor para la ZMCM (D.F.).



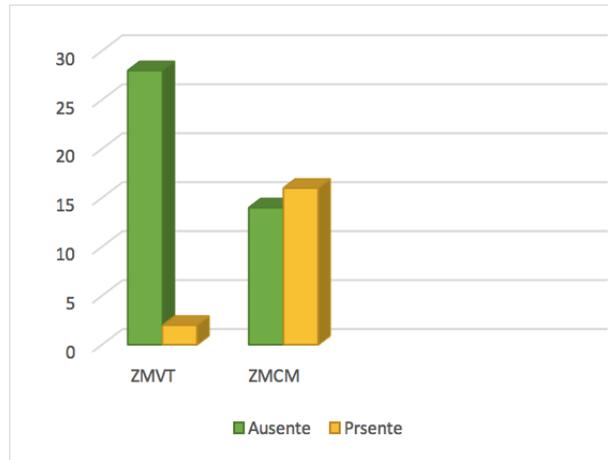
GRÁFICA 6. LAGRIMEO

El síntoma fofobia se muestra en la “GRÁFICA 7. FOTOFOBIA”, siendo para la ZMCM (D.F.) la mayor frecuencia de presentación.



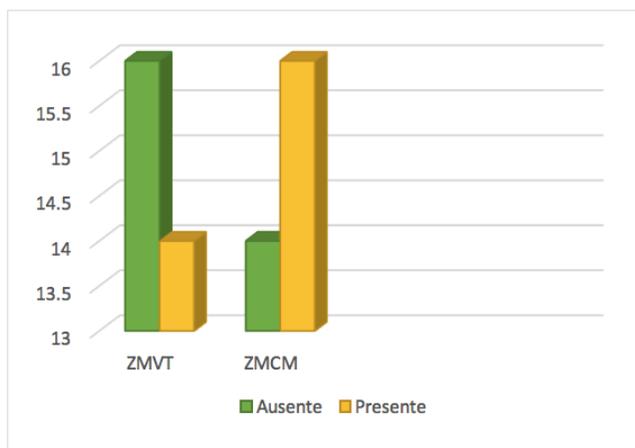
GRÁFICA 7. FOTOFOBIA

La sensación de cuerpo extraño en la “GRÁFICA 8. SENSACIÓN DE CUERPO EXTRAÑO”, no fue la excepción, pues muestra una mayor frecuencia de presentación en los escolares la ZMCM (D.F.).



GRÁFICA 8. SENSACIÓN DE CUERPO EXTRAÑO

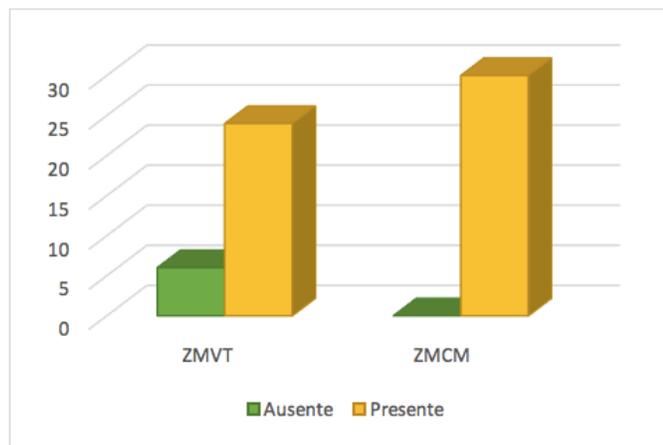
La “GRÁFICA 9. PRURITO”, muestra la presentación encontrada para el síntoma de prurito ocular, la frecuencia que observa es en espejo, es decir, mismo número para la presencia del prurito en la ZMCM (D.F.) que para la ausencia del síntoma en la ZMVT (Toluca).



GRÁFICA 9. PRURITO

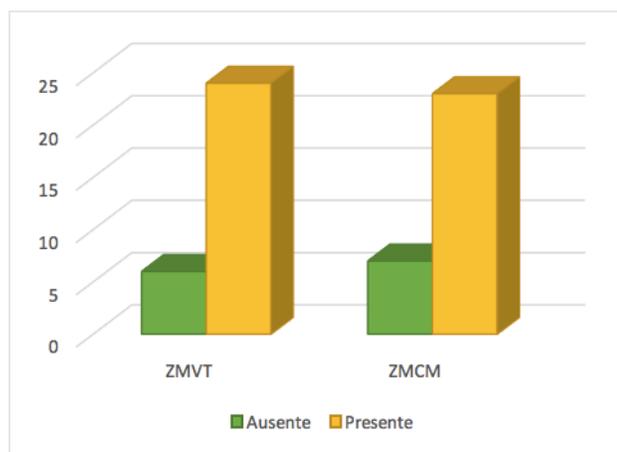
Las siguientes gráficas muestran los resultados de los seis signos oculares evaluados por los oftalmólogos en el estudio de campo: hiperemia, papilas, folículos, secreción, película lagrimal, tinción en cornea y conjuntiva.

La “GRÁFICA 10. HIPEREMIA CONJUNTIVAL”, evidencia el signo de hiperemia conjuntival, el cual está presente en ambas poblaciones ZMCM (DF) y ZMVT (Toluca).



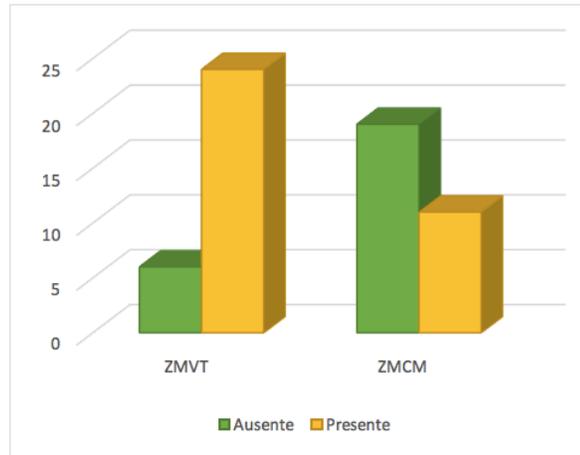
GRÁFICA 10. HIPEREMIA CONJUNTIVAL

La “GRÁFICA 11. PAPILAS”, muestra la distribución encontrada para el signo ocular de papilas, siendo la frecuencia de presentación similar para ambas poblaciones, ZMCM (DF) y ZMVT (Toluca).



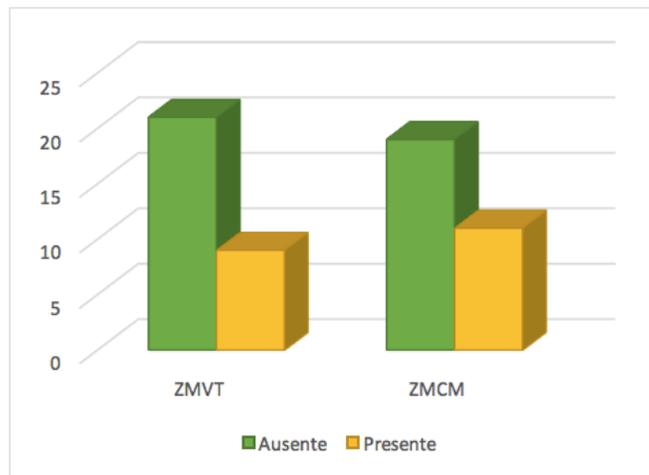
GRÁFICA 11. PAPILAS

La “GRÁFICA 12. FOLÍCULOS”, muestra la distribución encontrada para el signo ocular de folículos, siendo mayor la presentación para los escolares de la ZMVT (Toluca).



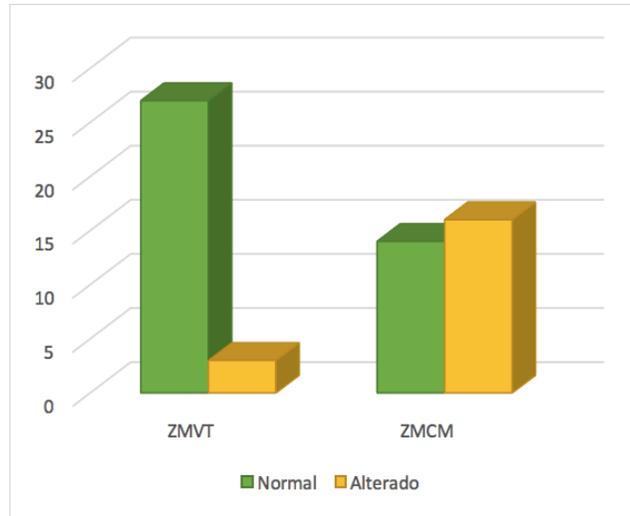
GRÁFICA 12. FOLÍCULOS

La “GRÁFICA 13. SECRECIÓN”, muestra los hallazgos encontrados para el signo ocular de secreción, siendo muy parecidas en ambas poblaciones ZMCM (DF) y ZMVT (Toluca).



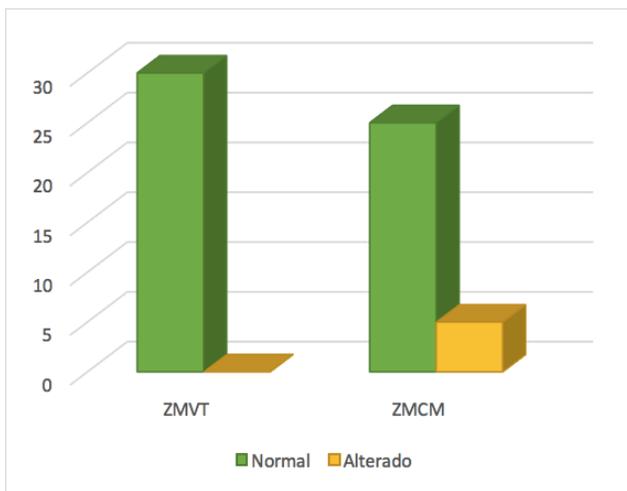
GRÁFICA 13. SECRECIÓN

La “GRÁFICA 14. PELÍCULA LAGRIMAL”, muestra la frecuencia de presentación para el signo evaluado de alteración en la ruptura de la película lagrimal (punto de corte 10), la cual se encuentra alterada en los escolares en la ZMCM (D.F).

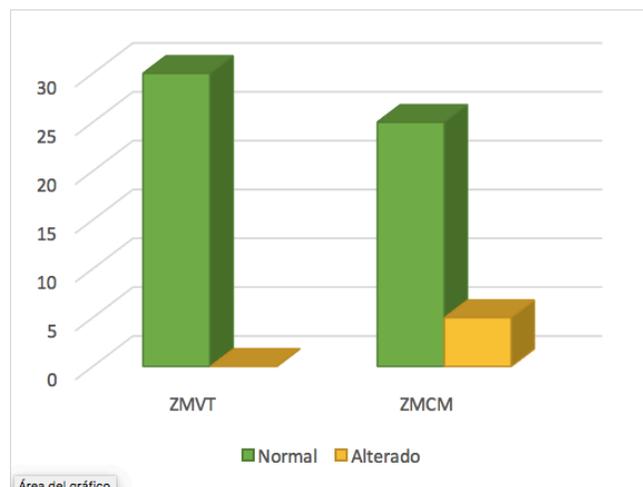


GRÁFICA 14. PELÍCULA LAGRIMAL

La “GRÁFICA 15. TINCIÓN DE SUPERFICIE: CONJUNTIVA” y la “GRÁFICA 16. TINCIÓN DE SUPERFICIE CORNEAL”, describen la alteración encontrada en la superficie ocular con la tinción de fluoresceína empleada para la detección de alteración en el epitelio corneo-conjuntival, la cual tiene mayor presencia en los escolares de la ZMCM (D.F).



GRÁFICA 15. TINCIÓN DE SUPERFICIE: CONJUNTIVA



GRÁFICA 16. TINCIÓN DE SUPERFICIE CORNEAL

Tabla 3. Muestra los resultados encontrados en la citología de impresión.

El área del campo con el que se observó al microscopio fue de 180.5 micras cuadradas.

TABLA 3. CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN. NÚMERO DE CÉLULAS POR mm²					
MUESTRA		TOLUCA (ZMVT)		DF (ZMCM)	
		Cel. epiteliales	Cel. Caliciformes	Cel. epiteliales	Cel. Caliciformes
1	OD	2310	742.5	1925	209
	OI	2310	671	2255	253
2	OD	2200	83.5	715	82.5
	OI	1650	187	1760	242
3	OD	2612.5	1001	1650	143
	OI	2255	352	1980	214.5
4	OD	2728	1127.5	715	11
	OI	1760	313	2145	495
5	OD	1705	462	1650	374
	OI	1815	330	1980	577.5
6	OD	1760	302.5	1732.5	148.5
	OI	2090	610.5	2255	385
7	OD	2475	819.5	990	22
	OI	2805	1210	605	27.5
8	OD	1787.5	93.5	2365	192.5
	OI	2090	126.5	2200	456.5
9	OD	1237.5	335.5	2090	165
	OI	2805	1100	330	44
10	OD	1760	187	1980	605
	OI	3162.5	1787.5	2750	550
11	OD	605	66	1650	115.5
	OI	2200	555.5	1540	110
12	OD	1732.5	55	2200	231
	OI	2750	874.5	1650	258.5
13	OD	1815	170.5	1650	275
	OI	2475	220	1677.5	308
14	OD	2090	500.5	1980	247.5
	OI	1859	269.5	2145	297
15	OD	2200	176	1430	253
	OI	1650	148.5	2200	198
16	OD	1540	82.5	2750	506
	OI	1815	181.5	1750	385
17	OD	1980	231	2117.5	71.5
	OI	2145	649	2249.5	170.5
18	OD	1650	247.5	2915	467.5
	OI	1705	121	2200	302.5

En cuanto a los resultados de la citología de impresión, las células caliciformes en la ZMVT (Toluca) muestra una media de 82.916, desviación estándar de 72.995 y un error muestral (EEm) de 12.165, mientras que en la ZMCM (D.F). Una medida de 47.5, desviación estándar de 29.819 (EEm) de 4.969; aplicando la prueba t de Student para grupos independientes, se obtiene un valor $t = 2.694$, por lo que se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con una probabilidad de error $p = 0.008$

	ZMVT (TOLUCA)	ZMCM (D.F.)
	Células caliciformes	Células caliciformes
Media	82.91	47.50
DS	72.99	29.81
EEm	12.16	4.96
	$*t = 2.96$ $p = 0.008$	

**t de Student para grupos independientes*

Por otra parte, es necesario señalar que no hubo alteraciones en el conteo de células epiteliales, los grupos se comportaron muy similar, en número, y morfología, por lo que la escala de acuerdo a etapificación de Nelson, no pudo ser aplicada.

CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN EN ESCOLARES DE LA ZMVT (TOLUCA)

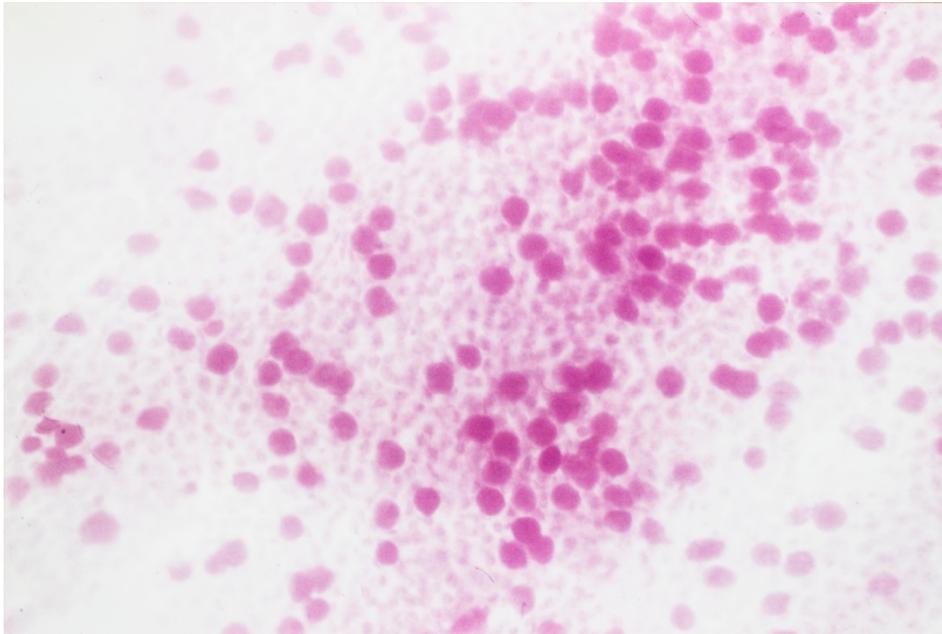


Imagen 1. Citología de impresión (x16). Conjuntiva bulbar temporal inferior. Tinción PAS. Se observan abundantes células caliciformes, células epiteliales con morfología conservada.

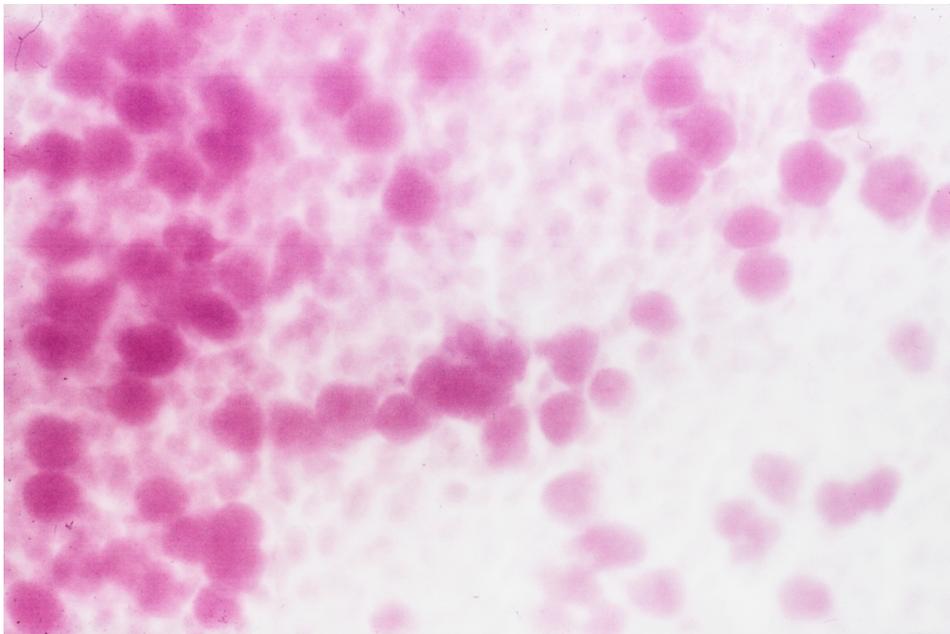


Imagen 2. Citología de impresión (x40). Tinción de PAS. Conjuntiva bulbar temporal inferior. Se observan abundantes células caliciformes, células epiteliales pequeñas y unidas.

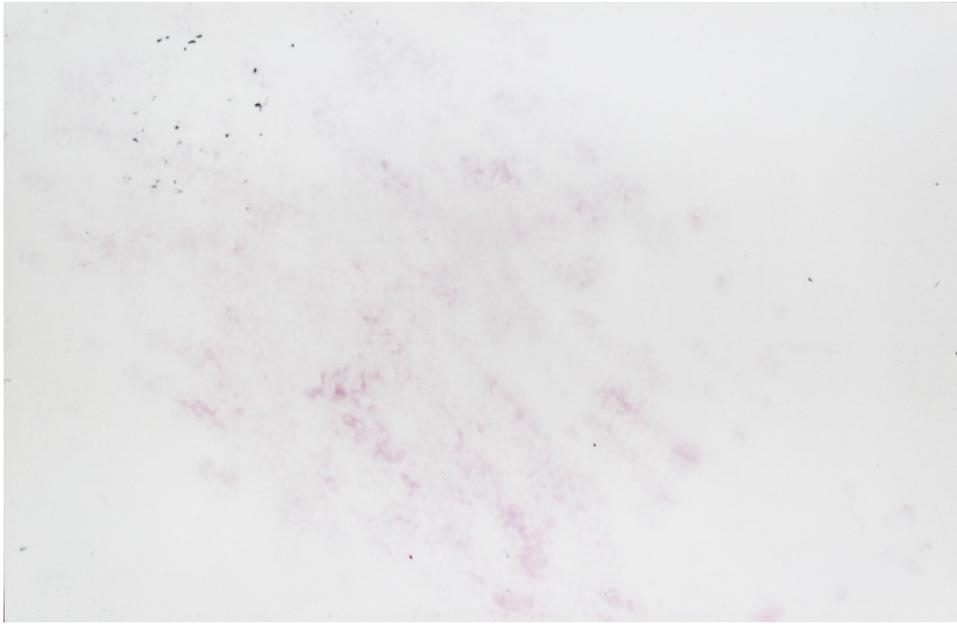


Imagen 3. Frotis conjuntival (x10). Se evidencia abundante lago de mucina

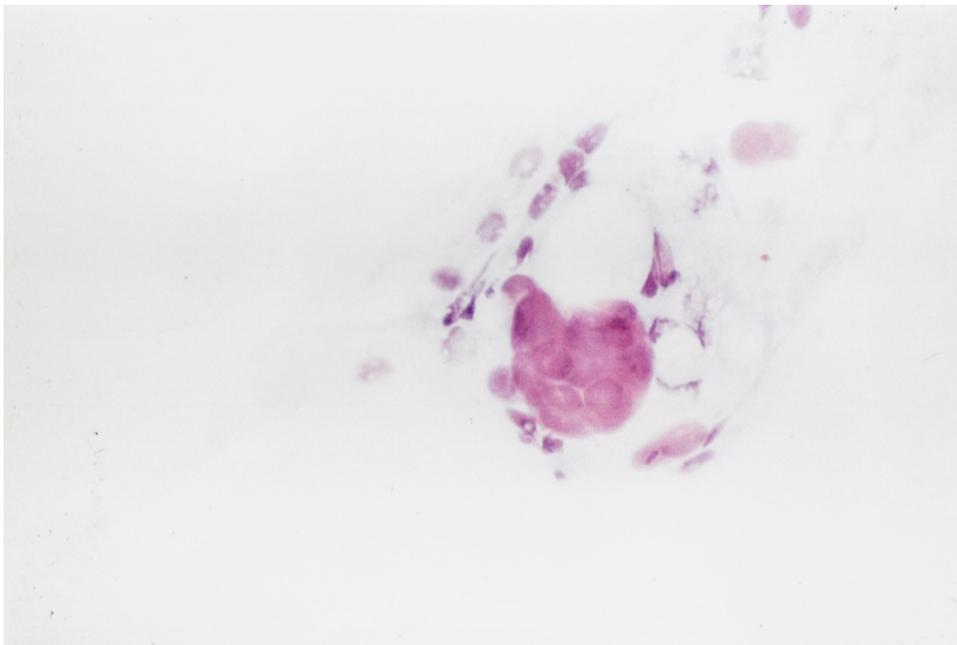


Imagen 4. Citología de impresión (x40). Se evidencian células caliciformes

CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN EN NIÑOS DE LA ZMCM (D.F.)

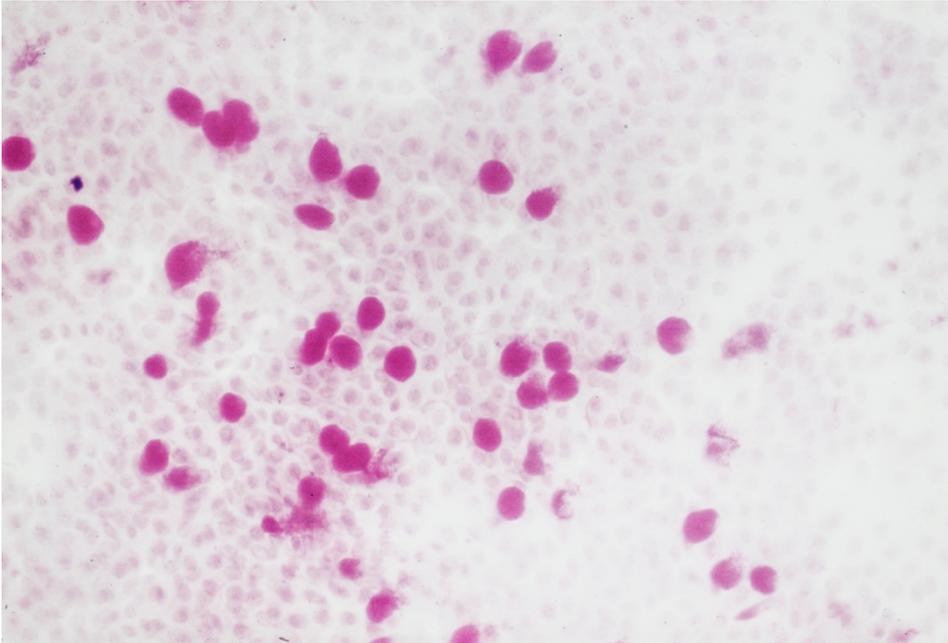


Imagen 5. Citología de impresión (x16). Tinción PAS. Conjuntiva bulbar temporal inferior. Se observan escasa células caliciformes, células epiteliales irregulares.

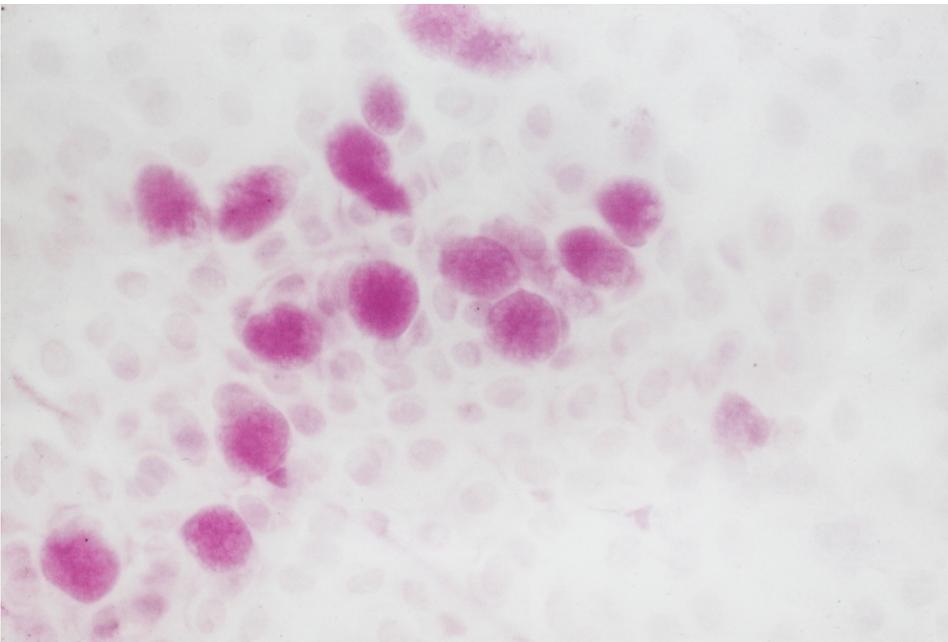


Imagen 6. Citología de impresión (x40). Tinción de PAS. Conjuntiva bulbar temporal inferior. Se observan escasa células caliciformes, células epiteliales irregulares.

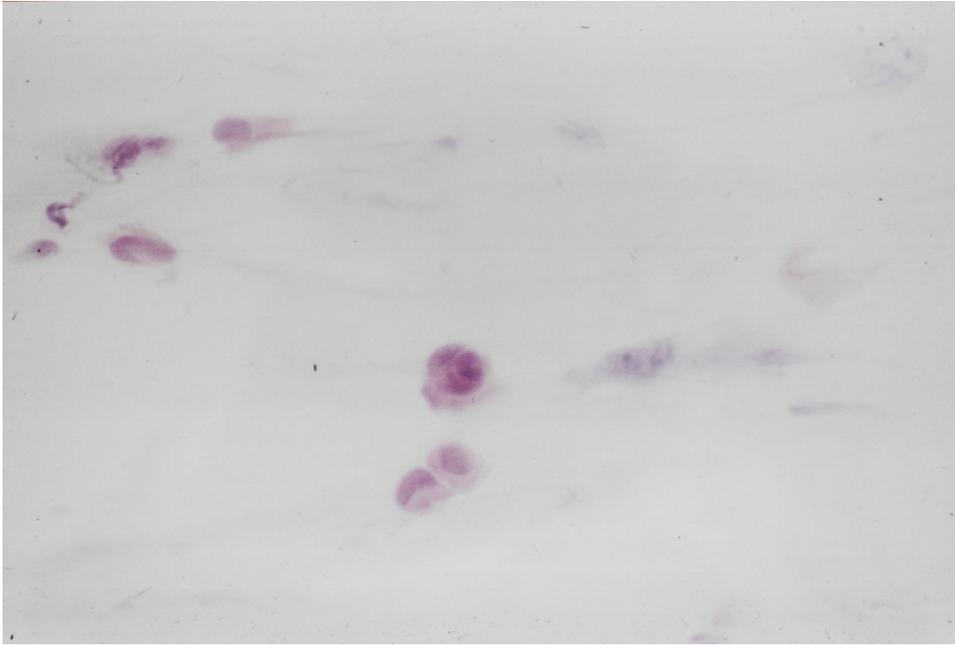


Imagen 7. Frotis conjuntival (x10). No se evidencia lago de mucina, células epiteliales.

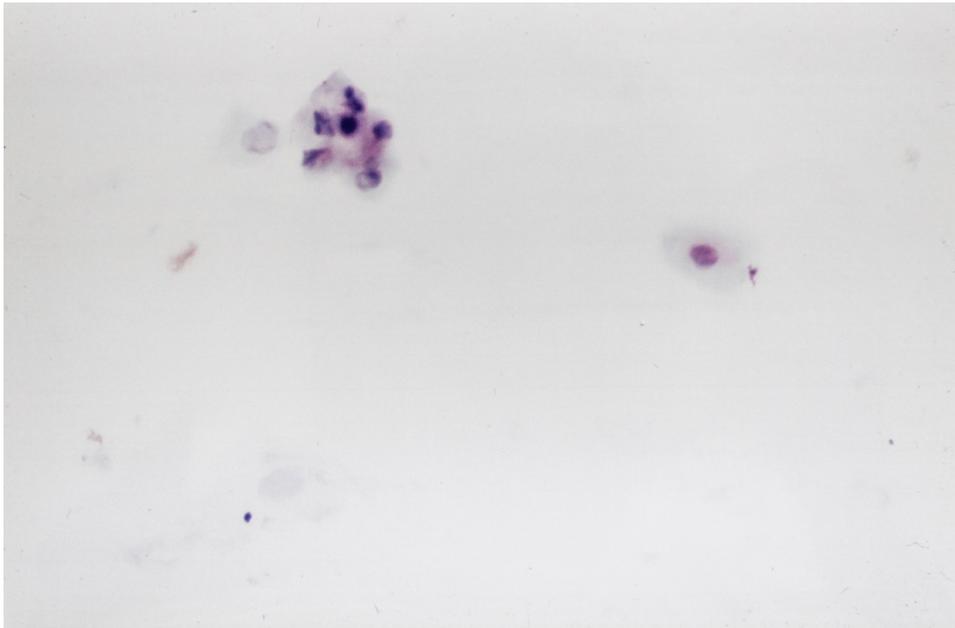


Imagen 8. Frotis conjuntival (x10). Se evidencia células inflamatorias

CITOLOGIA DE IMPRESIÓN INMUNOFLOURESCENCIA DE CELULAS CALICIFORMES

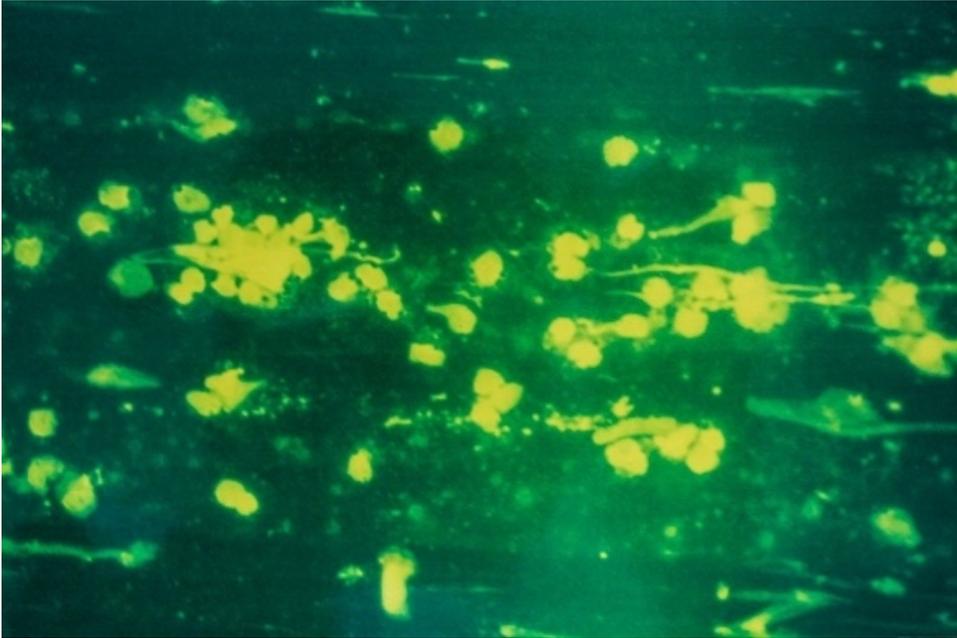


Imagen 9. Inmunofluorescencia directa. Abundantes células caliciformes en grupo ZMVT.

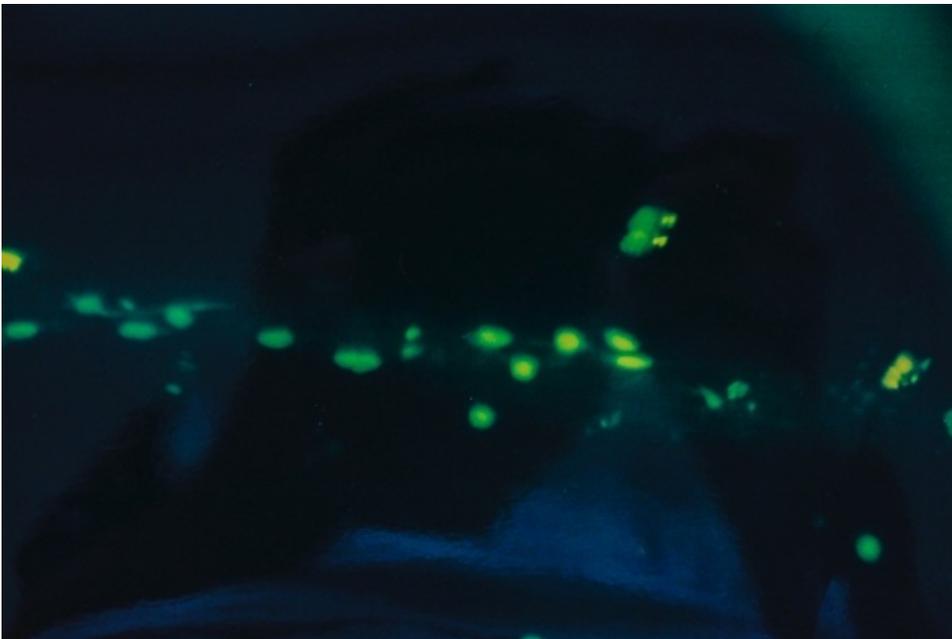


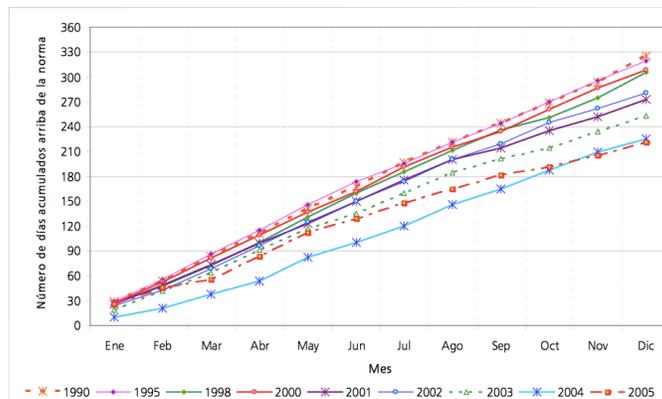
Imagen 10. Inmunofluorescencia directa. Escasas células caliciformes en grupo ZMCM.

10. DISCUSIÓN Y PERSPECTIVA

Los problemas de salud pública provocados por la contaminación ambiental han aumentado en la Ciudad de México debido a los inconvenientes propios de las Mega Ciudades, así como de las características climáticas y orográficas particulares.

La presencia del ciclo fotoquímico del ozono en la ZMCM ya había sido detectada desde finales de los años 50's³ (Bravo A. , 1999). En la década de los 80's los patrones y composición de las emisiones de precursores de ozono han cambiado significativamente, sin embargo, la flota vehicular ha crecido en combustibles típicamente industrial, el combustóleo y el Diésel continúan aumentando, lo mismo que el consumo de las gasolinas² (Bravo A. , 1999) ³ (Bravo A. , 1999). Desafortunadamente diversos factores como la falta de equipo altamente especializado, adecuado control, la situación económica, la mala distribución ambiental y el crecimiento desordenado, han contribuido a que el problema de la contaminación atmosférica por ozono siga en crecimiento como lo muestra la gráfica abajo y aún es un gran reto por resolver.

Gráfica 11. Frecuencia acumulada de días con excedencias a la NOM de ozono en la ZMVM, 1990 – 2005.



Los efectos a la salud asociados con la exposición pueden ser síntomas como la irritación ocular, molestias en la garganta y dolor de cabeza, hasta crisis asmáticas o el aumento en las tasas de morbilidad y mortalidad prematura. La atención médica o pérdida de días de trabajo asociados a esta situación implican costos económicos.

De los órganos más afectados encontramos las mucosas del aparato respiratorio y la conjuntiva. En esta última se presentan alteraciones que se pueden englobar en la entidad llamada “Conjuntivitis por irritación” (ambiental), la cual es más frecuente en grupos vulnerables como son los niños ³¹ (htt1). A pesar de considerar que en ella existen síntomas oculares presentes, aún no está perfectamente caracterizada, ni existe un sustento fisiopatológico que demuestre con mayor fuerza dicha asociación.

En el estudio de efectos a la salud humana asociados por la exposición a ozono, existe un especial interés por evaluar de mejor forma el riesgo al que están expuestos los niños y los ancianos. La vulnerabilidad de los niños se asocia con la exposición, ya que tienen un ritmo de respiración superior al de los adultos, además de que su organismo está en desarrollo y su sistema inmunológico es inmaduro. Las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que cinco millones de niños mueren al año a nivel mundial, por enfermedades relacionadas con la contaminación del aire. ³¹ (htt1)

Son necesarios estudios pertinentes a demostrar cambios en la superficie ocular relacionados a la contaminación ambiental atmosférica en niños escolares y compararlos con población similar de ciudades con características climáticas y de altitud más parecidas a la Ciudad de México, pero sin la contaminación tan prominente de este último.

Los resultados presentados establecen evidencias primarias con la exposición a la contaminación ambiental atmosférica, permitiendo identificar algunos síntomas y signos a nivel de la superficie ocular y alteraciones demostrables a nivel celular en el número de células caliciformes, en un grupo vulnerable en un ambiente en el que las violaciones por día del O₃ en un año fueron de 273.

La fase 1 y 2 permitieron realizar la identificación inicial de los síntomas y signos que deben explorarse para establecer las diferencias en la caracterización de la entidad en reconocimiento.

La fase 3 de nuestro estudio evaluó las manifestaciones clínicas. De los seis síntomas consensados para realizar el interrogatorio, el *ardor, lagrimeo, fotofobia y sensación de cuerpo extraño* muestran un comportamiento estadísticamente significativo a considerar en la construcción de esta entidad.

En cuanto a los seis signos consensados a explorar por el especialista, la presencia de hiperemia, *folículos, alteraciones en la ruptura de la película lagrimal y la tinción (+)* de la superficie ocular muestran un comportamiento estadístico significativo, que asociado a los síntomas referidos nos permitirán fortalecer las bases en el reconocimiento de la entidad.

Los cambios y hallazgos reportados mediante la citología de impresión de la conjuntiva bulbar conducen a establecer una alteración estadísticamente significativa en el número de células caliciformes de los escolares entre grupos de estudio, siendo este, una disminución de dichas células lo que aqueja a los habitantes en la ZMCM. En esta fase además se contó con la realización de Inmunofluorescencia directa de las células caliciformes, para ambas poblaciones (aunque esto no fue considerado como objetivo en la fase de planeación, se tuvo la gran oportunidad de realizarlo para algunos casos), en las que es muy evidente la disminución de este tipo celular en los habitantes de la ZMCM. En esta Inmunofluorescencia no se documentó línea inmunológica asociada.

Aunque los frotis conjuntivales tampoco fueron considerados de inicio, estos nos ofrecieron la posibilidad de evidenciar *lago mucoide* cuando no hay asociaciones a síntomas ni signos clínicos.

Se destaca que estas alteraciones encontradas fueron para la población escolar en la ZMCM (D.F), estas diferencias, marcan la pauta a considerar en el campo clínico de la oftalmología en el diagnóstico diferencial con otras enfermedades que aquejan la superficie ocular.

Ahora bien, estos síntomas y signos pueden explicarse porque al existir una alteración numérica (disminución) de las células caliciformes, esto puede desencadenar un desequilibrio fino en el mantenimiento del microambiente de la superficie ocular, resultando directamente en la alteración de la función lagrimal y con ello desatar riesgo o vulnerabilidad, predisponente a otras enfermedades y/o asociadas a síndrome de ojo seco³² (Xiang, 2016) ³³ (Li, 2016) .

Este estudio estuvo considerado y realizado en otro momento, es decir, para establecer las primeras diferencias en la caracterización clínica y citoestructural, y asentar el precedente que podría impulsar en perspectiva, el estudio detallado a nivel celular, molecular e inmunológico de la repercusión ocular asociada a la contaminación ambiental atmosférica.

El hecho de haber encontrado diferencias en la población escolar es preocupante, pues se puede inferir que efectivamente estas manifestaciones pueden magnificarse en función del tiempo y el grado de exposición, sería interesante poder dar seguimiento a estos sujetos (escolares) luego de más de una década y poder establecer asociaciones al tiempo.

La evidencia y productividad científica actual en otros campos disciplinarios ya demuestra un impacto directo sobre órganos y tejidos en modelos experimentales sometidos a un contaminante mayor en particular, esos estudios pueden ser de mucha ayuda en una vinculación al estudio del globo ocular. Así podríamos caracterizar, conocer y entender las vías comprometidas en este proceso de daño. Con ello emitir recomendaciones en la prevención y tratamiento, de la población expuesta, al entender mejor la fisiopatología, pero más aún a reconocer una entidad emergente producto de estas exposiciones.

En la actualidad existe mejor tecnología, equipamiento, pero sobre todo mayor reconocimiento de este problema de salud y el campo de la oftalmología no está exento de este escenario, hoy se pueden realizar mediciones puntuales de los componentes en

la lagrime, estudios de meibografías, estudios de la distribución de la capa lagrimal, marcadores celulares específicos, es decir, hoy podemos considerar mayores recursos disponibles para estudios de precisión, prevención e innovación³⁴ (Matsuda, 2015)³⁵ (Miranda, 2014)³⁶ (Wolkoff, 2016).

11. CONCLUSIONES

Se realizó una construcción consensada de los síntomas y signos oculares a valorar ante la exposición por la contaminación ambiental atmosférica.

Los especialistas establecieron una concordancia adecuada para la evaluación de los signos considerados ante la exposición por la contaminación ambiental atmosférica.

Se establecieron diferencias en la caracterización de los síntomas y signos en escolares de la ZMCM, siendo los de mayor importancia clínica: el ardor, lagrimeo, fotofobia y sensación de cuerpo extraño, así como la presencia de los siguientes signos: hiperemia, folículos, alteración en la película lagrimal y tinción positiva de fluoresceína.

La citología de impresión fue útil para demostrar disminución del número de células caliciformes en los escolares de la ZMCM.

El frotis conjuntival y la Inmunofluorescencia directa de las células caliciformes pueden ser consideradas en la evaluación.

12. Limitaciones y sugerencias

La tinción Rosa de Bengala no se realizó, en el año 2001 el mercado oftalmológico aún no contaba con ella en México, en la actualidad no podemos concebir la evaluación de las conjuntivas bulbares sino es a través de esta tinción clínica, o bien con verde de lisamina, formando parte de los recursos cotidianos en la exploración de la superficie ocular además de la fluoresceína.

La Inmunofluorescencia directa realizada a las células caliciformes, se decidió luego del conteo de las mismas por el área de patología, sería importante considerar esta técnica como alternativa en la evaluación de las mismas, así poder marcar proteínas específicas y evaluar comportamiento ¹⁶ (Singh, 2005) ³⁵ (Miranda, 2014).

El seguimiento al tiempo de este grupo de estudio, sería interesante, pues nos permitiría saber cómo está el comportamiento en la densidad de las células caliciformes y otro tipo de características, además de poder realizar asociaciones al conocer la continuidad en la historia oftalmológica.

Definitivamente se debe considerar otro tipo de estudios que nos permitan identificar los cambios puntuales que conlleva una exposición conocida de contaminantes secundarios, agotar el entendimiento de este proceso, proponer alternativas de prevención, cuidado y tratamiento, al daño de la mucosa ocular expuesta a este tipo de contaminación atmosférica. En ello van estudios clínicos que consideran al Ocular Surface Disease Index (OSDI), así como la exploración de la película lagrimal de manera integral, conocer cómo se encuentra la osmolaridad, enzimas como la lactoferrina, el tipo y cantidad de citosinas, niveles de MUC5AC mRNA, meibometría y meibografía, entre otras herramientas en el estudio de la superficie ocular³⁵ (Miranda, 2014).

Profundizar en estudios para la población pediátrica ya que se reporta a la conjuntivitis de causa desconocida (no alérgica o infecciosa) como motivo frecuente de atención en el servicio de urgencias, como síntomas dominantes la sensación de cuerpo extraño y como signo hiperemia conjuntival³⁷ (Nucci, 2016)

13. ANEXO I

(HOJA DE CONSENTIMIENTO)

Fecha: _____

A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente se solicita la autorización para acudir a su Escuela _____, para continuar la realización de un estudio acerca del impacto ambiental (como ya se ha venido llevando a cabo en otros centros educativos) y los cambios debido a la contaminación atmosférica en la conjuntiva de niños en edad escolar.

Para el estudio mencionado se requiere de la toma de una muestra de la superficie ocular (conjuntival) por medio de un papel filtro, llevándose a cabo con las medidas higiénicas y cuidados pertinentes que la hacen segura y sin molestias para los niños que se incluyan en el estudio.

Así mismo, todo niño al que se le diagnostique cualquier enfermedad ocular, se informará a maestros y padres de familia y se canalizará con el Oftalmólogo en caso necesario.

Para lo anterior, es necesario el consentimiento tanto de la institución educativa y de los padres de familia o tutor del menor.

Director de la Institución Educativa (sello)

Nombre y firma de padre, madre o tutor

Nombre del menor de edad

ATTE. DRA ADRIANA HERNÁNDEZ LÓPEZ
MÉDICO OFTALMÓLOGO DEL SERVICIO DE CÓRNEA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. (2006). Preventing disease through healthy environments. (WHO, Ed.)
2. Bravo AH, Ocotla RR, Sosa R. Tendencia del problema de contaminación atmosférica por ozono en la zona suroeste de la Ciudad de México, Memoir of the Seventh National Congress of Sanitary and Environmental, Engineer Oaxaca, Mexico. Sept. 1990.
3. Bravo AH, Ocotla RR, Sánchez AP, Torres JR. Contaminación atmosférica por ozono en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México: Evolución histórica y perspectivas. Sección de Contaminación Ambiental. Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM, 1999
4. Sistema de Monitoreo Atmosférico Ciudad de México www.aire.cdmx.gob.mx
5. Riojas H, Zúñiga Bello PE, Instituto Nacional de Salud Pública. EFECTOS EN LA SALUD POR LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN MÉXICO. DIA INTERAMERICANO DE CALIDAD DEL AIRE. 2017. http://www.paho.org/mex/index.php?option=com_docman&view=download&slug=1301-efectos-salud-horacio-riojas&Itemid=493
6. Calderón-Garcidueñas-L; Rodríguez Alcaraz A; Sánchez G. Barragán G; Human nasal mucosal changes after exposure to urban pollution. Environ Health Perspect 1994, 102(12) 1074-80.
7. McClellan, Fraco, Fracs; Mucosal Defense of the Outer Eye Survery of Ophthalmology 42: 233-246, 1997.
8. Brundtlan GH. Environment and health. BMJ Vol. 218, 19 Jun 1999, 1635-1636
9. Shwu-Huey Lee, MD, and Scheffer C Tseng, MD, PHD. Rose Bengal Staining and Cytologic Characteristics Associated with Lipid Tear Deficiency Am J Ophthalmology 1997, 124: 736-750.

10. Stephen C. Pflugfelder, MD, Scheffer C.G. Tseng, MD, PHD. Correlation of Goblet Cell Density and Mucosal Epithelial Membrane Mucin Expression with Rose Bengal Staining in Patients with Ocular Irritation. *Ophthalmology* 1997; 104: 223-235
11. Scheffer C.G. Tseng, MD, and Kazuo Tsubota, MD. Important Concepts for Treating Ocular Surface and Tear Disorders. *AM j Ophthalmology* 1997; 124:825-835.
12. Scheffer C. G. Tseng, MD, PhD. Staging of Conjunctival Squamous Metaplasia by Impression Cytology. *Ophthalmology* 92 728-733, 1985.
13. J Daniel Nelson, MD, Jacqueline C. Wright Conjunctival Goblet Cell Densities in Ocular Surface Disease *Arch Ophthalmol.* Vol 102, July 1984: 1049-1051.
14. Henri Saraux. *Anatomía e Histología del Ojo.* Ed. Masson, sa. 1985. Pág. 73-82
15. Hwang SH, Choi YH, Jung P. Potencial importance of ozone in the association between outdoor air pollution and Dry Eye Disease in South Korea. *JAMA Ophthalmology* 2016. Doi:10.1001/jamaophthamo.2016.0139
16. Singh, Joseph A, Umapathy T, Tint NL, Dua HS. Impression cytology of the ocular Surface. *Br J Ophthalmol.* 2005; 89 (12):1655-9
17. Shalaby O, Sanz AI, Oroza Ma. Rivas I. Murube J. Cambios en la superficie ocular en pacientes con queratoconjuntivitis seca antes y después del parche punctal. *Arch. de la Sociedad Española de Oftalmología* No 10, Oct, 1998.
18. Murat, Dogru, MD, PhD, Chicako Katakimi, MD, PHD, Masanori Inoue, MD PhD. Tear Function and Ocular Surface Changes in Noninsulin-dependent Diabetes Mellitus *Ophthalmology* 2001, 108: 586-592.
19. Vilavun Puangrichrern, MD, Scheffer C. G. Tseng, MD, PhD. Cytologic Evidence of Corneal Diseases with Limbal Stem Cell Deficiency *Ophthalmology* 1995; 102: 1476 – 1485.
20. Hitoshi Watanabe, MD, PhD, Naoyuki Maeda, MD PhD, Akira Kiritoshi, MD. Expression of a Mucin-like Glycoprotein Produced by Ocular Surface Epithelium in Normal and Keratinized Cells *Am J Ophthalmology* 1997, 124; 751-757.

21. Stephen C Pflugfelder, MD Andrew J.W. Huang, MD, MPH, William Feuer, MS. Conjunctival Cytologic Features of Primary Sjogren's Syndrome Ophthalmology 1990; 97: 985-991.
22. Gill G.W., Crabtree W.N., Kelly D.P. Cytopreparatory Techniques. In: Rosenthal D., Wojcik E., Kurtycz D. (eds) The Paris System for Reporting Urinary Cytology. 2016 Springer, Cham.
23. Sigler VA, et al. La citología de impresión conjuntival y la biopsia de la glándula salival accesoria en el síndrome de ojo seco. Revista cubana de oftalmología, 1995 1
24. Escobar PJ. Validez de contenido y juicio de expertos: una aproximación a su utilización. Avances en medición, 2008 6:27-36
25. Pedrosa I, Suárez AJ, García CE. Evidencias sobre la validez de contenido: avances teóricos y métodos para su estimación. Acción psicol. 2014, vol10 No.2:3-20 ISSN:1578-908X
26. Cerda LJ, Villarroel L. Evaluación de la concordancia intre-observador en investigación pediátrica: Coeficiente Kappa. Rev Chil Pediatr 2008, 79(1): 54-58
27. Hulley SB, Cummings SR et al. Diseño de Investigaciones clínicas. 4ª Edición, Wolters Kluwer, 2014 27-29
28. Casal J. Tipos de muestreo. Rev Epid Med Prev. 2003 1: 3-7
29. Fentanes y Guevara. Citología Clínica. Editorial Científica 1999, 10
30. La calidad del aire en la Zona Metropolitana del Valle de México, 20 años de monitoreo atmosférico. Gobierno del Distrito Federal. http://www.aire.cdmx.gob.mx/descargas/publicaciones/gestion-ambiental-aire-memoria-documental-2001-2006/descargas/informe_anual_calidad_aire_tendencias_2005.pdf
31. Aire Limpio: Programa para el Valle de Toluca 2007-2011. Gobierno del Estado de México https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/69308/8_ProAire_ZMVT_2007-2011.pdf

32. Xiang P, He RW, Han YH, et al. Mechanisms of hosedust-induced toxicity in Primary human corneal epithelial cells: oxidative stress, proinflammatory response and mitochondrial dysfunction. *Environment International*. 2016, 89-90:30-37
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2016.01.008>
33. Li Z, Commodore A, Hartinger S, et al. Biomonitoring human exposure to household air pollution and association with self-reported Health symptoms-a stove intervention study in Peru. *Environment International*. 2016, article in press
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.011>
34. Matsuda M, Bonatti R, Marquezini, et al. Lacrimal Cytokines assessment in subjects exposed to different levels of ambient air pollution in a large metropolitan área. *Plos one*. 2015, nov20:1-11
doi: 10.1371/journal.pone.0143131
35. Miranda TA, Matsuda M, Novaes P, et al. Effects of ambient levels of traffic-derived air pollution on the ocular surface: analysis of symptoms, Conjunctival Goblet cell count and mucin 5AC gene expression. *Environmental Research*. 2014, 131:59-63
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2014.02.014>
36. Wolkoff P. External eye symptoms in indoor environments. *Indoor Air*. 2016; 1-15
doi:10.1111/ina.12322
37. Sacchi M, Pichi F, et al. Pediatric Conjunctivitis and air pollution exposure: a prospective observacional study. *Seminars in Ophthalmology*. 2016, jul
<http://www.tandfonline.com/loi/isio20>