



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO CIENCIAS BIOLÓGICAS.

Trabajo de Tesis Doctoral

***Alteraciones oculares relacionadas con la contaminación
del aire. Estudio comparativo en poblaciones de La Plata
y Ensenada.***

Tesista: Lic. María de los Ángeles Gutiérrez

Director: Dr. Darío Andrinolo

Codirector: Dr. Atilio A. Porta

2015

A mis padres...
A mi familia...
A mi compañero Julián...
A mi amor incondicional Emilia...

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a mis directores: Darío y Andrés por haberse arriesgado a dirigir esta tesis, por la confianza que han depositado en mí, y por entender que no solo implicaba un trabajo de investigación de una carrera nueva, sino que representaba otra forma de hacer ciencia, desde un punto de vista más amplio, permitiéndome crecer profesionalmente y personalmente.

A Daniela, por ser la primera en ponerse en la mesada conmigo, por la paciencia, consejos y los proyectos realizados y futuros.

A María, por ser una especie de madrina en esta tesis, no solo desde el punto de vista académico sino en lo personal, por su ayuda y consejos constantes.

A Tracy por el gran apoyo que significó en la parte de Salud, el trabajo con los voluntarios, su dedicación para con ellos y por permitirme discutir criterios, casos clínicos, y por las cientos de charlas de aliento.

A Esperanza por sus miles de asesoramientos con la estadística, y además por su ayuda constante.

A mis compañeros de todos los días Santi, Leo y Flor; por las charlas, mates, canciones, risas, discusiones, etc., que hacen que trabajar en lo que a uno le gusta y con buena compañía sea una elección y un privilegio.

A los que me ayudaron en los estudios, a los tóxicos, a los aéreos, y a los libebianos por su pseudo-adopción.

A la cooperativa Futuro Ensenadense y a Luis Carlá por brindarme su confianza y permitirme trabajar con ellos. Y a los voluntarios porque sin lágrimas, mis tesis hubiese sido un llanto.

A CCyP por permitirme conocer gente maravillosa, que hicieron que pudiera pensar en realizar una tesis, y por la constante lucha por una mejor universidad.

A mis amigas Tama, Mer y Paula por las charlas, la paciencia, la compañía, por los consejos académicos y de vida en general.

Les agradezco a mis padres, por su amor, su confianza infinita, por darme la posibilidad y libertad de estudiar, por sus palabras de aliento, por demostrarme que es posible con constancia, esfuerzo y amor; en resumen por todo y por dejarme ser. A mi familia por estar siempre, a mis hermanas que son incondicionales, a mis cuñados Ari y Ale, por ser mis hermanos de la vida, a mis sobrinos Zoe, Luca y Mica porque me cambiaron la vida y son una gran fuente de energía para mí. A los Prieto-Ruiz porque además de ser familia son amigos que elijo para compartir la vida.

A Juli por su aguante, en general, pero principalmente en la última etapa... seguramente no va a estar de acuerdo con esto, es constante el asunto... De todas formas, gracias por permitirme compartir la vida con vos, por quererme y por la familia que formamos...

Y por último a ella, a Emilia por haberme convertido en mamá, lo que realmente me cambió la vida, porque me das motivos, alegrías, enojos, pero sobre todas las cosas, por el amor y la felicidad que me generas día a día.....

Índice

Presentación..... Pág. 11

Abreviaturas..... Pág. 15

Capítulo 1

Contaminación aérea..... Pág. 21

1.1. Definición..... Pág. 21

1.2. Fuentes de contaminación..... Pág. 21

1.3. Material particulado..... Pág. 23

 1.3.1. Fuentes naturales..... Pág. 24

 1.3.2. Fuentes antropogénicas..... Pág. 25

1.4. Regulaciones de los valores de material particulado..... Pág. 28

 1.4.1. Antecedentes de los niveles guía..... Pág. 28

 1.4.2. Valores guía..... Pág. 29

 1.4.3. Índice de calidad del aire..... Pág. 31

1.5. La calidad del aire en Argentina..... Pág. 32

Capítulo 2

El ojo..... Pág. 37

2.1. Segmento externo..... Pág. 38

2.2. La película lagrimal..... Pág. 39

 2.2.1. Estructura anatómica..... Pág. 39

 2.2.2. Función..... Pág. 40

2.2.3. Composición.....	Pág. 40
2.2.4. Estabilidad lagrimal.....	Pág. 42
2.3. Determinación de las características segmento externo y de la película lagrimal.....	Pág. 42
2.4. Análisis de la composición lagrimal.....	Pág. 43
2.4.1. Proteínas.....	Pág. 44
2.4.1.1. Albúmina lagrimal.....	Pág. 44
2.4.1.2. Lisozima.....	Pág. 44
2.4.1.3. Lactoferrina.....	Pág. 45
2.4.1.4. Inmunoglobulinas.....	Pág. 45
2.4.2. Lípidos.....	Pág. 45
2.5. Otras determinaciones bioquímicas.....	Pág. 46
2.5.1. Electrolitos.....	Pág. 46
2.5.2. Osmolaridad.....	Pág. 46
2.6. Ojo seco.....	Pág. 46

Capítulo 3

Efectos de la contaminación aérea.....	Pág. 53
3.1. Efectos generales en la salud.....	Pág. 53
3.2. Efectos en la salud ocular.....	Pág. 58
3.3. Descripción de la zona de estudio.....	Pág. 60
3.3.1. Ensenada: características de la zona y contaminación industrial.....	Pág. 60
3.3.2. La Plata: características de la zona.....	Pág. 60

Capítulo 4

Estudio de casos – Metodologías.....	Pág. 65
4.1. Monitoreo de contaminantes aéreos.....	Pág. 65
4.2. Población de Estudio.....	Pág. 66
4.3. Características de las zonas de estudio.....	Pág. 68
4.3.1. Encuestas de salud y de condiciones socio-económicas.....	Pág. 68
4.3.2. Espirometrías.....	Pág. 69

5.3.2	Antecedentes de salud	Pág. 82
5.3.2.1	Rinitis.....	Pág. 83
5.3.2.2	Enfermedades Respiratorias y antecedentes asmáticos.....	Pág. 84
5.4	Espirometrías.....	Pág. 85
5.5	Análisis sanguíneos.....	Pág. 85

Capítulo 6

Resultados oculares.....	Pág. 89
6.1 Análisis del segmento anterior.....	Pág. 91
6.1.1 Evaluación de la superficie ocular.....	Pág. 91
6.1.1.1 Valoración sin colorantes.....	Pág. 91
6.1.1.2 Valoración con colorantes.....	Pág. 93
6.2 Evaluación de la película lagrimal.....	Pág. 95
6.2.1.1 Valoración de la cantidad lagrimal.....	Pág. 95
6.2.1.1.1 Test de Schirmer I.....	Pág. 95
6.2.1.1.2 Menisco Lagrimal.....	Pág. 96
6.2.1.2 Evaluación de la capa lipídica.....	Pág. 97
6.2.1.2.1 Disfunción de las glándulas de meibomio (DGM).....	Pág. 97
6.3 Análisis de las muestras de lagrима.....	Pág. 97
6.3.1 De proteínas	Pág. 97
6.3.2 De lípidos.....	Pág. 100

Capítulo 7

Alteraciones oculares.....	Pág. 105
7.1 Ojo Seco	Pág. 105
7.1.1 A través de cuestionarios (Subjetivo).....	Pág. 106
7.1.2 A través de la evaluación del segmento anterior (Objetivo).....	Pág. 107
7.1.3 Análisis de componentes principales.....	Pág. 107
7.2 Afección ocular.....	Pág. 110
7.2.1 Índice de afección ocular.....	Pág. 111

Capítulo 8

Discusión y conclusiones..... Pág. 115

Bibliografía Pág. 127

Anexos..... Pág. 143

Anexo I: Consentimiento informado..... Pág. 145

Anexo II: Protocolo..... Pág. 153

Anexo III: Encuesta..... Pág. 163

Anexo IV: Historia clínica..... Pág. 169

Anexo V: Técnicas en lámpara de hendidura..... Pág. 173

Anexo VI: Procedimientos de exploración..... Pág. 179

Anexo VII: Procesamiento de las imágenes..... Pág. 189

Anexo VIII: Producción científica y proyectos..... Pág. 193

Presentación

Los efectos de la calidad del aire sobre la salud, más específicamente sobre el sistema cardiovascular y respiratorio, han sido largamente estudiados. Sin embargo, hay una gran diversidad de situaciones que necesitan ser profundizadas; tanto las determinaciones y registro de contaminantes, los modelados de los mismos, como otras posibles afecciones en la salud. Para ello, resulta interesante valorar las formas de exposición, ya sea en modelos animales o en humanos, con el objeto de hacer un aporte al paradigma del derecho a la salud y a vivir en un ambiente sano.

En nuestra región están emplazadas megaempresas petroleras, con otras industrias aledañas que forman un polo industrial de los más importantes del país. Estas empresas tienen rigurosas medidas con respecto a la exposición de los trabajadores a contaminantes ambientales en el lugar de trabajo -regidas por la ley del trabajo-, lo cual implica vigilancias medioambientales, controles biológicos -donde se estudian diversos biomarcadores de exposición- y la vigilancia de la salud periódicamente por profesionales médicos. Sin embargo, las poblaciones que viven en cercanías de las plantas también se encuentran expuestas a los contaminantes de la región y a la fecha no existe organismo público que se ocupe de velar por sus derechos.

Una de las motivaciones de esta tesis es desarrollar herramientas que permitan evaluar los efectos de la calidad del aire en poblaciones humanas y particularmente estudiar que sucede en nuestra región.

El objetivo general del presente trabajo de tesis doctoral fue determinar las alteraciones oculares que pudieran asociar a los niveles de contaminación aérea de la ciudad de La Plata y Ensenada, a través de la concentración del material particulado.

Frente a este objetivo es que se intentaron investigar dos hipótesis generales. Una que postula que dos poblaciones humanas expuestas a diferentes calidades de aire, presentaran cambios significativos en distintos parámetros oculares, debido a que la superficie anterior del ojo se encuentra expuesta directamente a los contaminantes aéreos y que los mismos pueden generar una pérdida de la estabilidad de la película lagrimal, lo que podría traducirse en diferentes afecciones de las estructuras del segmento externo. Y otra, que considera que las distintas calidades de aire, se asocian con distintos alteraciones oculares detectables en poblaciones humanas.

Con estas premisas, se diseñó un estudio comparativo entre dos zonas, una urbana y otra inmersa en un área industrial, en donde se encuentra uno de los polos petroquímicos más importantes del país. Estas zonas fueron definidas en base a las características socio-culturales, económicas, de desarrollo urbano, etc. y según sus valores de material particulado (MP), hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), y los compuestos orgánicos volátiles (COVs), a los que se les suma los efectos adversos en la función respiratoria y carcinogénicos en los habitantes, los cuales han sido valorados al menos hace 10 años por el grupo de trabajo.

En este marco, se cuantificaron los niveles de material particulado durante el periodo en el que se determinaron diferentes parámetros del segmento anterior del ojo y de la película lagrimal, así como también la composición proteínica y lipídica de la misma.

Durante el diseño también se consideró encontrar posibles asociaciones con parámetros sistémicos, previamente asociados al material particulado. Con este objetivo se realizaron encuestas sobre características de la vivienda de los voluntarios y de antecedentes de salud, así como también se realizaron estudios espirométricos y sanguíneos, los cuales fueron tenidos en cuenta como datos complementarios del estudio.

Las metodologías involucradas para la determinación de las diferentes variables incluyeron, cuestionarios oculares, test optométricos y de la práctica clínica de la contactología, técnicas analíticas y biomoleculares. Para ello, se utilizaron las instalaciones y equipos del laboratorio de Toxicología y del Centro de Investigaciones Medioambientales (CIMA), así como también del Programa Ambiental de Extensión Universitaria (PAEU), ambos de la Facultad de Ciencias Exactas – UNLP.

Los resultados de las diferentes variables se organizaron según la temática o estructura a analizar, dentro de las cuales se diferencian en primera instancia los cuestionarios oculares, superficie ocular y la película lagrimal. Luego se presentaron según la clasificación, denominada ojo seco, que reúne diferentes variables pertenecientes tanto a la categoría de superficie ocular y película lagrimal.

El análisis comparativo de manera estadística, se realizó un análisis de componentes principales, con el objeto de determinar un índice de afección ocular asociado a las zonas de estudio.

Resulta importante señalar la relevancia del presente trabajo, ya que si bien existen biomarcadores referenciales en el ojo, no se ha profundizado sobre la relación existente entre estos y los niveles de contaminación ambiental. Y en los casos en que se ha intentado relacionar estas temáticas, sólo se han focalizado en valorar la sintomatología de los pobladores. Por lo cual, esta tesis representa, no sólo un trabajo novedoso en el área ambiental, sino que también implica una nueva línea de investigación en nuestra Facultad y en la región, la cual ha sido coordinada para su realización, con los trabajadores de la Cooperativa Futuro Ensenadense, ubicada en las cercanías del polo petroquímico del Municipio de Ensenada, y con los trabajadores de la Facultad de Ciencias Exactas.

Tanto los trabajadores de la cooperativa, como los miembros de la comunidad de la Facultad de Ciencias Exactas, se prestaron a la participación del estudio. El desarrollo de la tesis y las relaciones generadas con las con organización territorial fue coordinada por el Programa Ambiental de Extensión Universitaria (PAEU), y el desarrollo del estudio en personas se ejecutó tanto en el PAEU como en el Programa laboratorio de Salud Pública (PLSP) de la Facultad de Ciencias Exactas, bajo la supervisión de sus directores. Dejando plasmado en la

producción de esta tesis, otra forma de hacer ciencia, atravesada por la extensión y focalizada en la ciencia aplicada.

Abreviaturas

AAO	<i>Academia Americana de Oftalmología</i>
ACP	<i>Análisis de componentes principales</i>
AFNE S.A.	<i>Empresa de Astilleros y Fábricas Navales del Estado S.A.</i>
ALB	<i>Albúmina</i>
Apo	<i>Apoproteína</i>
ARNm	<i>Ácido ribonucleico mensajero</i>
ASTM	<i>Normas de la sociedad americana para el testeado de materiales</i>
ATS/ERS	<i>Normas de la asociación americana torácica.</i>
BSA	<i>Seroalbúmica bobina</i>
BUT	<i>Tiempo de ruptura lagrimal</i>
BUTIN	<i>Tiempo de ruptura lagrimal invasivo o con fluoresceína</i>
40CFR	<i>Título 40 del código de reglamentos federales de EE.UU.</i>
C₁₀	<i>Ácido decanoico (Cáprico)</i>
C₁₁	<i>Ácido Undecanoico (Undecílico)</i>
C₁₂	<i>Ácido dodecanoico (Laúrico)</i>
C₁₃	<i>Ácido Tridecanoico (Tridecílico)</i>
C₁₄	<i>Ácido tetradecanoico (Mirístico)</i>
C_{14:1}	<i>Ácido Miristoleico</i>
C₁₅	<i>Ácido Pentadecanoico (Pentadecílico)</i>
C_{15:1}	<i>Ácido C17cis-10-Pentadecanoico</i>
C₁₆	<i>Ácido hexadecanoico (Palmítico)</i>
C_{16:1}	<i>Ácido Palmitoneico o 9-hexadecenoico</i>
C₁₇	<i>Ácido Heptadecanoico (Margárico)</i>
C_{17:1}	<i>Ácido cis-10-Heptadecanoico</i>
C₁₈	<i>Ácido octadecanoico (Esteárico)</i>
C_{18:1c}	<i>Ácido cis-9-octadecanoico (Oleico)</i>

C_{18:1t}	<i>Ácido trans-9-octadecanoico (Elaidico)</i>
C_{18:2c}	<i>Ácido cis-9,12-octadecadienoico (Linoleico)</i>
C_{18:2t}	<i>Ácido trans-9,12-octadecadienoico (Linolelaidico)</i>
C_{18:3}	<i>Ácido 9, 12,15-octadecatrienoico (α -linolénico)</i>
γ-C_{18:3}	<i>Ácido 6, 9,12-octadecatrienoico (γ -linolénico)</i>
C₂₀	<i>Ácido eicosanoico (Araquídico)</i>
C_{20:1}	<i>Ácido cis-11-Eicosenoico (gadoleico)</i>
C_{20:2}	<i>Ácido cis-11,14-Eicosodienoico</i>
C_{20:3}	<i>Ácido cis-11, 14,17-Eicosatrienoico</i>
C_{20:4}	<i>Ácido Tetracosanoico (Araquidónico)</i>
C_{20:5}	<i>Ácido cis-5, 8, 11, 14,17-Eicosapentaenoico (AEP)</i>
C₂₁	<i>Ácido Heneicosaoico</i>
C_{21:3}	<i>Ácido metil-cis-8, 11,14-eicosatrienoico</i>
C₂₂	<i>Ácido docosanoico (Behénico)</i>
C_{22:1}	<i>Ácido 13-docosaenoico (Erúcico)</i>
C_{22:2}	<i>Ácido cis-13,16-Docosadienoico</i>
C_{22:6}	<i>Ácido cis-4, 7, 10, 13, 16,19-Docosahexanoico (ADH)</i>
C₂₃	<i>Ácido Tricosanoico</i>
C₂₄	<i>Ácido Tetracosanoico (Lignocérico)</i>
C_{24:1}	<i>Ácido 15-tetracosanoico (Nervónico)</i>
CAEARTE	<i>Unidad de la Comisión Nacional de Actividades Espaciales a cargo de la Consultoría de Aplicaciones Espaciales de Alerta y Respuesta Temprana a Emergencias</i>
CAPS	<i>Centros de Atención Primaria de la Salud</i>
CCLRU	<i>Unidad de Investigación de la córnea y lentes de contacto</i>
CD	<i>Clúster de diferenciación</i>
CF	<i>Código de reglamentos federales de EE.UU.</i>
CG	<i>Células de Goblet</i>
CGMS	<i>Cromatografía gaseosa acoplado a un espectrómetro de masas</i>
CHIMERE	<i>Modelo de transporte químico</i>
CO	<i>Monóxido de carbono</i>
CO₂	<i>Dióxido de carbono</i>
CONAE	<i>Comisión Nacional de Actividades Espaciales</i>
COVs	<i>Compuestos orgánicos volátiles</i>
CRT 1	<i>Criterio 1</i>
CRT 2	<i>Criterio 2</i>
DEQ	<i>Cuestionario de ojo seco</i>
DEWS	<i>Taller Internacional de Ojo Seco</i>
DGM	<i>Disfunción de las glándulas de meibomio</i>
DE	<i>Desviación estándar</i>

EDGAR	<i>Inventario de emisiones antropogénicas</i>
EDTA	<i>Ácido etildiaminotetraacético</i>
ELISA	<i>Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas</i>
FAMEs	<i>Esteres metílicos de ácidos grasos</i>
FEV1/FVC	<i>Relación entre el Volumen forzado expirado en el primer segundo y la capacidad vital forzada</i>
FEV1	<i>Volumen forzado expirado en el primer segundo</i>
FREPLATA	<i>Proyecto Protección Ambiental del Río de la Plata y su Frente Marítimo: Prevención y Control de la Contaminación y Restauración de Hábitats</i>
FVC	<i>Capacidad vital forzada</i>
GPS	<i>Sistema americano de navegación y localización mediante satélites.</i>
HAPs	<i>Hidrocarburos aromáticos policíclicos</i>
HC	<i>Hidrocarburo</i>
Hip.	<i>Hiperemia</i>
HLA-DR	<i>Antígeno de linfocitos humanos clase II DR.</i>
HPLC	<i>Cromatografía líquida de alta performance</i>
HPLC-MS	<i>Cromatografía líquida de alta performance con espectrómetro de masas</i>
HPLC-UV	<i>Cromatografía líquida de alta performance con detección ultra violeta</i>
Hx	<i>Historia clínica</i>
I	<i>Zona industrial</i>
IACLE	<i>Asociación internacional de educadores de lentes de contacto</i>
IARC	<i>Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer</i>
IAO	<i>Índice de afección ocular</i>
IDE Ambiental	<i>Infraestructura de Datos Espaciales Ambiental</i>
IgA	<i>Inmunoglobulina A</i>
IgD	<i>Inmunoglobulina D</i>
IgE	<i>Inmunoglobulina E</i>
IgG	<i>Inmunoglobulina G</i>
IgM	<i>Inmunoglobulina M</i>
IL	<i>Interleuquina</i>
IMC	<i>Índice de masa corporal</i>
INDEC	<i>Instituto Nacional de Estadística y Censos</i>
LCR	<i>Riesgo de contraer cáncer en toda la vida</i>
LF	<i>Lactoferrina</i>
LFU	<i>Unidad Funcional Lágrima</i>
LH	<i>Lámpara de hendidura o biomicroscopio.</i>
LIPCOF	<i>Pliegues conjuntivales paralelos al parpado</i>
LYS	<i>Lisozima</i>
μ	<i>Media</i>

m	<i>Mediana</i>
MINIVOL TAS	<i>Equipo muestreador de material particulado</i>
MM	<i>McMonnies</i>
MP	<i>Material Particulado</i>
MP_{0.1} o PUFs	<i>Partículas ultrafinas de diámetro aerodinámico menores a 0.1 μm</i>
MP₁₀	<i>Partículas gruesas e inhalables con un diámetro aerodinámico de hasta 10 μm</i>
MP_{2.5}	<i>Partículas finas y respirables con un diámetro aerodinámico menor o igual a 2.5 μm</i>
MPO	<i>Mieloperoxidasa</i>
MUC	<i>Mucina</i>
n	<i>Tamaño de la muestra</i>
NaCl	<i>Cloruro de sodio</i>
NEI	<i>Instituto Nacional de Estados Unidos del Ojo</i>
NEI-VFQ	<i>Cuestionario de la función visual del Instituto nacional del ojo de Estados Unidos.</i>
NO₂	<i>Dióxido de nitrógeno u óxido de nitrógeno.</i>
NOx	<i>Término genérico que hace referencia a un grupo de gases muy reactivos, tales como el óxido nítrico (NO) y el dióxido de nitrógeno (NO₂), que contienen nitrógeno y oxígeno en diversas proporciones.</i>
O₂	<i>Oxígeno</i>
O₃	<i>Ozono</i>
ω₃	<i>Ácido omega 3</i>
ω₆	<i>Ácido omega 6</i>
OD	<i>Ojo derecho</i>
OI	<i>Ojo izquierdo</i>
OMS	<i>Organización Mundial de la Salud</i>
OSDI	<i>Índice de daño de la superficie ocular</i>
PAI-1	<i>Inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1</i>
PLANCOA	<i>Plan Nacional sobre Contaminación Atmosférica</i>
PPM	<i>Posición primaria de mirada</i>
PRODECA	<i>Congreso del Proyecto Integrador para la Determinación de la Calidad del Agua</i>
PROIMCA	<i>Congreso del Proyecto Integrador para la Mitigación de la Contaminación Atmosférica</i>
PST	<i>Partículas suspendidas totales</i>
PTFE	<i>Politetrafluoroetileno</i>
ROS	<i>Especies reactivas del oxígeno</i>
SAyDS	<i>Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación</i>
sCD40L	<i>Ligando de CD40 soluble</i>

SDS-minigel	<i>Minigel de poliacrilamide en presencia de dodecilsulfato sódico</i>
SDS-PAGE	<i>Electroforesis en gel de poliacrilamide en presencia de dodecilsulfato sódico</i>
SI	<i>Sistema internacional</i>
SIAN	<i>Sistema de Información Ambiental Nacional</i>
SIM	<i>Monitoreo del ión seleccionado</i>
SO₂	<i>Dióxido de azufre</i>
TFI	<i>Índice de función lagrimal</i>
TFOS	<i>Sociedad de la Película Lagrimal y a la Superficie Ocular</i>
TNFα	<i>Factor de necrosis tumoral α</i>
TSPA	<i>Prealbúmina específica de la lágrima</i>
U	<i>Zona urbana</i>
US EPA	<i>Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos de Norteamérica</i>
UV	<i>Ultra violeta</i>
WRF	<i>Modelo de pronóstico meteorológico,</i>
WRF	<i>Modelo numérico de predicción del tiempo</i>
WRF-CHIMERE-EDGAR	<i>Sistema de modelado para la calidad del aire</i>
X	<i>Cantidad de aumentos</i>
YPF	<i>Yacimientos Petrolíferos Fiscales</i>

Capítulo 1

Contaminación aérea

1.1. Definición

La contaminación atmosférica se define como la presencia en la atmósfera de partículas o sustancias en cualquier estado que de modo natural no se encuentren en ella o que aparezcan en distinta proporción que en condiciones naturales (Morales, 2006).

Desde un punto de vista antropocéntrico, la contaminación atmosférica se refiere a los contaminantes que afectan la salud o el bienestar humano.

1.2. Fuentes de contaminación

La contaminación del aire representa un problema de salud ambiental que afecta a los países desarrollados y en desarrollo de todo el mundo. A escala mundial, cada vez se emiten cantidades más importantes de gases y partículas potencialmente nocivas, que no sólo dañan la salud humana, sino también al ambiente y los recursos necesarios para lograr un desarrollo sostenible en el planeta.

Las fuentes de contaminación del aire se clasifican en: antropogénicas - derivadas de las actividades humanas- y naturales (Peñaloza Páez, 2012). En general, para los propósitos de un inventario de emisiones, las fuentes se agrupan en cuatro categorías principales según Ine-Sermanat (2005):

- Fuentes puntuales o fijas, definidas como toda instalación establecida en un solo lugar, que tenga como finalidad desarrollar operaciones o procesos industriales, comerciales, de servicios o que generen o puedan generar emisiones contaminantes a la atmósfera. Ejemplos de esto son: la producción agrícola, la minería y la extracción de minerales, las industrias asociadas a la elaboración de productos químicos, productos minerales no metálicos, industrias metálicas básicas y de generación de energía. También los incineradores de residuos urbanos y de lodos provenientes de aguas residuales, chimeneas, cocinas y servicios de lavandería, los rellenos sanitarios, el consumo de tabaco, las fuentes biológicas (como polen, ácaros, moho, insectos, microorganismos, alérgenos de mascotas, etcétera), emisiones de la combustión, emisiones de materiales o sustancias usadas en interiores como compuestos orgánicos volátiles, radón, asbesto, productos químicos sintéticos, etcétera.
- Fuentes de área, representan aquellas que son demasiado numerosas y dispersas como para poder ser incluidas de manera eficiente en un inventario de fuentes puntuales. Por ejemplo, las estaciones de servicio y los establecimientos de lavado en seco, como las tintorerías, con frecuencia son tratados como fuentes de área. Lo mismo ocurre con los rellenos sanitarios que presentan un gran área de emisión difusa.
- Fuentes móviles o de vehículos automotores, compuestas por cualquier tipo de vehículos de combustión a motor, como automotores ligeros con motor de gasolina, vehículos ligeros y pesados con motor de diésel, motocicletas y aviones. Además están incluidas las fuentes lineales como las emisiones del tránsito vehicular en rutas o autopistas. En la mayoría de las áreas urbanas, los vehículos automotores son los principales generadores de las emisiones contaminantes del aire que reducen la visibilidad.
- Fuentes naturales, asociadas a los fenómenos naturales y la vida animal y vegetal, que pueden jugar un papel importante en la problemática de la contaminación del aire, tales como las emisiones biogénicas y de los suelos, así como las generadas por la erosión eólica, los volcanes, plantas

que liberan grandes cantidades de polen, fuentes de bacterias, esporas, virus, etcétera.

Los contaminantes del aire generalmente se clasifican en: partículas en suspensión (polvos, neblinas y humos), contaminantes gaseosos (gases y vapores) y olores.

1.3. Material particulado

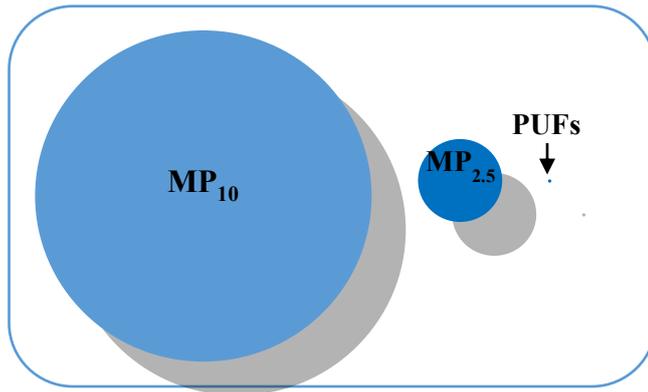
El término partícula o Material Particulado (MP) corresponde a contaminantes del aire compuestos por una compleja mezcla de partículas suspendidas en el aire, tanto líquidas como sólidas, las cuales varían en tamaño y composición dependiendo de sus fuentes de emisión, naturales o antropogénicas (Ross, 1974).

En general, los términos aerosol y material particulado pueden ser utilizados de manera indistinta, fundamentalmente para partículas de tamaño menor a 2,5 micras, definiéndose muchas veces a los aerosoles como suspensiones relativamente estables de partículas sólidas y líquidas en un gas.

Las partículas pueden ser caracterizadas en función de ocho parámetros principales: tamaño, distribución de tamaños, forma, densidad, adhesividad, corrosividad, reactividad y toxicidad. De éstos, el más importante es la distribución de tamaños. Por lo general, como medida del tamaño de las partículas se utiliza su diámetro aerodinámico en lugar de su diámetro real o físico. El término "diámetro aerodinámico" hace referencia al diámetro de una esfera de densidad unidad (1 g/cm^3) con la misma velocidad de depósito gravitacional que la de la partícula que está siendo medida. (Salvador Martínez y Artíñano Rodríguez de Torres, 2000). Esta dimensión se mide comúnmente en micrómetros (μm).

Aunque son pocas de las partículas suspendidas en el aire que tienen forma exactamente esférica, es conveniente y convencional considerar que todas ellas la tienen. Según esta característica, el material particulado se puede clasificar en:

* Partículas suspendidas totales (PST): todas las partículas que se encuentran en el aire con un diámetro aerodinámico menor o igual a $100\ \mu\text{m}$, (PST);



* Partículas gruesas e inhalables con un diámetro aerodinámico de hasta $10\ \mu\text{m}$ (MP_{10});

Figura 1. Representación del tamaño relativo de las partículas

* Partículas finas y respirables con un diámetro aerodinámico menor o igual a $2.5\ \mu\text{m}$ ($\text{MP}_{2.5}$);

* Partículas ultrafinas de diámetro aerodinámico menores a $0.1\ \mu\text{m}$ ($\text{MP}_{0.1}$, PUFs).

Esta clasificación es muy útil para determinar períodos de residencia en la atmósfera, describir el comportamiento inercial de las mismas y la capacidad de depositarse dentro del tracto respiratorio.

1.3.1. Fuentes naturales del material particulado

Entre las fuentes naturales de material particulado podemos incluir las tormentas de polvo, los aerosoles marinos, las cenizas volcánicas, los productos de la erosión eólica, el polvo de las rutas y calles, los desechos de incendios forestales, el polen y las semillas de plantas, y la formación de partículas gaseosas radiactivas como el radón (O’Ryan y Larraguibel, 2000). Si bien las fuentes naturales del material particulado son superiores a las fuentes antropogénicas, a la hora de considerar los efectos que estos acarrear en la salud principalmente en las zonas urbanas con alta densidad demográfica, las fuentes antropogénicas son muy importantes y generalmente son las que se observan para el control.

Un tipo de material particulado característico derivado de fuentes naturales son las **partículas gruesas** que se conforman como materia aún más gruesa, ya que se originan básicamente por desintegración de trozos grandes de materia. Muchas de las partículas grandes del polvo atmosférico, particularmente

en áreas rurales, se originan por la erosión de del suelo o de rocas (Salvador Martínez y Artíñano Rodríguez de Torres, 2000).

1.3.2. Fuentes antropogénicas del material particulado. Contaminantes primarios y secundarios.

La mayoría de las fuentes antropogénicas de partículas finas implican algún tipo de combustión. Los materiales de origen biológico (por ejemplo, la madera, el carbón y el petróleo) se queman en el aire debido a su alto valor energético. Si una sustancia que contiene sólo compuestos de hidrocarburo (HC) se inflama con total eficiencia, producirá solo agua y dióxido de carbono (CO₂). Este tipo de combustión requiere una razón estequiométrica de oxígeno (O₂) para la combustión, lo cual es prácticamente imposible. Los fragmentos del material combustible no quemado, los compuestos orgánicos semivolátiles que se vaporizan y que, por consiguiente, se vuelven a condensar en forma de pequeñas gotas, y la materia no combustible, generalmente se emiten conformando una suspensión de partículas en el aire que reconoce coloquialmente como “humo”, durante y después del proceso de combustión. La mejora de la proporción de aire (o de oxígeno) en la mezcla de aire y combustible pueden reducir la producción de humo. Cuando el suministro de oxígeno es inadecuado, la producción de monóxido de carbono (CO) aumenta significativamente. En la mayoría de los países, los vehículos automotores, la actividad industrial y la generación de electricidad representan un gran porcentaje de la producción antropogénica de los óxidos de nitrógeno y de azufre, producto de la oxidación del azufre y el nitrógeno presentes en los combustibles de origen natural. Éstos, junto con el CO, las partículas y los compuestos orgánicos volátiles (COVs), se describen como **contaminantes primarios**, debido a que se producen directamente por el proceso de combustión (Martinez Ataz, 2004). Todos estos compuestos tienen una contribución importante en la dispersión de las **partículas finas**.

La combustión del petróleo y sus derivados en los motores de combustión interna da lugar a la descarga de compuestos orgánicos semivolátiles que se condensan en el aire para producir partículas pequeñas en el rango de hasta 1 μm de diámetro. Estas partículas y las gotitas de ácido sulfúrico de tamaño similar, se describen como partículas generadas por nucleación. Tienen un tiempo de vida

corto (< 1 hora) y se agrupan o aglomeran para producir partículas de un diámetro en el rango de 0,2 a 2,0 μm , que se definen como **partículas de acumulación**.

Tales partículas son estables y de larga vida; además, pueden viajar cientos de kilómetros antes de perderse en el aire, normalmente como resultado del arrastre por precipitación bajo la nube.

El siguiente cuadro resume la clasificación de las partículas y contaminantes:

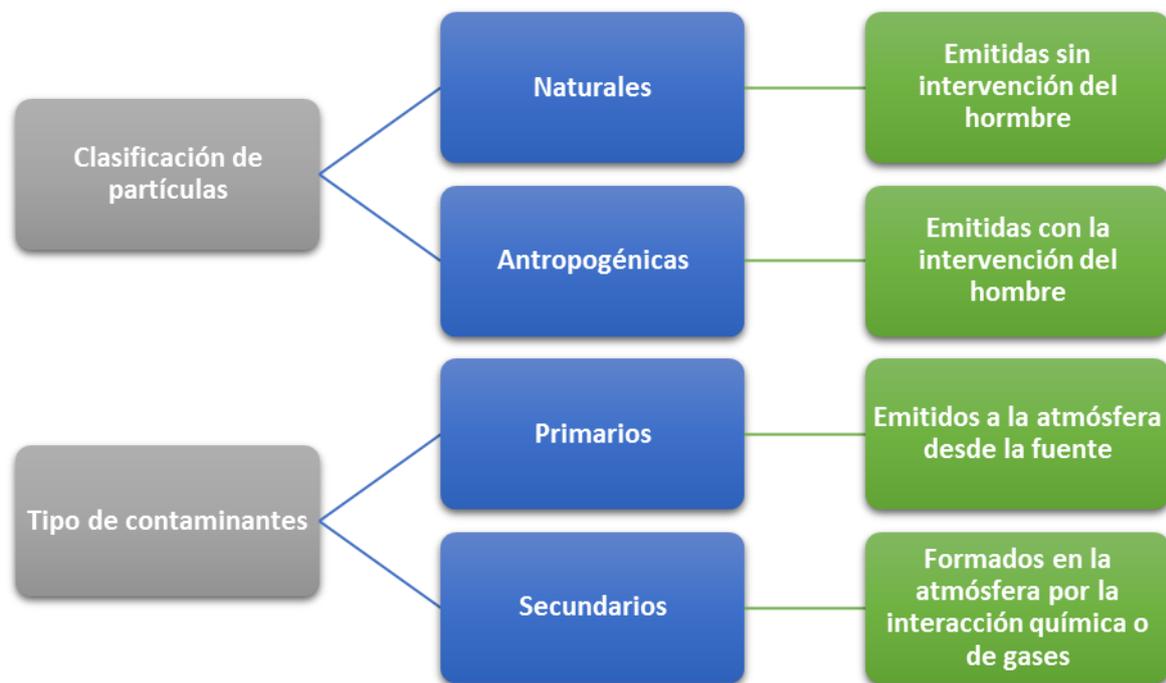


Figura 2. Cuadro resumen de la clasificación de partículas y del tipo de contaminantes.

La abundancia relativa de partículas de cada modalidad depende de la velocidad del viento, de modo que a bajas velocidades se provoca resuspensión de las partículas de mayor diámetro, y al incrementar la velocidad se enriquece el grupo de las partículas de menor diámetro.

Al margen de la intensidad de la velocidad del viento, la emisión de las partículas de origen mineral depende de ciertas características del suelo, tales como:

- Superficie
- Humedad
- Cobertura vegetal

Las composiciones químicas y mineralógicas de estas partículas varían de una región a otra, según las características y la composición de los suelos. A pesar de que la mayor parte de las emisiones de material mineral es de origen natural, es necesario considerar la existencia de una cantidad limitada de fuentes de material particulado mineral de origen antropogénico.

El aerosol marino es el segundo tipo de partículas importante en cuanto a cantidad de emisiones a escala global. Su composición química deriva de su fuente de origen: el agua de mares y océanos. Existen dos fenómenos principales que describen la formación de este tipo de partículas:

- Ruptura de burbujas de aire que alcanza la superficie de los océanos
- Agitación de las superficies de los mares y océanos por acción del viento

En el aire cercano a la superficie de los océanos, los contenidos de cloruro de sodio (NaCl) sólido son elevados, ya que el aerosol marino suministra partículas de NaCl, por evaporación del agua de mar.

Por lo general, las partículas finas y gruesas provienen de fuentes diferentes y tienen mecanismos de formación distintos, aunque es probable que haya cierta superposición. Elementos biológicos como las bacterias, el polen y las esporas también se pueden encontrar en las partículas gruesas. Opuestamente, las finas se generan, primordialmente, por reacciones químicas y de condensación de materias más pequeñas, incluidas moléculas en estado de vapor. El contenido orgánico medio en las partículas finas es, por lo general, mayor que en las gruesas.

Las partículas finas y gruesas normalmente se comportan de manera diferente en la atmósfera. Estas variaciones deben tomarse en cuenta al interpretar valores monitoreados en sitios específicos y el comportamiento de las partículas después de que ingresan a las viviendas y edificios, donde las personas pasan la mayor parte de su tiempo. Las partículas finas generalmente permanecen más tiempo en la atmósfera (de días a semanas) que las partículas gruesas, y tienden a dispersarse de manera más uniforme en un área urbana o en una región geográfica extensa. Las partículas más grandes se depositan más rápidamente que las pequeñas. Esto da lugar a que en una región la concentración de la masa total de partículas más gruesas sea menos uniforme que la de partículas finas.

Por lo tanto, la composición química de las partículas es muy variable y depende de numerosos factores geológicos, meteorológicos y fuentes específicas. En general, las partículas ambientales incluyen componentes inorgánicos (sulfatos, nitratos, cloruro de amonio, traza de metales), carbono elemental y orgánico, componentes biológicos (bacterias, esporas, polen) y componentes orgánicos semivolátiles y volátiles adsorbidos (Harrison y Yin, 2000).

1.4. Regulaciones de los valores de material particulado

1.4.1. Antecedentes de los niveles guía

La contaminación, tanto en espacios interiores (intramuros) como al aire libre (extramuros), constituye un grave problema de salud medioambiental. Las directrices sobre Calidad del Aire elaboradas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2005 están concebidas para ofrecer una orientación internacional a la hora de reducir las repercusiones sanitarias de la contaminación del aire. Las primeras directrices, publicadas en 1987 y actualizadas en 1997, se circunscribían al ámbito europeo. Las nuevas (2005), sin embargo, son aplicables a todo el mundo y se basan en una evaluación de pruebas científicas actuales llevada a cabo por expertos. En ellas se recomiendan nuevos límites de concentración de algunos contaminantes en el aire —partículas en suspensión, ozono, dióxido de nitrógeno y dióxido de azufre— de aplicación en todas las regiones de la OMS.

Hallazgos fundamentales de las Directrices sobre Calidad del Aire de 2005:

- Existen graves riesgos para la salud derivados de la exposición al MP y al O₃ en numerosas ciudades de los países desarrollados y en desarrollo. Es posible establecer una relación cuantitativa entre los niveles de contaminación y resultados concretos relativos a la salud, como el aumento de la mortalidad o la morbilidad. Este dato resulta útil para comprender las mejoras que cabría esperar en materia de salud si se reduce la contaminación del aire.
- Los contaminantes atmosféricos, incluso en concentraciones relativamente bajas, se han relacionado con una serie de efectos adversos para la salud.

- La mala calidad del aire en espacios interiores puede suponer un riesgo para la salud de más de la mitad de la población mundial. En los hogares donde se emplea la combustión de biomasa y carbón para cocinar y calentarse, los niveles de MP pueden ser entre 10 y 50 veces superiores a los recomendados en las directrices.
- Puede lograrse una considerable reducción de la exposición a la contaminación atmosférica si se reducen las concentraciones de varios de los contaminantes atmosféricos más comunes que se emiten durante el uso de combustibles fósiles. Tales medidas reducirán también los gases de efecto invernadero y contribuirán a mitigar el calentamiento global.

Además de los valores recomendados, las Directrices proponen, en cuanto a la contaminación atmosférica al aire libre o aire ambiente, unas metas provisionales para cada contaminante con el fin de fomentar la reducción gradual de las concentraciones. Si se alcanzaran estas metas, cabría esperar una considerable reducción del riesgo de efectos agudos y crónicos sobre la salud. En todo caso, el objetivo último debe consistir en avanzar hacia los valores fijados en las Directrices.

1.4.2. Valores Guía

Las directrices presentes en la *Guías para la Calidad del Aire* desarrollada por la OMS, fijan por primera vez un valor de referencia para las partículas en suspensión (MP). El objetivo consiste en reducir al máximo las concentraciones.

Como no se conoce un umbral de MP por debajo del cual desaparezcan los efectos nocivos para la salud, el valor recomendado debe representar un objetivo aceptable y alcanzable a fin de minimizar dichos efectos en función de las limitaciones, las capacidades y las prioridades locales en materia de salud pública.

MP_{2.5}

10 µg/m³ de media anual

25 µg/m³ promedio en 24hs.

MP₁₀

20 µg/m³ de media anual
50 µg/m³ promedio en 24hs.

Por otra parte, la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos de Norteamérica (US EPA) en su informe del año 2006, recomienda:

MP_{2.5}

12 µg/m³ de media anual
35 µg/m³ promedio en 24hs.

MP₁₀

150 µg/m³ de media en 24hs.

En Argentina, la primera instancia de regulación de la calidad del aire, fue la Ley Nacional N° 20284, sancionada en el año 1973, que estableció valores máximos de emisión permitidos para seis contaminantes prioritarios (CO, NO_x, SO₂, MP y particulado sedimentable). Algunas provincias, como por ejemplo Buenos Aires (Ley N° 5965, Decreto N° 3395/96), han establecido normas de calidad del aire tomando como valores guía aquellos establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, Estados Unidos).

Los valores guía planteados para el material particulado en este decreto son:

MP₁₀

50 µg/m³ media aritmética anual
150 µg/m³ en 24 horas medidas entre la cero hora del día 1 y la cero hora del día 2. Además, no puede ser superado este valor más de una vez al año.

Estos valores límite superan ampliamente a los sugeridos por la OMS (50 µg/m³ para la media de 24 hs y 20 µg/m³ para la media anual).

Por otro lado, basándose en los efectos que ocasiona en la salud, recientemente se ha clasificado al MP proveniente de las emisiones del tránsito, como sustancia carcinógena del Grupo I por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, monografía que se encuentra en elaboración (IARC-International Agency for Research on Cancer; Loomis et al., 2013).

1.4.3. Índice de calidad del aire

Los índices de calidad del aire son herramientas de comunicación que traducen información técnica referida a la calidad del aire, en un formato de fácil interpretación y comprensión para el público en general, para prevenir exposiciones agudas y síntomas o alertar sobre altos niveles de contaminación, y sugerir acciones simples que se pueden tomar para prevenir dicha exposición.

Generalmente se representan en una escala relativa que se aplica a contaminantes atmosféricos específicos como por ejemplo: O₃, CO, NO₂, SO₂ y MP, con el objetivo de presentar la información sobre la calidad del aire actual de forma clara y simple. A estos cinco contaminantes, perjudiciales para la salud humana y el ambiente, la agencia ambiental estadounidense los designa como contaminantes criterio, y como tales, han sido así clasificados por muchos otros países, entre ellos Argentina. Se utiliza una escala normalizada que va de 0 a 500 como el valor mínimo y máximo, al que se le asocia un color, un efecto y alguna recomendación. Los resultados que estos índices presentan al público son los del contaminante con peor valor.

Referencia de PM10			
Rango	Color	Efecto	Recomendacion
Hasta 54 µg/m ³		Ninguno	Ninguna
entre 55 y 120 µg/m ³		Ninguno	Ninguna
entre 121 y 150 µg/m ³		Ninguno	Ninguna
entre 151 y 254 µg/m ³		Aumenta la probabilidad de ocurrencia de síntomas respiratorios y agravamiento de enfermedades pulmonares, como asma	Personas con enfermedades respiratorias como asma, deben limitar los esfuerzos al aire libre
entre 255 y 354 µg/m ³		Aumento de síntomas respiratorios y agravamiento de enfermedades pulmonares, como asma; Posibles efectos respiratorios en la población en general.	Personas con enfermedades respiratorias como asma, deben limitar los esfuerzos al aire libre
entre 355 y 424 µg/m ³		Aumento significativo de síntomas respiratorios y agravamiento de enfermedades pulmonares, como asma, aumenta la probabilidad de ocurrencia de efectos respiratorios en la población en general	Personas con enfermedades respiratorias como asma, deben evitar las actividades al aire libre, el resto de la población en especial los ancianos y los chicos, deben limitar los esfuerzos al aire libre
mayor a 425 µg/m ³		Serio agravamiento de síntomas respiratorios y enfermedades pulmonares, como asma. Aparición de efectos respiratorios en la población en general	Toda la población debe limitar cualquier esfuerzo al aire libre; las personas con enfermedades respiratorias, como asma deben permanecer en lugares cerrados.

Figura 3. Escala del índice de calidad de aire de CABA a modo de ejemplo. Imagen obtenida de <http://www.buenosaires.gob.ar/agenciaambiental/monitoreoambiental/calidadaire>

En la región metropolitana de Chile se utiliza un índice de calidad de aire basado en partículas respirables, construido a partir de los valores provenientes de las estaciones de monitoreo en línea para MP₁₀ (“Ministerio del Medio Ambiente,” n.d.); en Colombia cuentan con un Índice de la Calidad del Aire (ICA) basado en la red de monitoreo de CO, SO₂, NO₂, MP₁₀, MP_{2.5}, O₃ (“Observatorio ambiental de Bogotá,” n.d.); y también en Perú, existe un pronóstico de la calidad del aire en base a una red de monitoreo en Lima en la que miden MP₁₀, SO₂, NO₂ y O₃, (“Pronóstico de la calidad del aire en la ciudad de Lima,” n.d.). En Argentina, existen en la provincia de Buenos Aires índices para la ciudad de Bahía Blanca basados en el monitoreo en línea de PM₁₀, SO₂, O₃, NO_x, CO (“Calidad del aire en tiempo real,” n.d.) y en la Ciudad autónoma de Buenos Aires, donde el índice se obtiene del monitoreo continuo con tres estaciones (Centenario, Córdoba y La Boca), donde se miden CO, NO₂ y MP₁₀ (“Datos diarios de monitoreo de la calidad del aire,” n.d.).

1.5. La calidad del aire en Argentina

Hasta el momento, en Argentina el monitoreo de la calidad del aire ha sido llevado a cabo por grupos de investigación en distintas universidades y programas municipales o provinciales como son las áreas de la Cuenca Matanza-Riachuelo, Rosario, Zárate-Campana, Bahía Blanca, Mendoza, Ensenada (Lijteroff et al., 1999; Bilos et al., 2001; Bogo et al., 2003; Subsecretar et al., 2005; Carreras et al., 2006; Massolo et al., 2008; Puliafito et al., 2011; Colman Lerner et al., 2013; Gutiérrez et al., 2013; Colman Lerner et al., 2014).

En lo que respecta a nuestra región de estudio, existen datos sobre el monitoreo de MP desde aproximadamente 10 años. Según datos de Orte et al., 2015, los niveles de MP durante el año 2012 al 2015, fueron los expresando en la siguiente tabla, donde se observan los valores obtenidos al calcular las medianas de las concentraciones de material particulado en las muestras recolectadas entre los años 2012 y 2015 en los diferentes sitios de muestreo, tanto para MP_{2.5} como para MP₁₀.

	Industrial	Urbano	Residencial
[MP _{2.5}]	16,3	12,2	11,0
Min	5,4	6,1	2,3
Max	36,4	55,2	35,1
N	21	9	7
[MP ₁₀]	47,8	39,5	22,1
Min	14,4	16,6	11,2
Max	140,1	57,4	73,0
N	10	8	6
[MP _{2.5}]/[MP ₁₀]	0,34	0,31	0,50

Tabla 1. Medianas de las concentraciones de MP_{2.5} y MP₁₀, valores mínimos y máximos (en $\mu\text{g}/\text{m}^3$) y número de muestras (N) para cada sitio de muestreo, junto con las relaciones entre concentraciones de ambas fracciones. Extraída de Orte et al., 2015.

En la misma se observa que los niveles de MP_{2.5} en las zonas industrial como urbana, representan alrededor de una tercera parte del total de las partículas con un diámetro por debajo de 10 μm y, en la zona residencial, la fracción más fina representaría un 50% de las partículas por debajo de este diámetro. Además si se comparan estos valores, con los valores guía otorgados por la OMS, se ve que los mismos son sobrepasados en todos los casos (Orte et al., 2015).

Por otra parte, y debido a la creciente preocupación en la región y en nuestro país por la calidad del aire y su relación con la salud humana, recientemente la Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable, a través de la Dirección Nacional de Control Ambiental, ha implementado un Plan de Acción Nacional sobre Contaminación Atmosférica (Res. 1327/14).

Dentro de las prioridades del Plan se ha establecido concretar esfuerzos dirigidos a desarrollar acciones sobre contaminación atmosférica, teniendo en cuenta que la contaminación del aire, en particular, no respeta límites ni fronteras y debe ser una preocupación del gobierno nacional en conjunto con los gobiernos locales. Con el objetivo de mejorar la calidad del aire y la salud pública se propone la elaboración, aplicación y cumplimiento de planes nacionales de reducción de los contaminantes prioritarios del aire; adoptar normativas relacionadas al monitoreo, control y fiscalización de la contaminación atmosférica que permitan reducir las emisiones de los contaminantes prioritarios; establecer medios, mecanismos, indicadores e instrumentos para la medición de la eficacia de las

estrategias de reducción de contaminantes prioritarios que se adopten, a nivel local, nacional y regional; y coordinar con las respectivas autoridades todos los esfuerzos tendientes a lograr una calidad de aire que cumpla con las normas establecidas en la legislación nacional, provincial y futura, con el fin de garantizar en los centros urbanos involucrados una calidad de aire mínima o base para proteger la salud humana y el medio ambiente (“Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación”, n.d.).

Dentro del citado proyecto se promueve la creación de una Red Nacional de Monitoreo de Calidad del Aire, integrada por las estaciones de monitoreo continuo de calidad del aire existentes en el país a nivel nacional, provincial y municipal, mediante respectivos acuerdos de colaboración, utilizando como contaminantes criterio el PM₁₀, PM_{2.5}, O₃, HC, COV, NO_x, SO₂, CO y otros compuestos tóxicos. Allí se presentan como los objetivos principales: centralizar la información existente sobre la calidad del aire del país, la generación y el mantenimiento de una base de datos, además de fijar criterios en base a los estándares internacionales y nacionales. También se alienta a los distintos niveles de gobierno a identificar los recursos económicos para darle sostenibilidad a las redes de monitoreo como elemento prioritario y esencial para la toma de decisiones.

Sumado a esto, por resolución de la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación (SAyDS) N° 67/2015 se creó el sitio web de la Infraestructura de Datos Espaciales Ambiental (IDE Ambiental, www.mapas.ambiente.gob.ar) que permite mostrar la información geográfica generada por las distintas áreas: Coordinación para la Gestión Integral de los Residuos Sólidos Urbanos; Dirección de Articulación Institucional; Dirección de Control Ambiental; Dirección de Gestión Ambiental de los Recursos Hídricos; Dirección de Bosques; Dirección de Conservación del Suelo y Lucha contra la Desertificación; Dirección de Fauna Silvestre; Dirección de Impacto Ambiental y Social; de Ordenamiento Ambiental del Territorio; Dirección de Prevención y Recomposición Ambiental; Grupo de Trabajo de Áreas Protegidas; Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos; **Plan de Acción Nacional sobre Contaminación Atmosférica (PLANCOA)**; Proyecto FREPLATA II; Sistema de Información Ambiental Nacional (SIAN); Subsecretaría de Coordinación de

Políticas Ambientales; Subsecretaría de Planificación y Política Ambiental; Subsecretaría de Promoción del Desarrollo Sustentable y la Tercera Comunicación Nacional sobre el Cambio Climático Software Libre en materia de Sistemas de Información.

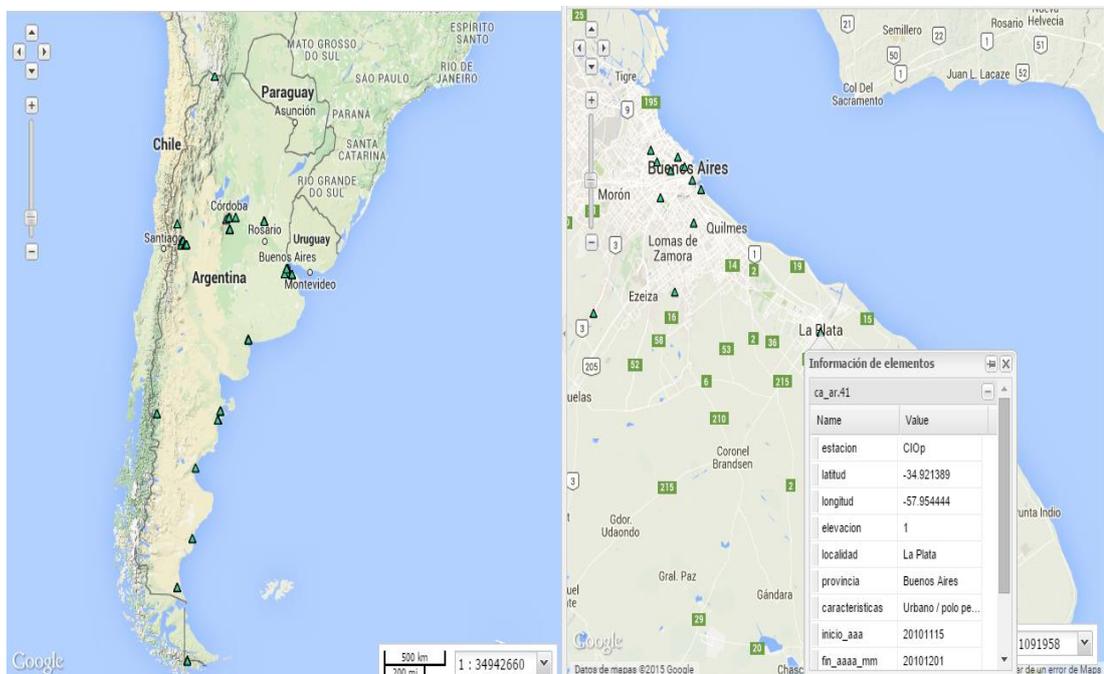


Figura 4. Mapa de Argentina en donde se visualizan las centrales de monitoreo de la calidad de aire existentes. En la segunda se amplía la zona de La Plata, donde se da información de la localización de la estación de monitoreo. Imagen obtenida de <http://mapas.ambiente.gob.ar>

A la fecha, el sitio se encuentra recabando la información existente para luego poder proponer un índice de calidad de aire para Argentina. Este índice futuro se encuentra a la fecha en discusión, debido a que se debe definir previamente lo que se quiere comunicar, la forma en que se lo va a hacer; qué contaminantes criterio se van a utilizar; cuáles serán los niveles del índice; qué resolución espacial utilizar y qué medidas puede tomar el Estado a partir del índice. En este sentido, en el V Congreso del Proyecto Integrador para la Mitigación de la Contaminación Atmosférica (PROIMCA) y III Congreso del Proyecto Integrador para la Determinación de la Calidad del Agua (PRODECA), realizado en La Rioja en agosto del 2015, se presentó la implementación y aplicación, por primera vez en Argentina, de un sistema de modelado para la calidad del aire (WRF-CHIMERE-EDGAR), denominado "Pronóstico experimental WRF-CHIMERE-EDGAR", con el que se obtiene la distribución espacial de contaminantes criterio (NO₂, O₃, CO y PM₁₀). Este pronóstico combina los

resultados de un modelo numérico de predicción del tiempo (WRF), un modelo de transporte químico (CHIMERE), un inventario de emisiones antropogénicas (EDGAR) y condiciones de contorno para simular el estado químico (fase gaseosa y aerosol) de la tropósfera.

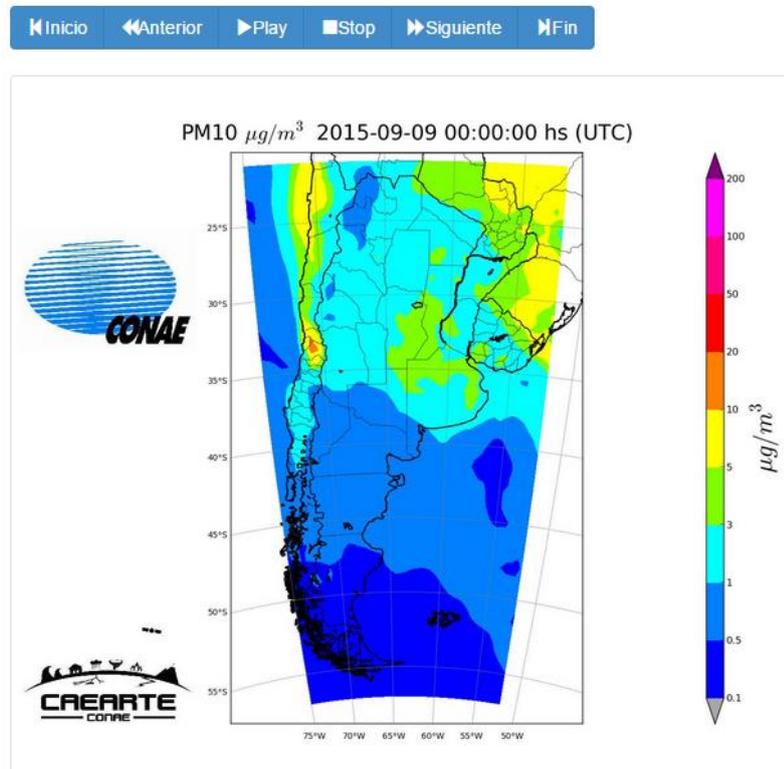


Figura 5. Imagen del Pronóstico experimental WRF-CHIMERE-EDGAR realizado por CAEARTE - CONAE Obtenida de <http://meteo.caearte.conae.gov.ar/>

En Argentina no se cuenta con un inventario completo, sólo con parciales de algunas ciudades, por ejemplo Mendoza, algunos sectores de Buenos Aires y algunas localidades de Córdoba. Por otra parte, si bien en la actualidad se trabaja en modelado, éstos se basan en monitoreos continuos o esporádicos de las zonas de estudio, por lo que resulta de gran importancia realizar estos inventarios para poder tener información precisa y confiable, de modo que los modelos propuestos a futuro puedan ser lo más representativos de la realidad posible, lo que permitiría poder adoptar medidas eficientes en salud pública.

Capítulo 2

El ojo

El ojo se puede dividir según sus estructuras en el segmento anterior y en el segmento posterior. El primero está definido como las estructuras comprendidas entre los párpados y la cara anterior del cristalino incluyendo a los párpados, el aparato lagrimal, la película lagrimal, el cristalino, el iris, el cuerpo ciliar, las cámaras anterior y posterior, la córnea y la conjuntiva (Guerrero Vargas, 2006). Puede subclasificarse además en el segmento externo, por las estructuras que están expuestas del ojo, siendo estas los párpados, la conjuntiva, la córnea y la película lagrimal.

El segmento posterior, esta constituido por el cristalino hasta la retina, pasando por el humor vitreo.

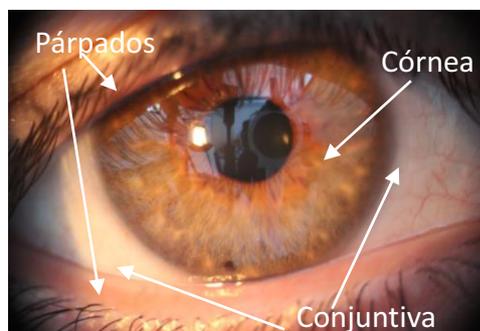


Figura 1. Imagen del segmento anterior obtenido con el biomicroscopio.

2.1 Segmento externo

El segmento externo incluye a las estructuras anatómicas que se describen a continuación:

- Los párpados son dos pliegues cutáneo-músculo-mucoso que cierran a la órbita por delante al tiempo que protegen y lubrican al globo ocular (Hornillos y Dacasa, 1992). Los párpados finalizan en su borde libre, el cual por su línea gris se dividen en dos lamelas, una anterior donde se insertan las pestañas y otra posterior donde se encuentra el tarso con las glándulas de Meibomio. Esta división anatómica permite clasificar a las inflamaciones palpebrales, blefaritis, en anteriores o posteriores (Guzmán et al., 2007).
- La conjuntiva es una membrana mucosa delgada y transparente que recubre la porción anterior de la esclera hasta el limbo y la porción posterior de los párpados. Se divide en tres partes: la conjuntiva bulbar, que reviste la cara anterior del globo ocular, la conjuntiva palpebral que se extiende por la superficie posterior de los párpados hasta su borde libre; y la conjuntiva del fornix o fondos de saco conjuntivales que es una zona plegada, de transición entre la conjuntiva bulbar y tarsal, ubicada en el punto de contacto entre la porción móvil del párpado y la esclera (Cobos and Ruiz, 2010).
- La córnea se encuentra en la parte frontal del ojo cubriendo el iris, la pupila y la cámara anterior. Es un tejido altamente diferenciado para permitir la refracción y la transmisión de la luz. Su forma consiste básicamente en una lente cóncavo-convexa con una cara anterior, en contacto íntimo con la película lagrimal precorneal, y otra cara posterior, bañada por el humor acuoso. Estas relaciones permiten a la córnea carecer de vascularización, pues estos líquidos son los máximos responsables de mantener su requerimiento fisiológico. La córnea se compone de un epitelio estratificado escamoso no queratinizado, membrana de Bowman, un estroma de tejido conectivo, membrana de Descemet y endotelio. Aunque este tejido avascular es aparentemente simple en su composición, la enorme regularidad y uniformidad de su estructura son las que

permiten su precisa transmisión y refracción de la luz (American Academy of Ophthalmology - AAO, 2012).

- Y la película lagrimal, que debido a su complejidad y a la importancia que tiene en este trabajo de tesis doctoral, se desarrolla en un apartado separado.

2.2 La película lagrimal

2.2.1 Estructura anatómica

La película lagrimal es una estructura altamente especializada, constituida por diferentes secreciones dispuestas específicamente, que recubren la córnea, la superficie epitelial de la conjuntiva bulbar, y la conjuntiva tarsal.

La composición de la lágrima está a cargo del sistema secretor del aparato lagrimal, el cual comprende a la glándula lagrimal principal y a las glándulas lagrimales accesorias, como son las glándulas de Krause, Wolfring, Zeis, Moll, Meibomio, Manz, las células caliciformes y las criptas de Henle (Van Haeringen, 1981). El drenado de la lágrima está a cargo del sistema excretor del aparato lagrimal, el cual combina el movimiento de las lágrimas a través del ojo, favorecido por la dinámica del cierre palpebral, la gravedad, la capilaridad y un sistema de drenaje que consta de los puntos lagrimales, canaliculos el saco lagrimal y el conducto nasolagrimal. La película lagrimal tiene un volumen medio de 6 a 8 μ l, y una tasa de secreción de 1,2 μ l por minuto (Hom, 1997).

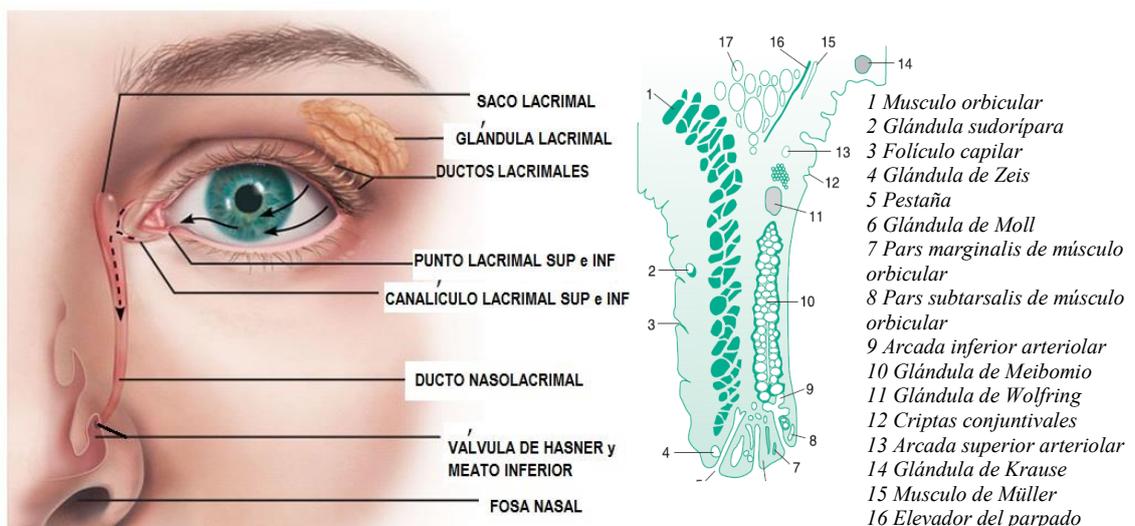


Figura 2. (A) Dibujo anatómico la glándula lagrimal y sus sistema excretor, extraída de <http://oftpediatrica.blogspot.com.ar/> **(B)** Sección sagital del párpado mostrando las diferentes glándulas, extraída de (Korb and British Contact Lens Association., 2002) traducido al español.

Se divide espacialmente y volumétricamente como:

- Pre-corneal: 1 μL
- Menisco lagrimal: 3 μL
- Fondo de saco o cul de sac: 4 μL

2.2.2 Función

La película lagrimal cumple una función importante para el normal funcionamiento del ojo debido a que:

- proporciona la primera superficie reflectante (Rieger, 1992);
- protege al ojo frente a desechos celulares y cuerpos extraños;
- nutre la córnea;
- lubrica los párpados.

2.2.3 Composición

Se considera que la lágrima es trifásica, compuesta por una capa lipídica u oleosa; una acuosa y otra mucínica (Wolff, 1946) con un espesor final de 7 a 9 μm .

Además, la composición lagrimal incluye electrolitos, vitamina A, proteínas, glucosa, metabolitos y vitamina C.

La capa lipídica es secretada principalmente por las glándulas de Meibomio y liberada por la acción mecánica del párpado. Esta secreción puede ser regulada por el sistema parasimpático. Las glándulas de Zeis y Moll también producen lípidos. Esta capa está compuesta por ésteres de colesterol, lecitinas, ácidos grasos, colesterol libre y fosfolípidos (Nicolaidis et al., 1981; Tiffany, 1979). El espesor normal es 0,1 μm .

La capa acuosa es secretada por la glándula lagrimal y las glándulas accesorias de Krause y de Wolfring. Su espesor es de 6 a 8 μm .

La capa mucínica está compuesta por una doble capa (Barbara A. Nichols, 1985), la interna denominada glucocáliz, producida por células epiteliales subyacentes, con un espesor de 0,02 a 0,04 μm ; y la externa constituida por un moco producido por las glándulas de Manz, células caliciformes y criptas de Henle, con un espesor de 0,6 a 1 μm . Las mucinas son glicoproteínas de alto peso

molecular, que generan una capa hidrófila sobre la superficie epitelial, aumentando su humectación.

La concentración de electrolitos es similar a la del plasma, mientras que existen 60 tipos de proteínas (Li et al., 2005). Las proteínas principales son la prealbúmina específica de la lágrima, albúmina, inmunoglobulina, lisozima y lactoferrina. La albúmina constituye el 60% de las proteínas de las lágrimas (Milder y Weil, 1983) mientras que la lisozima, el 20-40%. Su función es disminuir la tensión superficial para aumentar la humectabilidad de la córnea y conjuntiva (Hom, 1997).

Las inmunoglobulinas presentes en la lágrima son IgG, IgA, IgM, IgE e IgD (Records, 2002). Las más abundantes son IgG e IgA en condiciones normales y son producidas por las células plasmáticas en la conjuntiva y se liberan en las lágrimas. La película lagrimal tiene una osmolaridad media de 300 mOsm/L (Mishima et al., 1966) y un pH con un valor medio de 7,45 (Milder y Weil, 1983).

Además, contiene lactoferrina, lisozima y β -lisina, que tienen un efecto antimicrobiano. También están presentes mediadores inflamatorios como histamina y prostaglandinas (Van Haeringen, 1981).

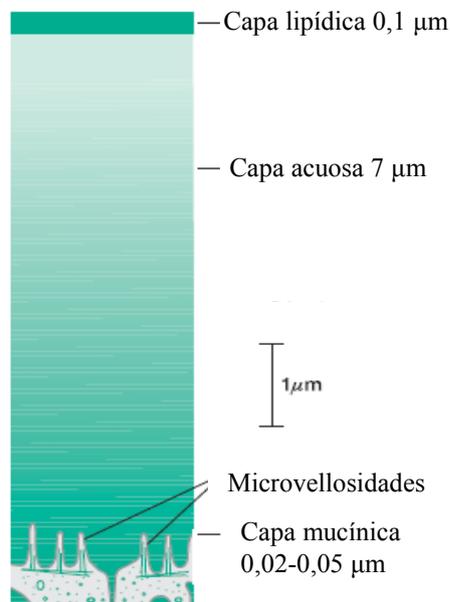


Figura 3. Dibujo representativo de la película lagrimal a escala, extraída de (Korb and British Contact Lens Association., 2002)

También existe otro modelo de película lagrimal, constituido por dos capas interdependientes. Esta película está formada mayoritariamente por una fase mucinoacuosa en la que se asienta una fase lipídica muy fina, y se regenera y redistribuye periódicamente gracias al movimiento de barrido ascendente del párpado superior (Lozato et al. 2001).

2.2.4. Estabilidad lagrimal

La estabilidad lagrimal se produce cuando existe una integridad de su estructura (cantidad y calidad de sus componentes, uniformidad e integración), una normal distribución (expansión o esparcimiento) sobre el epitelio corneal para que lo humecte y un adecuado parpadeo (frecuencia, amplitud, etc.) (Mayorga, 2009).

Cuando alguna de estas variables se encuentra afectada, ya sea por algún factor intrínseco o extrínseco, la estabilidad disminuye produciendo signos y síntomas, debido a la pérdida parcial o total de alguna o todas las funciones que incumben a la película.

Las causas más comunes son:

- una baja cantidad de producción lagrimal,
- una mala calidad, es decir, una capa lipídica pobre que puede favorecer a la evaporación de la lágrima. Existen diferentes teorías que explican cómo se produce este proceso.
- un incorrecto parpadeo que evita la buena distribución de la lágrima.
- contaminación ambiental.

Para analizar las modificaciones que ocurren frente a un agente contaminante se pueden realizar análisis clínicos de rutina, no invasivos, que permiten clasificar la estabilidad de la misma (Novaes, et al., 2010), así como también análisis bioquímicos de sus diferentes componentes (Ohashi, et al., 2006), y análisis inmunológicos.

2.3 Determinación de las características segmento externo y de la película lagrimal

Las características de la película lagrimal y el segmento externo se pueden evaluar de manera objetiva en un modelo *in vivo*, agrupadas en cuatro áreas:

- Técnicas para evaluar la estabilidad de la película lagrimal: a través del tiempo de ruptura lagrimal, BUT por sus siglas en inglés. El mismo representa el tiempo que transcurre entre un parpadeo y el primer signo de alteración o interrupción de las miras. Para su medición se puede utilizar el BUT con o sin fluoresceína (BUTIN – BUT) (Vitali et al., 1994). Y se puede realizar con las miras de diferentes instrumentos, como el queratómetro de Helmholtz, Tearscope Plus (Guillon, 1998), topógrafos con discos de Plácidos y con biomicroscopio o Lámpara de hendidura.
- Técnicas para evaluar la cantidad de lágrima: para valorar el caudal lagrimal existen diferentes test como ser el test de Schirmer en sus diferentes formas (I, II o III). Estos determinan la cantidad de fracción acuosa basal y refleja de la lágrima (Liotet et al., 1987). También se puede medir el caudal con el hilo de rojo fenol, que es similar al Schirmer pero que tiene menor contacto con el globo ocular. Otra forma en que se puede realizar esta medición es a través de la altura del menisco lagrimal y el perfil del mismo con biomicroscopio (Mainstone et al., 1996).
- Técnicas para evaluar la capa lipídica: entre ellas está la disfunción de las glándulas de meibomio (DGM) a través de la expresión digital con biomicroscopio (Bron et al., 1991). Este examen valora el tipo de secreción de estas glándulas, pudiendo encontrar desde una secreción transparente a una secreción cerosa con o sin bloqueo total del conducto. También se pueden valorar las distintas imágenes interferométricas con biomicroscopio (Yokoi et al., 1996) o tearscope, con el objeto de determinar el patrón lipídico, y estimar el espesor de la capa lipídica.
- Técnicas para evaluar la superficie ocular: entre ellas se encuentra la valoración de la hiperemia conjuntival y bulbar, que se clasifica según escalas como la de Efron (Efron, 2000) o la de CCLRU (Leve, n.d.), las tinciones conjuntivales y corneales con fluoresceína (Nichols et al., 2004), verde de lizamina y con rosa de bengala. Éstas permiten visualizar la tinción conjuntival y corneal, así como también los pliegues conjuntivales paralelos al parpado (LIPCOF, por su abreviación en inglés) (Höh et al., 1995).

2.4. Análisis de la composición lagrimal

Por otra parte, también se pueden determinar la composición de la lágrima a través de muestras de la misma, para luego cuantificar lípidos y proteínas a través de técnicas bioquímicas, químicas o físicas (A. Kuizenga et al., 1991; Ohashi et al., 2006; San Sebastian et al., 2001), así como también valorar la osmolaridad y el pH.

2.4.1. Proteínas

Como mencionamos anteriormente, en la actualidad se conoce que la composición proteica de la lagrima consta de alrededor de 60 proteínas (Li et al., 2005; Tapasztó et al., 1965), que forman la primera línea de defensa contra una infección externa, regulan la osmolaridad, amortiguan el pH, y establecen y controlan las respuestas inflamatorias.

El contenido total de proteínas de las lágrimas depende mucho del método de recolección de las lágrimas. Las lágrimas no estimuladas muestran niveles de alrededor de 20 mg/mL, mientras que las lágrimas estimuladas presentan valores mucho más bajos, del orden de los 3-7 mg/mL, lo que refleja el nivel de líquido de la glándula lagrimal. La determinación de proteínas totales se determina por el método de Bradford (1976); Biuret (Gornall et al., 1949) o Lowry (Lowry et al., 1951). Luego para la determinación de cada proteína en particular existen diferentes técnicas que se desarrollan a continuación.

2.4.1.1. Albúmina lagrimal

Los niveles de albúmina se pueden determinar por métodos electroforéticos, en una y dos dimensiones (Reitz et al., 1998). Desde el punto de vista electroforético es una prealbúmina y migra hasta una posición similar a la de la prealbúmina sérica. Se ha comunicado polimorfismo genético de la albúmina lagrimal (Gachon et al., 1979).

2.4.1.2. Lisozima

El nivel de lisozima en lágrima puede medirse por medio de varias técnicas bioquímicas como son la electroforesis, electroinmunodifusión, ELISA,

inmunodifusión radial, difusión en agar y análisis turbidométricos (Caffery et al., 2008; Copeland et al., 1982; Glasson et al., 2006).

2.4.1.3. Lactoferrina

La lactoferrina se puede determinar por electroforesis (Kijlstra et al., 1989; A Kuizenga et al., 1991; Kuizenga et al., 1996), ELISA (Glasson et al., 2006). El método más usado en clínica es el de inmunodifusión radial, aunque resulte más lento (Vitali et al., 1994).

2.4.1.4. Inmunoglobulinas

La determinación de las diferentes inmunoglobulinas se puede realizar por métodos electroforéticos, y por inmunodifusión radial (Ballow et al., 1987; Kuizenga et al., 1990; Petznick et al., 2011)

2.4.2. Lípidos

La capa lipídica, resulta de gran importancia debido al rol que cumple en la estabilización de la película lagrimal, a pesar de que cuantitativamente es muy pequeña. Esta capa disminuye en un 25% la tensión de superficie y reduce del factor 10 al 20 la pérdida acuosa evaporativa. Esta capa proviene fundamentalmente de la secreción de las glándulas de Meibomio. Además, esta capa se puede subdividir en una fase no polar, más externa y una fase polar, adyacente a la capa mucino-acuosa. Las características estructurales de la fase polar y la función de barrera de la no polar son un resultado directo de la composición específica de la capa (Dougherty and McCulley, 1986; Lozato et al., 2001; Nichols et al., 2004; Stern and Pflugfelder, 2004).

El glándulas de meibomio contiene ceras (35%), ésteres de esterol (30%), lípidos polares (16%), diésteres (8,5%) y pequeñas cantidades de triglicéridos (4%), ácidos grasos libres (2%) y esteroles libres (2%) (Lozato et al., 2001).

La cuantificación e identificación de los diferentes lípidos presentes, se puede realizar mediante una muestra lagrimal, la cual se disuelve en un disolvente orgánico y luego son separados en clases de lípidos antes del análisis por cromatografía líquida de alta performance (HPLC), con detección UV o por espectrometría de masas (HPLC-UV o HPLC-MS) (San Sebastian et al., 2001). Otra

técnica posible para este análisis es la cromatografía de gases, también con detección por espectroscopia de masas (GC-MS) (Ohashi, et al., 2006).

2.5. Otras determinaciones bioquímicas

2.5.1. Electrolitos

La concentración de electrolitos en las lágrimas es similar a la del plasma. La capa acuosa contiene sodio, potasio, cloro, bicarbonato, calcio y cantidades de más pequeñas de otros iones (Albert y Jakobiec, 1994). Los mismos se determinan mediante un sensor con un conductímetro (Mitsubayashi et al., 1995).

2.5.2. Osmolaridad

Es una prueba que mide la estabilidad de la película lagrimal, determinada por el número de moles de partículas osmóticamente activas por litro de lágrima (mOsm/litro). La medida de la osmolaridad es una de las mejores pruebas para el diagnóstico de la sequedad ocular (Lemp MA., 1995), sobre todo en los estadios iniciales de la enfermedad si existen cambios histológicos en la superficie ocular (Gilbard and Farris, 1979).

Para ello, las muestras de lágrima se deben recoger según técnicas que eviten la estimulación de la secreción lagrimal (Gilbard et al., 1987), por descenso del punto de congelación, utilizando para ello un osmómetro (Gilbard and Farris, 1983).

El valor normal está comprendido entre 300 y 310 mOsm/l. En pacientes con ojo seco con sequedad leve es aproximadamente de 320 mOsm/l; los de sequedad moderada, alrededor de 330 mOsm/l; y los de sequedad grave, es superior a 340 mOsm/l (Murube del Castillo and Cortes Rodrigo, 1989).

2.6. Ojo seco

Desde 1994 un grupo de científicos que investigaban sobre el ojo seco se reunieron en un taller organizado por el Instituto Nacional de Estados Unidos del Ojo (NEI) con el objeto de aclarar la definición y características de la enfermedad, así como también para acordar parámetros confiables para las investigaciones y ensayos clínicos del ojo seco. El material obtenido de esta reunión sirvió de guía

para profesionales e investigadores. En el año 2001 se sumaron más investigadores con amplia trayectoria en la temática, sumados a la Sociedad de la Película Lagrimal y a la Superficie Ocular (TFOS, por sus siglas en ingles). Luego, en lo que fue el Taller Internacional de Ojo Seco (DEWS) en el 2007, se discutieron diferentes aspectos de la patología, para concluir en un informe final, que compila información de las diferentes investigaciones y hallazgos hasta esa fecha.

Actualmente se define a esta patología como una enfermedad multifactorial de la película lagrimal y de la superficie ocular que causa síntomas de malestar, trastornos visuales e inestabilidad de la película lagrimal con daño potencial en la superficie ocular. Está acompañada por un aumento de la osmolaridad de la película lagrimal e inflamación de la superficie ocular (DEWS, 2007).

El ojo seco se reconoce como un trastorno de la Unidad Funcional Lágrima (LFU), un sistema integrado formado por las glándulas lagrimales, la superficie ocular (córnea, conjuntiva y glándulas de meibomio) y los párpados, así como los nervios sensoriales y motores que los conectan (Stern et al., 1998).

Una enfermedad o daño de cualquiera de los componentes de la LFU puede desestabilizar la película lagrimal y causar una enfermedad en la superficie ocular que se expresa como ojo seco. La estabilidad de la película lagrimal es un sello distintivo de un ojo normal, que se ve amenazada cuando las interacciones entre las partes estabilizadoras están afectadas por una disminución en la secreción lagrimal, un aclaramiento retardado y una composición alterada de las lágrimas (DEWS, 2007).

La inflamación de la superficie ocular es una consecuencia secundaria. El reflejo de la secreción de las lágrimas, que es una respuesta a la irritación ocular, se considera el mecanismo compensatorio inicial, pero con el tiempo, la inflamación que acompaña la disfunción secretora crónica y la disminución en la sensación corneal finalmente afecta la respuesta refleja, causando a su vez una mayor inestabilidad de la película lagrimal (Mayorga, 2010). Se considera que la perturbación de la LFU es muy importante en la evolución de las diferentes formas de ojo seco.

En el año 2006 se adopta el concepto de sistema de la superficie ocular, que se define como el epitelio húmedo superficial y glandular de la córnea, la conjuntiva, la glándula lagrimal, las glándulas lagrimales accesorias, el conducto nasolagrimal y la glándula de meibomio, y sus matrices apical y basal, unidos como en un sistema funcional tanto por la continuidad del epitelio, por inervación, como por los sistemas endocrino e inmune (Gipson, 2007). Las alteraciones de uno o varios componentes del sistema de la superficie ocular o sus secreciones resultan en cambios en la composición de la película lagrimal o de la superficie epitelial corneal, conduciendo a susceptibilidad a la desecación y a daño epitelial. Este daño conduce a la liberación de mediadores inflamatorios lo cual amplifica y propicia nuevos daños por desregulación crónica del sistema de la superficie ocular.

Existen diferentes clasificaciones del ojo seco, encontrándose dos grandes grupos: por la falta de secreción acuosa o por evaporación.

Ojo seco

Por falta de secreción acuosa

- asociado al síndrome de Sjogren (primario y secundario)
- no asociado al síndrome de Sjogren (falta de secreción lagrimal, obstrucción del conducto de la glándula, bloqueo reflejo, efecto secundario de fármaco sistémico)

Evaporativo

- Intrínseco (falta de grasa meibomiana, trastorno en la apertura palpebral, baja frecuencia de parpadeo, acción de farmacos accutane)
- Extrínseco (Deficiencia de vitamina A, farmacos tópicos conservantes, uso de lentes de contacto, enfermedad de la superficie ocular).

Cuadro 1. Clasificación del ojo seco.

La prevalencia de ojo seco está estimada entre 7.4% y 33.7%, dependiendo de cómo se haya diagnosticado esta patología y de la población estudiada (Lin et al., 2003; Mccarty et al., n.d.; Moss et al., 2000; Schaumberg et al., 2003; Schein et al., 1999, 1997). En Estados Unidos, las cifras estiman 3,2 millones de mujeres y 1,6 millones de hombres de 50 años o más, cómo máximo. Un número similar corresponde a afecciones con síntomas menos severos y una manifestación episódica de la enfermedad, que solo se observa durante el contacto con factores contribuyentes adversos.

El diagnóstico de ojo seco no se puede realizar con un solo test, ya que no hay *per se* una sola prueba de diagnóstico que se pueda realizar para distinguir individuos con o sin ojo seco de manera confiable. Además, aunque varias son de uso común en la consulta, no hay consenso sobre la combinación de pruebas que se debe hacer para definir esta enfermedad, ya sea en la clínica o en protocolos de investigación. Uno de los principales obstáculos es la falta de correlación entre los síntomas oculares causados por irritación ocular de los pacientes y los resultados de las pruebas clínicas seleccionadas para el ojo seco. Es por ello que se trata de reto para los profesionales de la visión, ya que es difícil encontrar una buena correlación entre signos y síntomas (Miyawaki y Nishiyama, 1995). La bibliografía sugiere que esta falta de correlación se debe a que no se termina de comprender la naturaleza íntima de los síntomas y su relación con los resultados de los test clínicos (Schein et al., 1999). Esto nos lleva a valorar el hecho de entender cómo se produce la enfermedad, la naturaleza subjetiva de los síntomas, y la variabilidad en los umbrales de dolor y las respuestas cognitivas a las preguntas sobre sus sensaciones oculares, a lo que se le puede sumar, la disminución en la sensibilidad corneal relacionada con la edad y el progreso de la enfermedad.

Por otra parte, la falta de repetitividad de las pruebas y las mediciones repetidas de las mismas en los mismos sujetos, no dieron correlaciones sólidas (Doughty et al., 1997; Nichols et al., 2004).

El ojo seco es una enfermedad sintomática, por lo que el uso de cuestionarios validados internacionalmente por las diferentes organizaciones de ojo seco, resultan de gran utilidad para al diagnóstico de las diferentes patologías. Entre ellos se encuentra el McMonnies (McMonnies, 1986), el OSDI (Schiffman Rm, 2000), el NEI-VFQ (Mangione et al., 1998) y el DEQ (Begley et al., 2003), entre otros. Aunque en ocasiones, como nombramos anteriormente, puede ser asintomática, debido a que no existan síntomas o a que el paciente los naturalice.

El impacto del ojo seco en la calidad de vida esta mediado por:

- a) dolor y síntomas por la irritación (Mertzanis et al., 2005);
- b) efectos sobre la salud ocular y general;
- c) efecto sobre la percepción de la función visual (Gulati et al., 2006; Schiffman Rm, 2000)

d) impacto sobre el desempeño visual.

El costo del tratamiento y la falta de una cura para el ojo seco incrementan el impacto de este importante problema de salud pública.

El nivel de ojo seco varía entre una irritación leve, que produce una molestia para el paciente, y una enfermedad incapacitante grave. En sus formas más leves puede responder a tratamientos que alivian los síntomas sin modificar el proceso de la enfermedad. No obstante se ha descubierto que algunos fármacos puede retardar, detener o incluso invertir el curso de la enfermedad (Gálvez Tello et al., 1998). Es por ello que se necesitan pruebas clínicas que permitan la detección temprana, ya que diversos grupos de pacientes podrían comenzar a padecer ojo seco por una serie de eventos biológicos, farmacológicos o ambientales. La exposición a tales influencias podrían engendrar síntomas de ojo seco en un grupo de riesgo a un umbral más bajo que sujetos que no están en riesgo de padecer la enfermedad.

Una revisión de la literatura revela que la prueba de Schirmer, el tiempo de ruptura de la película lagrimal (BUTIN), las tinciones corneo-conjuntivales y los síntomas de incomodidad, son las variables de valoración más comunes utilizadas en los ensayos clínicos de ojo seco (Albietz, 2000; Doughty et al., 2002; López García et al., 2005; McMonnies, 1986; Pult et al., 2011; Schein et al., 1997).

Aparte de estas variables de valoración, los ensayos que involucran agentes antiinflamatorios usaron pruebas, biomarcadores y variables de valoración que incluían citología de impresión (número de células caliciformes, morfología epitelial y expresión de HLA DR, CD3, 4, 8, 40, Apo2.7 y perfiles de citoquinas) (Avunduk et al., 2003; Pflugfelder et al., 2004). Los ensayos de secretagogos estudiaron también la osmolaridad, las expresiones de ARNm de MUC 1, 2, 4 y 5AC (Gilbard et al., 1991, 1990; Tauber et al., 2004). También existe bibliografía de ensayos con dispositivos de retención lagrimal, gafas protectoras y tapones puntales, los cuales toman como variables el índice de aclaramiento lagrimal, la osmolaridad lagrimal y el índice de función lagrimal (TFI), así como la estandarización de la humedad y temperatura ambiental (Goto et al., 2003; Yen et al., 2001).

Actualmente se utiliza una combinación de pruebas clínicas con cuestionarios, para poder diagnosticar el ojo seco, pero no existe un protocolo

determinado para tal fin. Sí se ha acordado que es necesario valorar: a) la función visual de manera objetiva, b) la determinación del volumen y la producción lagrimal, c) la determinación de la estabilidad lagrimal; d) la medida de la composición lagrimal y e) la medida de la integridad de la superficie ocular.

Capítulo 3

Efectos de la contaminación aérea

3.1. Efectos en la salud general

Según la OMS más de dos millones de muertes anuales prematuras, son atribuibles a los efectos de la contaminación del aire en espacios abiertos urbanos (extramuros) y en espacios cerrados (intramuros). Más de la mitad de esta carga de enfermedad recae en las poblaciones de los países en desarrollo (WHO 2006; WHO 2009). Esta contaminación aumenta significativamente la morbilidad y la mortalidad en la población en general (Hoek et al., 2002; Maheswaran y Elliott, 2003; Tonne et al., 2007; Simkhovich et al., 2008; Brook et al., 2010).

Estudios realizados en diversos países, evidencian cómo la exposición crónica a contaminantes relacionados al tráfico vehicular y la industria química y petroquímica, tales como MP, metales e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) asociados, compuestos orgánicos volátiles (COVs) y gases inorgánicos (SO₂ y NO_x) producen efectos adversos en la salud de la población (Massolo et al., 2002; Ribeiro y Cardoso, 2003; Ostachuk et al., 2008; Cianni et al., 2009; Krewski et al., 2009; Wichmann et al., 2009; Novaes et al., 2010; Magnani et al., 2011; Gallardo et al., 2012).

El impacto de la contaminación aérea en la salud se ha visto fundamentalmente sobre el sistema respiratorio y cardiovascular. La OMS (2006)

estima que un 80% de las defunciones prematuras relacionadas con la contaminación del aire exterior se debe a cardiopatía isquémica y accidente cerebrovascular, mientras que un 14% a neumopatía obstructiva crónica o infección aguda de las vías respiratorias inferiores, y un 6% a cáncer de pulmón.

Varios autores han reconocido que la vulnerabilidad a problemas respiratorios es uno de los principales efectos adversos en la salud de la población (Pope III y Dockery, 2006; Adar y Kaufman, 2007). Sin embargo, varios autores reconocen que se deben profundizar estudios conducentes a determinar y valorar a los efectos en la salud en general (Brook et al., 2010; Brüske et al., 2011; Roy et al., 2014; Wong et al., 2015; Zhang et al., 2015).

Dentro de los contaminantes aéreos, los efectos que genera el material particulado (MP) sobre la salud están directamente relacionados a los niveles de exposición a los que se encuentran sometidas las poblaciones.

En este sentido, las partículas presentan un riesgo debido a que penetran en los pulmones, los bloquean y evitan el paso del aire, lo cual conlleva:

- Deterioro de los sistemas respiratorio y cardiovascular;
- Alteración de los sistemas de defensa del organismo contra materiales extraños;
- Daños al tejido pulmonar;
- Carcinogénesis;
- Mortalidad prematura.

Además, las partículas tienen la capacidad de absorber diferentes compuestos que pueden potenciar o desencadenar otros efectos en la salud. Por ejemplo el hollín, puede absorber sobre su superficie irregular cantidades significativas de sustancias tóxicas, que podrían generar efectos negativos en la salud, ya que el tamaño de la partícula las habilita a acceder a otras estructuras anatomofisiológicas.

El tamaño de las partículas es determinante para los efectos en la salud humana, por su diferente capacidad de penetración en el árbol respiratorio y por su permanencia en la suspensión en el aire, lo cual aumenta la exposición a ellas por vía de inhalación. Cuanto más pequeña es una partícula, más tiempo permanecerá en suspensión en el aire y más profundamente penetrará en el

pulmón humano. Las MP_{10} son retenidas en la parte superior del árbol respiratorio y son expulsadas al exterior por la tos y el movimiento de los cilios de las células epiteliales de la nariz. Por otro parte, la fracción fina, $MP_{2.5}$, está compuesta por partículas suficientemente pequeñas que penetran en las vías respiratorias hasta llegar a los pulmones y los alvéolos, por lo cual se las denomina «respirables» Éstas pueden adsorberse sobre las superficies de las células y, en consecuencia, aumentar el riesgo de mortalidad prematura por efectos cardiopulmonares, en exposiciones de corto y largo plazo (Kok et al., 2009).

Sumado a que el área superficial por unidad de masa de las partículas grandes es menor que las correspondientes a las pequeñas, su capacidad de transportar gases adsorbidos a cualquier parte del sistema respiratorio -y allí catalizar reacciones químicas y bioquímicas-, es mucho mayor en $MP_{2.5}$.

Es de consenso general que una vez depositado en los pulmones, el MP genera una cascada inflamatoria con un aumento de las especies reactivas del oxígeno (ROS en inglés), siendo éste uno de los principales mecanismos responsables de los efectos tóxicos del MP (Harrison y Yin, 2000; Pope III y Dockery, 2006).

El pulmón responde a la injuria con mecanismos específicos de defensa que pueden ser adquiridos y modificados con el paso del tiempo al ser estimulados por la exposición constante a materiales antigénicos de bajo y alto peso molecular diseminados por vía aérea.

La enfermedad pulmonar crónica y la broncoconstricción pueden resultar de la inhalación de materiales que parecen actuar total o parcialmente a través de una respuesta alérgica.

Aun considerando que los individuos están expuestos a un conjunto de tóxicos presentes en el aire, estudios de cohorte preliminares realizados en Europa sugieren que el mayor contribuyente a la mortalidad de la población es el $MP_{2.5}$ relacionado la contaminación aérea producida por fuentes de combustión móviles (Brauer et al., 2002).

En la figura siguiente se muestra un esquema de las vías respiratorias, y los tamaños de partículas que se asocian a cada zona anatómica.

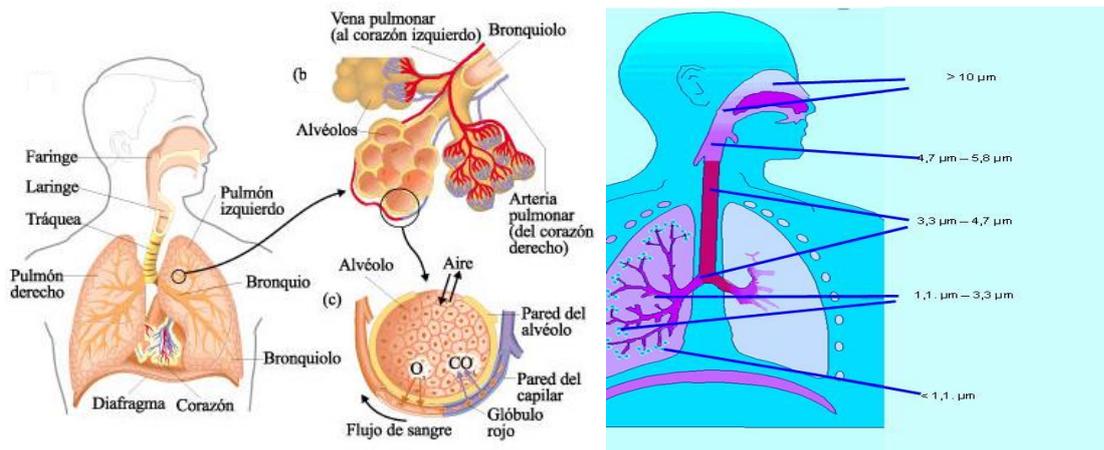


Figura 1. (A) Dibujo anatómico del sistema respiratorio. Extraída de <https://bibliotecadeinvestigaciones.wordpress.com> **(B)** Tamaño de partículas que se alojan en cada una de las estructura anatómicas, extraídas de Massolo 2004.

En este sentido, se define como personas sensibles o poblaciones vulnerables a quienes padecen afecciones pulmonares o cardiovasculares crónicas obstructivas, influenza o asma, así como los ancianos y los niños.

Por lo tanto, la magnitud de la afección a la salud es en función del tamaño de las partículas presentes en la atmósfera local, de la concentración de las partículas y las composiciones química y física de las partículas, así como también del tiempo de exposición y de la susceptibilidad de las personas.

La exposición crónica a las partículas aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares y respiratorias, así como de cáncer de pulmón. En los países en desarrollo, la exposición a los contaminantes derivados de la quema de combustibles sólidos en fuegos abiertos y cocinas tradicionales en espacios cerrados, aumenta el riesgo de infección aguda en las vías respiratorias inferiores y la mortalidad por esta causa en los niños pequeños (Barrios Casas et al., 2004). La contaminación atmosférica en espacios interiores procedente de combustibles sólidos, constituye también un importante factor de riesgo de enfermedad pulmonar obstructiva crónica y cáncer de pulmón entre los adultos. La mortalidad en ciudades con niveles elevados de contaminación supera entre un 15% y un 20% la registrada en ciudades más limpias. Incluso en la Unión Europea, la esperanza de vida promedio es 8,6 meses inferior debido a la exposición a las MP_{2.5} generadas por actividades humanas (WHO y EC, 2002).

Por otra parte, hay evidencia de que la exposición crónica a la contaminación del aire se asocia con la diabetes mellitus, por lo que el MP₁₀

parece ser un marcador útil para la diabetes, aun cuando las concentraciones del MP son inferiores a las directrices de calidad del aire (Bello Rodríguez et al., 2012; Eze et al., 2014). Así como la exposición a corto plazo durante la actividad física, a contaminantes aéreos provenientes del tráfico vehicular, mostró cambios en la presión arterial, la modulación autonómica cardíaca, y/o la función vasomotora, pudiendo contribuir a la morbilidad cardiovascular (Weichenthal; Liao et al., 1999; Brook et al., 2002).

Asimismo, el aumento de la contaminación del aire se asoció con un incremento de marcadores inflamatorios en sangre, y de coagulación / fibrinólisis como ser interleuquina (IL)-6, el ligando de CD40 soluble (sCD40L), el fibrinógeno, la mieloperoxidasa (MPO), y el inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1 (PAI-1), en poblaciones susceptibles de diabéticos tipo 2, con intolerancia a la glucosa y con predisposición genética (Rückerl et al., 2014). Anteriormente se había reportado que la IL-6 responde a los contaminantes del aire en cuestión de horas en algunos estudios epidemiológicos (Rückerl et al., 2007).

La problemática regional de la contaminación del aire y sus efectos en la salud ha sido estudiada fundamentalmente en países en los cuales, por situaciones meteorológicas adversas, estos efectos se agravan, típicamente fenómenos de inversión térmica en Santiago de Chile o el Distrito Federal de México, pero también en otros que han logrado generar cierta tradición en la materia e incluso desarrollar estudios exhaustivos y de gran importancia, como es el caso de Colombia, Perú, Brasil y Argentina (Gioda et al., 2004; O'Neill et al., 2008; Cianni et al., 2006; Muller et al., 2006; Wichmann et al., 2009; Massolo et al., 2010; Colman Lerner et al., 2013; Colman Lerner et al., 2014).

Estudios realizados en ambas zonas, encontraron diferencias significativas en cuanto a los niveles de material particulado (MP), hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), y los compuestos orgánicos volátiles (COVs) en distintas regiones, siendo dichos niveles mayores en la zona industrial, a los que se les suma los efectos adversos en la función respiratoria en los habitantes, ya que se han observado asociaciones significativas en cuanto al aumento de MP y COVs y el acentuación de síntomas respiratorios, mayor exacerbación del asma, y una disminución de la función pulmonar en niños de 6 a 12 años que residen en la

zona industrial (Cianni et al., 2009; Wichmann et al., 2009). Asimismo, se han evaluado los efectos cancerígenos a través del riesgo de contraer cáncer en toda la vida (LCR) asociado a la exposición a benceno en niños y si bien el LCR era mayor al nivel recomendado por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA) en las dos zonas, en la zona industrial además superaba los estándares de la OMS (Massolo et al., 2010; Colman Lerner et al., 2014).

3.2. Efectos en la Salud ocular

Los efectos perjudiciales de la contaminación del aire en los ojos no se encuentran bien documentados, y resulta de gran importancia, ya que los ojos podrían ser vulnerables debido a su constante exposición al aire.

Los síntomas de la sequedad de los ojos son comúnmente asociados a la contaminación aérea. Una causa común de la irritación ocular es la exposición al humo de cigarrillo (Shephard et al., 1979), aunque también la sequedad e irritación ocular ha sido relacionada al aire interior o contaminación intramuros (Franck et al., 1993; Thriene et al., 1996), más específicamente al síndrome de edificio enfermo, representando un cuarto de las enfermedades ocupacionales en los países desarrollados (Kok et al., 2009), así como también se han encontrado efectos generados por la contaminación fotoquímica (Altshuller, 1977). Algunas investigaciones muestran síntomas que aparecen debido a la exposición al aire contaminado, como dolor y picazón (McMonnies et al., 1986), irritación (Altshuller, 1977), visión reducida y una mayor sensibilidad a la luz (Lemp, 1995). En el caso de los usuarios de lentes de contacto, se podría manifestar la intolerancia a las mismas (Korb y Henríquez, 1980).

Se considera que la sequedad ocular puede provocar la inestabilidad de la película lagrimal (Holly, 1985) y las concentraciones de sus componentes se pueden ver comprometidas. La acidificación de pH por los altos niveles de oxidantes (NO, NO₂, y SO₂) en el aire podría ser responsable de estos efectos (Andrés et al., 1988).

Varios estudios demuestran las relaciones frente a exposiciones de CO y MP_{2,5} (Siddiqui, et al., 2005), de CO (Ellegård, 1997), o de hidrocarburos totales de petróleo en aguas (San Sebastián, et al., 2001), y los síntomas y signos oculares que presenta la población que vive cerca de fuentes de contaminación, así como

también los diferentes factores de riesgo en la prevalencia del ojo seco (Sahai y Malik, 2005).

Estudios más recientes han determinado ciertas alteraciones en el segmento anterior del ojo atribuidas a la contaminación de aire, como ser altos niveles de alteraciones de la superficie ocular subclínica (BUTIN y Schirmer) fueron encontrados en las personas que viajan en zonas altamente contaminadas (Saxena et al., 2003); así como efectos en la mucosa ocular, viéndose asociaciones positiva y significativas entre la exposición a la contaminación del aire (NO₂) y la hiperplasia de células caliciformes en la conjuntiva humana (Novaes et al., 2007). También se vieron disminución en la estabilidad de la película lagrimal y trastornos de la superficie ocular subclínicas (BUT Y Schirmer) (Gupta et al., 2007; Novaes et al., 2010; Moen et al., 2011; Torricelli et al., 2014) y en la incidencia de afecciones palpebrales como la blefaritis (Malerbi et al., 2012). Sugiriéndose que los síntomas de malestar ocular y el tiempo de ruptura lagrimal podrían ser utilizados como bioindicadores convenientes de los efectos adversos para la salud generados de la contaminación del aire derivados del tráfico (Novaes et al., 2010).

Por otra parte, se ha descrito la presencia de diferentes tipos de mucinas en la superficie ocular: las secretadas por las células de Goblet (GC) (MUC5A, MUC19), las expresadas por las glándulas del acino lagrimal (MUC7), y las asociadas a los epitelios corneal y conjuntival (MUC1, MUC4, MUC16). La producción de algunas de ellas se ha visto alterada en ciertas afecciones oculares como el “ojo seco” (Gipson et al., 2004; Yu et al., 2008; Floyd et al., 2012), pero hasta la fecha no existen reportes sobre efectos de la contaminación ambiental sobre la expresión de mucinas en la superficie ocular o en la secreción lagrimal.

Sin embargo, se han encontrado estudios que indican perfiles proteicos anormales (Ohashi et al., 2003), o más específicamente mucinas que se pueden utilizar como biomarcadores de algunas alteraciones oculares (Zhou et al., 2009), como ser algún subtipo de ojo seco (Albietz 2000)., No obstante, un estudio reciente encontró que la exposición a largo plazo a contaminantes aéreos puede aumentar la densidad de GC y, en consecuencia, aumentar los niveles de ARNm de MUC5AC formadores de gel (Torricelli et al., 2014).

Por otra parte, se han visto aumentadas las concentraciones de proteína C-reactiva en poblaciones expuestas a alto tránsito vehicular (Fuks et al., 2014), como así también una disminución de interleuquina (IL)-2, IL-8, IL-10 y TNF- α frente a la exposición a compuestos nitrogenados (Mostafavi et al., 2015).

Los mecanismos exactos a través de los cuales los contaminantes del aire interfieren con la película lagrimal, córnea y conjuntiva no están bien claros a la fecha, por lo que se requiere de mayores estudios en la materia para poder determinar también cómo el organismo compensa los cambios inducidos por la exposición crónica a la contaminación del aire y cómo poder identificar individuos susceptibles que requieren de tratamiento temprano, con el fin de prevenir los trastornos crónicos, y promover una salud ocular.

3.3 Descripción de la zona de estudio

La región costera del borde sur del Río de La Plata, en la Provincia de Buenos Aires se caracteriza por un importante desarrollo socioeconómico. En particular el sector comprendido por las cuencas hidrográficas que se desarrollan en los Partidos de La Plata, Berisso y Ensenada presenta una fuerte actividad industrial, actualmente en expansión, lo cual representa uno de los sectores de mayor dinamismo socioeconómico y poblacional en relación a ese tema en nuestro país (Kruse et al., 2011).

3.3.1 Ensenada: características de la zona y contaminación industrial

La Ciudad de Ensenada se encuentra ubicada al este de la Provincia de Buenos Aires, sobre el litoral Sur del Río de La Plata, a 7 kilómetros de la ciudad de La Plata. Es una ciudad cercana a Berisso, que cuenta con una cantidad de 56.129 habitantes según el Censo realizado en el 2010. (Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC), 2011).

Debajo se muestra la Figura 2 correspondiente a la vista aérea de la ciudad de Ensenada.



Figura 2. Mapa de la ciudad de Ensenada y del polo industrial, obtenidas del Google Earth versión 7.1.2.2041)

En sus inicios Ensenada comenzó a cobrar vida alrededor de la industria de la carne. Prontamente sería marcada por la industria pesada, así es que en el año 1923 el Gobierno nacional cedió tierras de su propiedad a la Secretaría de Marina para la instalación, al margen derecho del Río Santiago, de un astillero, siendo este el origen de Astilleros y Fábricas Navales del Estado S.A. (AFNE S.A.) más conocido como Astilleros Río Santiago. Además se desarrolló en la zona, un polo petroquímico, conformado principalmente por las destilerías de YPF y Petroquímica General Mosconi. Esto contribuyó al poblamiento de la zona, generando una fuerte recepción de mano de obra (Lamaisón, 2014).

Una de las principales amenazas a las que está expuesta la población de Ensenada, se debe a la actividad industrial, dedicadas mayoritariamente a procesos derivados de la explotación del petróleo. El Polo Petroquímico constituye uno de los tres principales en Argentina junto a los polos de Bahía Blanca, en la Provincia de Buenos Aires y de San Lorenzo, en Santa Fe, los cuales concentran la mayor parte de las industrias de este sector en el país.

Este polo, nace en 1925 con la inauguración de la Destilería “La Plata” de YPF. Posteriormente, en torno a la Destilería se instala, el Polo Petroquímico de Ensenada, formado por varias industrias en las que se desarrollan procesos productivos, que a partir de la utilización de materias primas tales como el gas natural o los derivados de la destilación del petróleo, elaboran productos básicos intermedios o finales. Estas empresas son **Petroken**, donde se produce

polipropileno, siendo la más importante de Argentina y **Polibutenos Argentinos S.A. - Aco Saptic**, que produce polibutenos, principalmente el "Polybut" que es una marca registrada de YPF; **Maleik S.A.** y es una planta química destinada a la producción de anhídrido maléico.

Actualmente este polo se divide en tres grandes grupos: la refinería y destilería, los lubricantes, y las unidades de petroquímica. Por otro lado, la empresa **Copetro**, instalada en la zona desde 1982, se encarga de almacenar y calcinar el coque para luego venderlo; este carbón de coque ha sido detectado como el principal responsable de problemas respiratorios de los pobladores de la región.

Dada la magnitud de las industrias que conforman el polo, son consideradas de tercera categoría según la clasificación de la ley provincial N° 11.459 de Radicación Industrial. Esto implica que "se trata de establecimientos que se consideran peligrosos porque su funcionamiento constituye un riesgo para la seguridad, salubridad e higiene de la población u ocasiona daños graves a los bienes y al medio ambiente" (Observatorio Petrolero Sur, 2015).

En la figura 3 se indican las diferentes plantas industriales situadas en el polo petroquímico.



Figura 3. Imagen las diferentes industrias que se encuentran en el polo industrial. Imagen obtenida de Velazco, et al., 2006.

3.3.2. La Plata: características de la zona

La Plata es una ciudad planificada, paradigma de planificación urbanística de fines del Siglo XIX. También es un ejemplo del higienismo que comenzaba a tomar importancia en esa época.

Por ser una ciudad proyectada antes de construirse, con pensamientos tributarios del racionalismo triunfante con la Revolución francesa, puede afirmarse que es la primera construida en el mundo de acuerdo a las ideas republicanas, en medio del afianzamiento de la Revolución Industrial, la consagración de la ciencia positivista y el nacimiento de la utopía de una vida social y ecológicamente más armónica (Soler, 1982).

La traza de la ciudad, concebida por el arquitecto Pedro Benoit, se caracteriza por una estricta cuadrícula y sus numerosas avenidas y diagonales, que ocupa alrededor de 25 km². La forma aproximada del plano original es la de un cuadrado de 38 x 38 cuadras. La convergencia de las dos diagonales más importantes, 73 y 74, que atraviesan la ciudad de este a oeste y de norte a sur, respectivamente, se produce en la Plaza Moreno, la principal de la ciudad, en cuyo centro se encuentra la Piedra Fundamental.

El diagrama de ciudad contempla cada seis calles una avenida, y en cada intersección de dos avenidas aparece uno de sus 23 parques y plazas (incluido el Paseo del Bosque), interconectados a su vez por diagonales.

La Plata es la Capital de la Provincia de Buenos Aires, distante 56 kilómetros en dirección sudeste de la ciudad de Buenos Aires, capital de la República Argentina; y se encuentra a 9,87 metros sobre el nivel del mar.

Con una población estimada por el último Censo Nacional (Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC), 2011) en 799.523 habitantes, y una superficie territorial de 940,38 kilómetros cuadrados, la densidad habitacional refleja 585,2 habitantes por kilómetro cuadrado, convirtiéndola en la más populosa de la Provincia. En la figura 4 se muestra una imagen aérea de la misma.



Figura 4. Mapa de la ciudad de La Plata, obtenidas del Google Earth versión 7.1.2.2041)

Capítulo 4

Estudio de casos - Metodologías

4.1. Monitoreo de contaminantes aéreos

Frente a los datos bibliográficos obtenidos por nuestro grupo de contaminación atmosférica, y con el objetivo de corroborar si estos niveles de MP se mantenían durante el periodo del estudio, se tomaron muestras de MP, en ambas zonas. Las mismas fueron recolectadas por medio de un muestreador de bajo volumen (minivol airmetrics). en este, por medio de una bomba, el aire es forzado a pasar a través de un separador de tamaños de partículas (impactadores) y luego a través de un medio filtrante, donde queda depositado el material particulado (Baldauf et al., 2001).

La tasa real de flujo volumétrico fue de 5 l min^{-1} . Los muestreos fueron efectuados por un tiempo aproximado de entre 5 y 6 días para cada muestra de $\text{MP}_{2.5}$ y de entre 2 y 3 días para cada una de MP_{10} en cada sitio de muestreo. Como medio filtrante se

utilizaron filtros de politetrafluoroetileno (ptfe) y de fibra de vidrio de 46.2 mm de diámetro y de 2 μ m de diámetro de poro. El contenido de MP₁₀ y MP_{2.5} en cada muestra se determina por gravimetría.

Los puntos de muestreo considerados para este trabajo fueron para la zona industrial: en la Cooperativa Futuro Ensenadense y en las instalaciones de la Universidad Tecnológica Nacional regional La Plata, y para la zona urbana: el en centro del casco urbano (44 y 13) y en la intersección de la calle 29 y 65.

Además, se tuvo en cuenta los datos meteorológicos durante el periodo del estudio, los cuales fueron obtenidos de una estación situada en la Universidad Tecnológica Nacional regional La Plata, y se detallan a continuación:

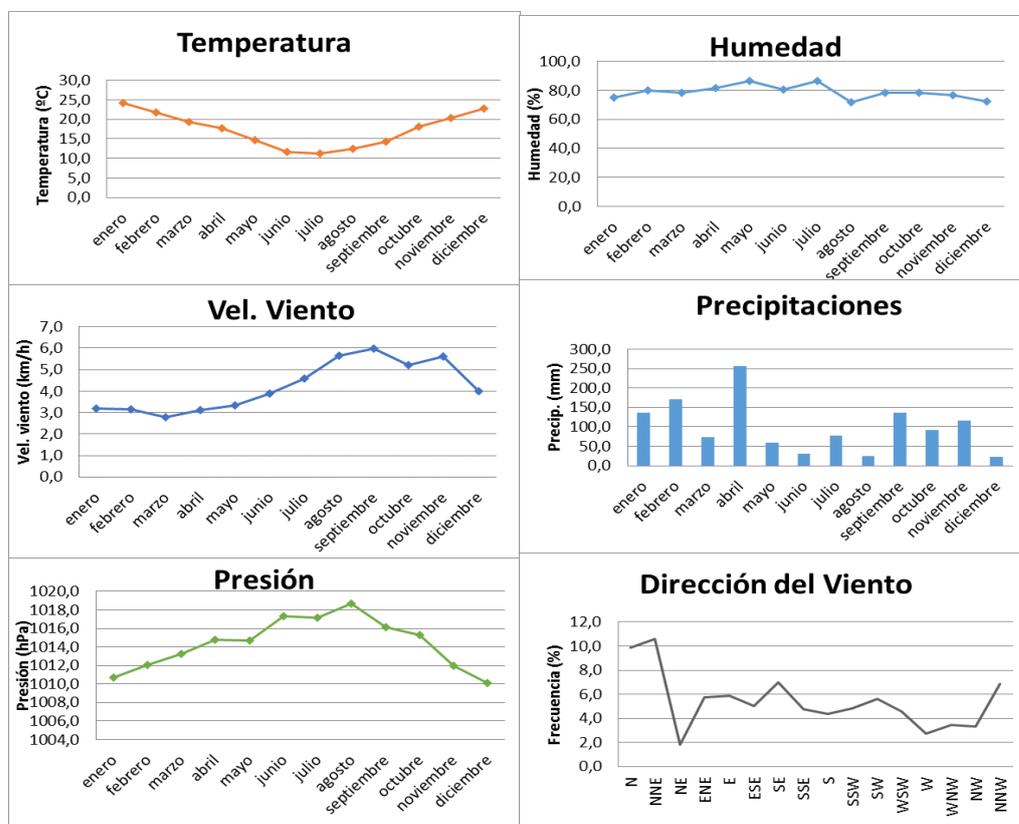


Figura 1. Datos meteorológicos durante 2013-2014, presentados como la media de cada mes. Los datos se obtuvieron de la estación meteorológica ubicada en la Universidad Tecnológica Nacional regional La Plata.

4.2. Población de Estudio

Para analizar el efecto de la contaminación aérea y asociarlo a los efectos en la salud, específicamente sobre las alteraciones oculares, se definió a las zonas en base a las diferencias encontradas en cuanto a los niveles de contaminantes atmosféricos. Por este motivo se evaluaron dos poblaciones, una población de la

ciudad de Ensenada denominada área industrial (I) y otra correspondiente al casco urbano de La Plata, denominada área urbana (U).

El Estudio se realizó durante el 2013 y 2014, en personas adultas que viven y trabajan en las zonas de estudio (I y U), constituyendo dos grupos compuestos por 34 de la zona I, los cuales trabajan en la Cooperativa Futuro Ensenadense y 44 de la zona U, que trabajan en la Facultad de Ciencias Exactas – UNLP. Cuyas edades están comprendidas en el rango etario de 18 a 62 años. Al momento del estudio ninguno de los participantes del mismo se encontraban bajo tratamiento médico con fármacos de ninguna clase.

Los estudios se llevaron a cabo en las instalaciones del Programa Ambiental de Extensión Universitaria (PAEU), y en el Programa Laboratorio de Salud Pública (PLSL), ambos de la Facultad de Ciencias Exactas – UNLP.

El estudio se organizó en estaciones donde se realizaban las diferentes metodologías de estudio. Comenzando en el (PLSL), donde los voluntarios debían concurrir con un ayuno no menor a 12 horas. Al ingresar la médica responsable le explicaba los procedimientos a los pacientes y luego de su comprensión, los mismos firmaban consentimiento informado, el cual fue aprobado por el Comité consultivo central de bioética de la Universidad Nacional de La Plata. Siendo condición de participación la firma del mismo. Tanto el consentimiento informado como el protocolo utilizado se encuentran en el ANEXO I Y II, respectivamente. Al mismo tiempo, la médica realizaba la encuestas de salud y condiciones socio-económicas.

Posteriormente se realizaba la toma de la muestra sanguínea, a cargo de la bioquímica responsable del PLSL, y seguidamente, se le extraía una muestra de lágrima.

Inmediatamente después se le realizarán las pruebas respiratorias y las diferentes determinaciones oculares.

Finalmente, en los 15 días posteriores al estudio, los responsables del trabajo pasarán por su domicilio o lugar laboral y se les entregaban los resultados obtenidos en los diferentes análisis. Y en el caso de ser necesario se los derivaba al profesional correspondiente.

Tanto el formato de encuesta como el de la historia clínica utilizada se puede ver en el ANEXO III y IV, respectivamente.

d) Presencia de enfermedades crónicas y oncológicas);
e) Hábitos (hábitos nutricionales, tóxicos) y medicamentos. En las encuestas realizadas a mujeres, además de los ítems anteriores se agregaron preguntas sobre el estado gestacional actual, cantidad de gestaciones y partos. Además, con los datos personales de peso y altura se calculó el índice de masa corporal (IMC). $IMC = \text{masa} / \text{estatura}^2$, siendo la unidad de medida el SI (kg/m^2).

4.3.2. Espirometrías

Con el objeto de evaluar la función respiratoria de los voluntarios, se realizaron estudios de función pulmonar en la población de la región, mediante ensayos tales como la medición de FVC: capacidad vital forzada; FEV1: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; y de la relación FEV1/FVC.

Se utilizó la prueba espirométrica, utilizando un espirómetro portátil calibrado, según las recomendaciones internacionales (Wichmann et al., 2009).

4.3.3. Análisis sanguíneo

Con la premisa de determinar parámetros sanguíneos, como ser el hemograma y su fórmula leucocitaria, se realizó la extracción de 10 ml de sangre en los voluntarios de ambas zonas por medio de la técnica de punción venosa empleando material estéril. Los pacientes tuvieron 12 hs de ayuno. A las muestras se las anticoaguló con EDTA, para la determinación del hemograma. Para ello se utilizó un autoanalizador Metrolab CM 250, Argentina.

4.4. Análisis del segmento externo

4.4.1. Evaluación de las estructuras del segmento externo

Para la evaluación del segmento exterior se realizaron diferentes pruebas que pueden emplear o no biomicroscopio o lámpara de hendidura (LH), con un sistema de imágenes adaptado (cámara digital Canon mod. Eos revel T3i réflex).

Las imágenes se obtuvieron con un aumento y tipo de luz correspondiente a la técnica utilizada para cada visualización. Las cuales están destinadas a valorar diferentes aspectos.

El biomicroscopio o lámpara de hendidura es un instrumento inventado por Gullstrand, lo que le otorgó el premio nobel (Ravin, 1999). Este equipo consiste en tres partes principales:

- El brazo óptico que alberga los oculares y los elementos de magnificación.
- El brazo de iluminación que contiene la fuente de iluminación y sus controles.
- El marco de posicionamiento del paciente.

Estas partes están conectadas a una base que tiene un comando que el examinador usa para mover el brazo óptico y el de iluminación. La movilidad de ambas partes le permite al observador realizar diferentes técnicas de iluminación para visualizar las diferentes estructuras, y poder determinar en algunos casos anomalías de las mismas (Kercheval y Terry, 1977).

En el ANEXO V se detallan todas las técnicas de iluminación posibles con una descripción detallada de la misma, con su ángulo de iluminación y su magnificación correspondiente, así como también que nos posibilita examinar.

Tanto el orden de las diferentes observaciones en el segmento ocular como los protocolos utilizados para cada observación se detallan en el ANEXO VI.

4.4.1.1. Valoración sin colorantes de la conjuntiva y los párpados

Se valoró la hiperemia conjuntival bulbar, tarsal y limbal con iluminación difusa, intensidad media, ángulo de 30° y con un aumento 10X en biomicroscopio. Las mismas se valoraron según escala de Cornea and Contact Lens Research Unit (CCLRU) (Terry et al., 1993).

Con el mismo tipo de iluminación se valoró el párpado para poder diferenciar la blefaritis presente a la cual se la cuantificó según la escala de Efron (2000).

4.4.1.2. Valoración con colorantes de la cornea y conjuntival

4.4.1.2.1. **Con fluoresceína.** Se utilizaron tiras de 1 µg de fluoresceína sódica (Hub Pharmaceuticals, CA 91730, USA) humedecidas con solución

fisiológica y se observó la tinción con luz cobalto y filtro amarillo 12 de Kodak Wratten en LH (Nichols et al., 2004). Este colorante permite visualizar la tinción conjuntival y corneal, debido a que la fluoresceína penetra en los espacios intercelulares donde células epiteliales están dañadas, perdidas o desplazadas.

Se utilizó la escala CCLRU, en donde se divide a la córnea en 5 partes y se contempla el tipo, la profundidad y la extensión de la tinción corneal, así como también se valora la tinción conjuntival (Terry et al., 1993).

Además este colorante permite también visualizar los pliegues conjuntivales paralelos al párpado (LIPCOF, por su abreviación en inglés) (Höh et al., 1995). Estos son pliegues conjuntivales que se disponen de manera horizontal en la zona de transición del centro hacia el tercio temporal del párpado inferior. Los grados están de acuerdo con el tamaño y número de pliegues conjuntivales en comparación con la altura normal del menisco, y han sido clasificados por Höh (1995).

4.4.1.2.2. **Con verde de lisamina.** Se utilizaron tiras de 1,5 mg de verde de lisamina (Hub Pharmacerticals, CA 91730, USA), humedecidas con solución fisiológica y se observó la tinción con luz blanca en el biomicroscopio con intensidad de iluminación media y una magnificación entre 10X a 16X. Este colorante tiñe las células degeneradas o muertas y los filamentos de moco presentes en la película lagrimal. Se utilizó la escala de Norn (1973).

4.4.2. Evaluación de la película lagrimal

4.4.2.1. Valoración de la cantidad lagrimal

4.4.2.1.1. **Test de Schirmer I.** Determina la cantidad de fracción acuosa lagrimal, tanto la basal como la refleja presente en el paciente. Esta prueba utiliza con tiras de papel filtro Whatman N° 41, de 35 mm de largo y 5 mm de ancho, previamente rotuladas (Hub Pharmacerticals, CA 91730, USA) las cuales se doblan en el extremo redondeado y se colocan en el saco conjuntival inferior, sin anestesia tópica por el periodo de 5 minutos y se valora según humedecimiento de la tira. (Van Bijsterveld, 1969). Valores menores 10mm en /5 min son

considerados como una hiposecreción de la película lagrimal, más específicamente de la secreción acuosa (Vitali et al., 1994).



Figura 3. Imagen de la técnica de Schirmer I. Obtenida con una cámara digital Canon mod. Eos revel T3i réflex.

4.4.2.1.2. **Menisco Lagrimal.** Se determinó la altura central del menisco lagrimal en relación al borde libre del párpado inferior, así como también el perfil del mismo con biomicroscopio. Alturas menores a 0,35 mm indican una cantidad reducida de fluido lagrimal y era una indicación de ojo seco (Mainstone et al., 1996). Además un menisco uniforme es indicativo de un ojo sano mientras que uno ondulado o discontinuo da indicio de un ojo seco.

4.4.2.2. Evaluación de la estabilidad

4.4.2.2.1. **Tiempo de ruptura lagrimal (BUT en inglés).** Es el intervalo de tiempo entre el último parpadeo y la aparición de la primera zona seca distribuida al azar. Esta prueba fisiológica simple sirve para evaluar la estabilidad de la película lagrimal precorneal de manera cualitativa. Esta prueba puede utilizarse con o sin la instilación de fluoresceína denominándose BUT o BUTIN. En nuestro caso determinamos el BUTIN con tiras de 1 µg de fluoresceína sódica humedecidas con solución fisiológica (Hub Pharmacerticals, CA 91730, USA) y se observó con biomicroscopio, luz cobalto y un aumento de 10X (DEWS, 2007; Vitali et al., 1994). La medida toma el valor luego de promediar tres determinaciones. Los valores mayores a 10s son considerados normales, valores menores se consideran pudiendo ocurrir esta situación en pacientes con deficiencia de mucina o lípidos en los ojos (Vitali et al., 1994).

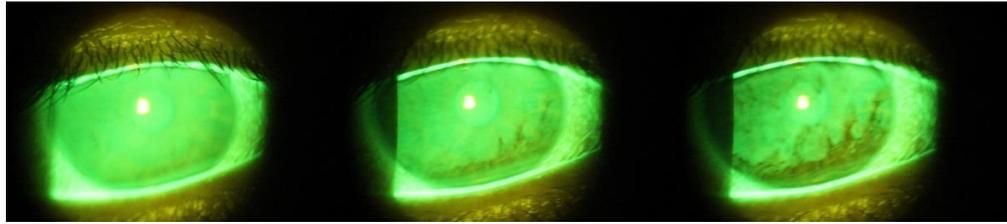


Figura 4. Secuencia en imágenes del rompimiento lagrimal, obtenidas por el sistema de imágenes con luz cobalto y filtro amarillo 12 de Kodak Wratten.

4.4.2.3. Evaluación de la capa lipídica

4.4.2.3.1. Disfunción de las glándulas de meibomio (DGM). Se observó a través de la expresión digital con biomicroscopio (Bron et al., 1991). Este examen valora el tipo de secreción de estas glándulas, siendo una secreción transparente característica de un ojo sano, mientras que una secreción cerosa con o sin bloqueo total de la glándula predominante en los casos de disfunción grave. Se valoró según (Efron, 2000).

4.4.2.3.2. Patrones lipídicos. Se conoce de esta manera a las distintas imágenes interferométricas obtenidas con la técnica de reflexión especular con un paralelepípedo medio enfocando en capa lagrimal, aumento de 25X e intensidad alta con biomicroscopio (Yokoi et al., 1996). Se determinan de manera cualitativa el espesor de la capa lipídica de la lágrima, según (Guillon, 1998, 1982) dependiendo del espesor que posea la capa lipídica es el color será la forma resultante del patrón lagrimal.

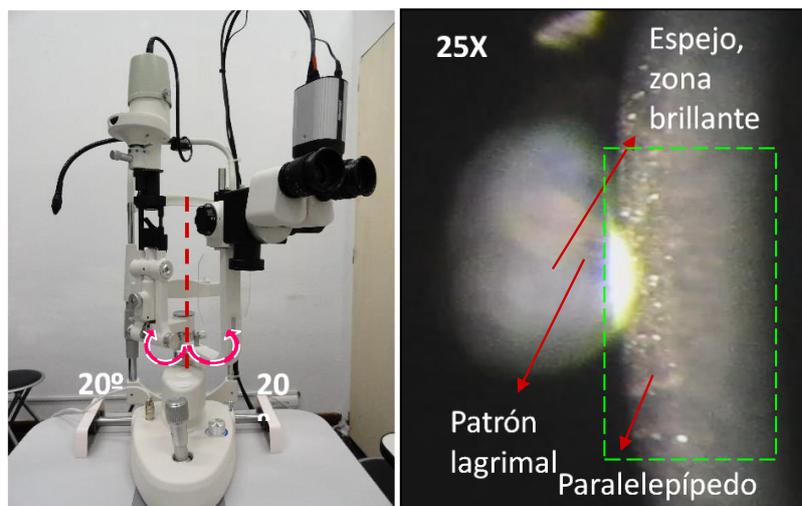


Figura 5. Imagen de la lámpara de hendidura posicionada para la observación del patrón. Imagen de la derecha observación del patrón con la técnica de reflexión especular, obtenidas de (Faccia, 2014).

4.5 Ojo seco

Con el objeto de valorar la incidencia del ojo seco en las dos zonas de estudio se realizaron diferentes encuestas y pruebas clínicas, que permitieran valorar este tipo de alteración ocular.

4.5.1 A través de cuestionarios (Subjetivo)

Se les pidió a los voluntarios que realizaran dos cuestionarios para detectar la condición de ojo seco de manera subjetiva. Estos fueron el Ocular Surface Disease Index (OSDI) (Schiffman et al., 2000) y el McMonnies (mm) (McMonnies et al., 1998; McMonnies, 1986). Ambos cuestionarios contienen preguntas sobre la función visual, síntomas oculares y estímulos ambientales. Las respuestas fueron valoradas según la bibliografía antes mencionada y se consideraron las respuestas del OSDI con valores ≥ 12 como sospecha de ojo seco mientras que valores ≥ 10 de la encuesta MM como posibilidad de ojo seco (DEWS, 2007).

4.5.2 A través de la evaluación del segmento anterior (Objetivo)

Es importante destacar que, debido a la etiología del ojo seco, no existe una única prueba clínica que por sí sola sea suficiente para su diagnóstico. Es por ello que se tomaron dos criterios objetivos de evaluación:

El criterio 1 (CRT 1) considera a pacientes con ojo seco cuando Schirmer ≤ 10 mm/ 5 min y BUTIN < 10 s. Por su parte, el criterio 2 (CRT 2) tiene en cuenta el Schirmer, el BUTIN, el patrón lagrimal, la tinción conjuntival con fluoresceína y LIPCOF, y considera que teniendo al menos 3 de estas pruebas con valores fuera de rango normal, el paciente presenta ojo seco.

4.6 Extracción de muestras de lagrима

La extracción de las muestras de lágrimas se realizó en ambos ojos de un mismo paciente tal como se describe en la prueba de Schirmer I (Gil del Río, 1981). Si bien la prueba tiene otra finalidad, que ya fue mencionada en la parte de

valoración de la película lagrimal, se la ha reconocido como una manera útil y en algunos casos muy eficaz para la extracción de muestra de lágrimas (Lam et al., 2014).

Seguidamente se colocaron las tiras conteniendo las muestras de lágrima en tubos ependorff. Se agregaron 100 µl de solución fisiológica estéril en cada tubo con el fin de extraer la muestra embebida en la tira y se centrifugó a 10000 rpm por 5 min (Legend Micro 17/17b centrifuge, Thermo scientific). Las muestras extraídas se colocaron en tubos ependorff limpios y se almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

4.7 Análisis de las muestras

Con el fin de indagar sobre la composición de la película lagrimal posterior a su extracción, se realizaron diferentes determinaciones con el objetivo de valorar su composición proteínica y lipídica, la cual se detalla a continuación.

4.7.1 Composición proteínica de la lagrime

Se llevó a cabo la determinación de proteínas totales por el método de Bradford (Bradford, 1976) en las muestras de ojo derecho (OD) y al ojo izquierdo (OI) de cada uno de los pacientes que participaron del estudio.

Bradford es un método colorimétrico utilizado para determinar la concentración de proteínas en una muestra, a través de una curva de absorbancia vs concentración de proteínas.

Para ellos se utiliza un colorante Coomassie blue G-250, el cual se adhiere a las proteínas, más específicamente a los enlaces peptídicos, lo cual genera una solución colorida la cual tendrá una Absorción determinada por la concentración de proteína que se encuentre en esa muestra.

Cuando uno quiere cuantificar la cantidad de proteínas presentes en una muestra determinada, lo que se hace es una curva estándar con seroalbúmina bovina (BSA) a diferentes concentraciones. Luego esta se gráfica y nos servirá para determinar la concentración de la proteína en nuestra muestra.

Se realizan las medidas por duplicado y se obtiene una media, la cual se graficará vs la concentración.

Sobre estas muestras se realizó la caracterización de las distintas proteínas presentes en lágrima mediante electroforesis en minigeles de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) en gradiente 10 -20%, siguiendo la técnica de Laemmli (Laemmli, 1970).

Como referencia, se utilizó un marcador de proteínas de bajo peso molecular que contiene miosina 212 kDa, b- galactosa, seroalbúmina bobina, ovoalbúmina, anhidrasa carbónica, inhibidor tripsina, lisozima y aprotinina (6.5, 14, 20, 29, 45, 66, 118,) denominado Protein Marker III de Applichem.

Previo a la siembra, las muestras fueron tratadas en una relación 1:2, con buffer Tris-HCl (0.5 M, pH 6.8) con beta-mercaptoetanol 5% (tratamiento reductor) y sometidas a un tratamiento térmico a 95 °C por 5 minutos. En todos los casos, la proteína total aplicada en cada calle fue de 3 µg. El tiempo de corrida para cada gel fue de 2 Hs.

Después de la electroforesis el gel fue tenido con una solución de Coomassie Blue G-250 al 2%.

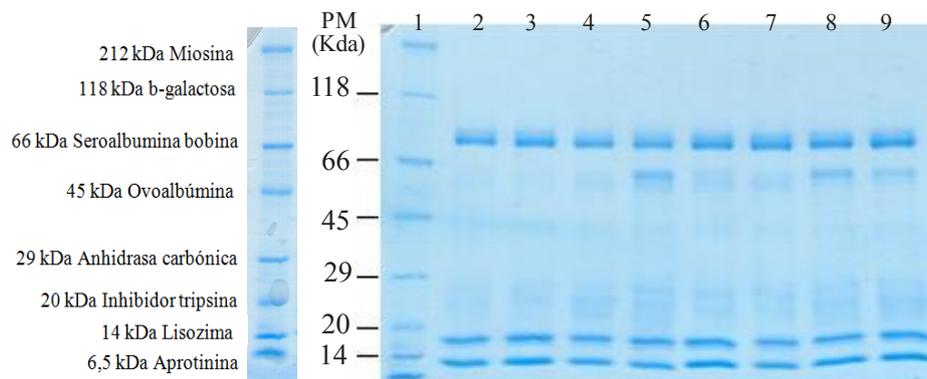


Figura 6. Imagen del patrón de peso molecular utilizado (Protein Marker III de Applichem) y de un gel posterior a su corrida y tinción.

4.7.1.1 Análisis de imágenes

Las imágenes de los minigeles se procesaron con el software de acceso libre ImageJ (versión 1.38). El mismo se utiliza para el procesamiento de diferentes imágenes científicas multidimensionales, con muchos plugins y macros para realizar una amplia variedad de tareas. En nuestro caso lo utilizamos para estimar las concentraciones relativas de las diferentes proteínas, según el protocolo que se encuentra en el ANEXO 7.

4.7.2 Análisis de la Composición lipídica de la lagrima

Los ácidos grasos presentes en el fluido lagrimal se determinaron mediante cromatografía gaseosa acoplado a un espectrómetro de masas (CGMS Clarus SQ 8S), previa derivatización a sus esteres metílicos (FAMES).

La derivatización se realizó siguiendo el protocolo descrito por Ichihara (2010), según el cual se toma 100 μL de las muestras de lagrima extraídas primeramente, y se le agrega 130 μL de Tolueno, 200 μL de HCl/Metanol 8%P/V y 1.0 mL de metanol, en un tubo de vidrio y se lo calienta durante 1 hora a 100°C. Luego de enfriarse a temperatura ambiente se le agrega 1 mL de agua destilada (H_2O_d) y 1 mL de hexano para extraer los FAMES.



Figura 7. Imágenes del proceso de derivatización, en donde se visualiza a la izquierda el calentamiento de las muestras y a la derecha, dos tubos: el primero como queda post calentamiento y el segundo habiéndole adicionado H_2O_d y hexano.

Dicho extracto se analizó por CGMS, modo SIM, utilizando columna DB-23 (30m x 0.250mm x 0.25 μm), He como carrier (1.5 mL min^{-1}), inyección modo Split (270°C, ratio 50:1) y rampa de temperatura 130°C 1min, 6.5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta 170°C, 2.75 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta 215°C, 40 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta 230°C 3 min. Los ácidos grasos analizados se muestran en la tabla 1.

FAMES		t_R (min)
Caproico	C_6	2,02
Caprilico	C_8	2,76
Caprico	C_{10}	4,31
Undecanoico	C_{11}	5,46
Laurico	C_{12}	6,79
Tridecanoico	C_{13}	8,25
Mirístico	C_{14}	9,78
Miristoleico	$C_{14:1}$	10,39
Pentadecanoico	C_{15}	11,32
cis-10-Pentadecanoico	$C_{15:1}$	11,95
Palmitico	C_{16}	12,88
Palmitoneico	$C_{16:1}$	13,31

Heptadecanoico	C ₁₇	14,36
cis-10-Heptadecanoico	C _{17:1}	14,81
Estearico	C ₁₈	15,83
Elaidico	C _{18:1t}	16,03
Oleico	C _{18:1c}	16,18
Linolelaidico	C _{18:2t}	16,53
Linoleico	C _{18:2c}	16,85
γ-Linolenico	γ-C _{18:3}	17,24
Linolenico	C _{18:3}	17,72
Araquidico	C ₂₀	18,58
cis-11-Eicosenoico	C _{20:1}	18,92
cis-11,14-Eicosodienoico	C _{20:2}	19,6
metil-cis-8,11,14-eicosatrienoico	C _{21:3}	19,89
Heneicosaoico	C ₂₁	19,98
Araquidonico	C _{20:4}	20,21
cis-11,14,17-Eicosatrienoico	C _{20:3}	20,42
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico	C _{20:5}	21,03
Behenico	C ₂₂	21,15
Erucico	C _{22:1}	21,48
cis-13,16-Docosadienoico	C _{22:2}	22,14
Tricosanoico	C ₂₃	22,34
Lignocerico	C ₂₄	23,53
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexanoico	C _{22:6}	23,81
Nervonico	C _{24:1}	23,87

Tabla 1. Diferentes picos de los esteres metílicos de los ácidos grasos (FAMES) y sus respectivos tiempos de retención en la columna.

Capítulo 5

Resultados de la zona y la población

5.1. Calidad del aire

Los resultados de los diferentes monitoreos del MP, en las zonas seleccionadas, se resumen en la tabla 1:

	<i>n</i>	<i>I</i>	<i>n</i>	<i>U</i>
MP_{2.5} [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	13	17,1 (8,4)*	7	10,5 (3,6)*
MP₁₀ [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	5	41,4 (16,4)	5	28,2 (9,5)

Tabla 1. Datos del MP de ambas zonas de estudio, expresados en la media anual del periodo 2013-2014. Los resultados se expresan como la media (DE). El asterisco denota diferencias significativas ($p < 0,05$) en MP_{2.5} entre las poblaciones I y U.

Los resultados expresados en la tabla 1, corresponden a la media obtenida a partir de mediciones discretas a lo largo de los dos años correspondientes al período de este estudio.

Los valores obtenidos de MP_{2,5} y MP₁₀ presentaron valores superiores en la zona I, mientras que los de MP_{2,5} son significativamente diferente entre las dos poblaciones ($p < 0,05$) cuando se los analiza con el estadístico Mann-Whitney.

5.2. Zona de estudio y características de la población

	<i>N</i>	<i>Edad (años)</i>	<i>Peso (Kg)</i>	<i>altura (m)</i>	<i>IMC (Kg/m²)</i>
I	34	34 (13)	79.76 (15.13)*	1.7 (0.2)	27.85 (4.96)**
U	44	29 (6)	66.48 (12.95)*	1.7 (0.1)	23.5 (3.66)**
Total	78				

Tabla 2. Datos de las poblaciones de estudio. Los resultados se expresan como la media (DE). Se encontraron diferencias significativas (*) y muy significativas (**) en el peso y el IMC, respectivamente, entre ambas poblaciones.

Las poblaciones en estudio no tienen diferencias significativas en cuanto edad, sexo y altura. Sin embargo ambas zonas presentan diferencias estadísticamente significativas en cuanto al peso e índice de masa corporal (IMC), ($p < 0,05$ y $p < 0,001$ respectivamente), ambos analizados con el estadístico Mann-Whitney. La diferencias encontradas se visualizan con mayor facilidad con el IMC.

5.3. Encuesta de salud y de condiciones socio-económicas

5.3.1. Características y servicios con los que cuenta la vivienda actual al momento del estudio.

Se realizaron diferentes preguntas, con el objeto de determinar distintas características habitacionales de los voluntarios, en base al tipo de vivienda, material del piso, característica del baño y servicios que cuenta, como ser: de agua, desagüe, luz y calefacción. No se indagó sobre el material de sus calles ya que ambas zonas presentan asfalto. Los resultados se muestran en la tabla siguiente:

	<i>I (%)</i>	<i>U (%)</i>
TIPO DE VIVIENDA		
<i>Casa</i>	94,1	36,4
<i>Departamento</i>	2,9	63,6
<i>Casilla</i>	2,9	0
MATERIAL PISO		
<i>Mosaico</i>	61,8	70,5
<i>Cerámica</i>	5,9	
<i>Cemento</i>	20,6	
<i>Mosaico y cemento</i>	11,8	
<i>Alfombra</i>		2,3

	<i>Baldosa plástica</i>		4,5
	<i>Madera</i>		4,5
	<i>Mosaico y alfombra</i>		18,2
BAÑO			
	<i>Con botón de arrastre de agua</i>	88,2	100
	<i>Sin botón de arrastre de agua</i>	8,8	
	<i>Sin inodoro</i>	2,9	
SERVICIO DE AGUA			
	<i>Agua corriente</i>	100	100
DESAGUE INODORO			
	<i>A la red pública</i>	50	97,7
	<i>Cámara séptica y pozo</i>	8,8	
	<i>Pozo ciego</i>	41,2	2,3
SERVICIO DE LUZ			
	<i>Con medidor particular</i>	85,3	97,7
	<i>Con medidor compartido</i>	14,7	
	<i>Sin medidor</i>		2,3
CALEFACCIÓN			
	<i>Eléctrica</i>	50,0	6,8
	<i>Gas</i>	35,3	81,8
	<i>No tiene</i>	8,8	
	<i>Eléctrica y gas</i>	2,9	6,8
	<i>Eléctrica, gas y leña</i>	2,9	
	<i>Centralizada</i>		2,3

Tabla 3. Porcentajes de las diferentes características con la que cuenta las viviendas de los voluntarios de las dos zonas.

De la tabla se desprende que la zona I presenta mayoritariamente casa con pisos de masaico y cemento, y baño con y sin boton de arrastre. En cuanto a los servicios se puede observar que tanto el agua y la luz son servicios que posee la zona, no obstante la conexión al desague es un servicio que no ha llegado a todos los barrios de Ensenada, dando a lugar a tener un 50% conectado a la red pública y el otro 50% que todavía tiene pozo ciego.

Además, como característica adicional, esta zona fue la única en la que se reportó no contar con inodoro (2,9%).

En cuanto a la calefacción la mayoría lo hace de manera electrica o a gas, y una pequena proporción utiliza como otra alternativa la calefacción a leña. Aunque tambien esta zona presentó un 8,8 % de casos que no poseen calefacción.

En cambio la zona U, reportó vivir mayoritariamente en departamentos con pisos de mosaicos y alfombra, y baño con botón de arrastre. En cuanto a los

servicios, casi el 100% presentaba agua, luz, desagüe y gas, lo cual se visualiza en los tipos de calefacción. Solo un 2,3 % estaba conectado a pozo ciego y no poseía luz.

5.3.2. Antecedentes de salud

Se valoraron los antecedentes de salud con el objeto de comprobar si se mantienen los resultados reportados por (Cianni et al., 2009; Wichmann et al., 2009), en donde la zona I presenta mayores efectos respiratorios.

En el gráfico siguiente se presentan los resultados obtenidos de los diferentes antecedentes de salud.

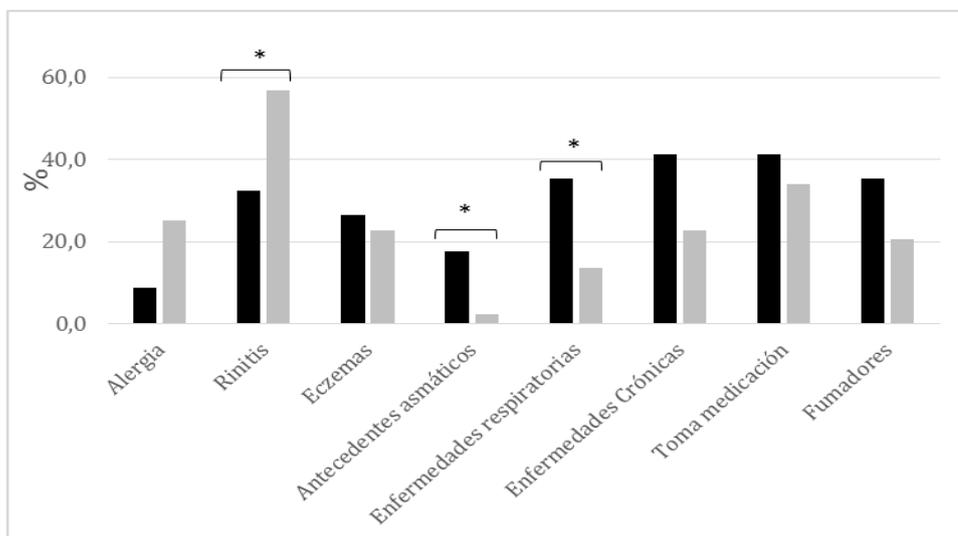


Figura 1. Frecuencias relativas porcentuales de pacientes que respondieron afirmativamente la encuesta en los ítems que se indican debajo. Con gris se presentan las frecuencias correspondientes a la población U mientras que con negro se muestran las de la población I. Los asteriscos denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) en las respuestas obtenidas entre ambas poblaciones acorde al método de tabla de contingencia χ^2 .

En esta figura se observan los resultados de la encuesta de salud realizada a los participantes del estudio. Se aprecia diferencias significativas en el número de paciente que presentaban rinitis, antecedentes asmáticos y enfermedades respiratorias. Siendo la frecuencia de estas dos últimas mayores en la zona industrial. Es importante marcar que apesar de que no existen diferencias estadísticamente comprobables en las otras preguntas realizadas, la población industrial presenta una tendencia mayor de casos positivos en todas las consultas realizadas exepctuando el diagnóstico de alergias y rinitis. En este sentido

Pasaremos a detallar los resultados que presentaron diferencias estadísticamente significativas.

5.3.2.1. Rinitis

De los voluntarios que presentaron rinitis 32,4% y 56,8%, de la zona I y U respectivamente, se consultó sobre la frecuencia de aparición y la época del año en la que presentaban rinitis. En la figura 2 y 3 se presentan los resultados:

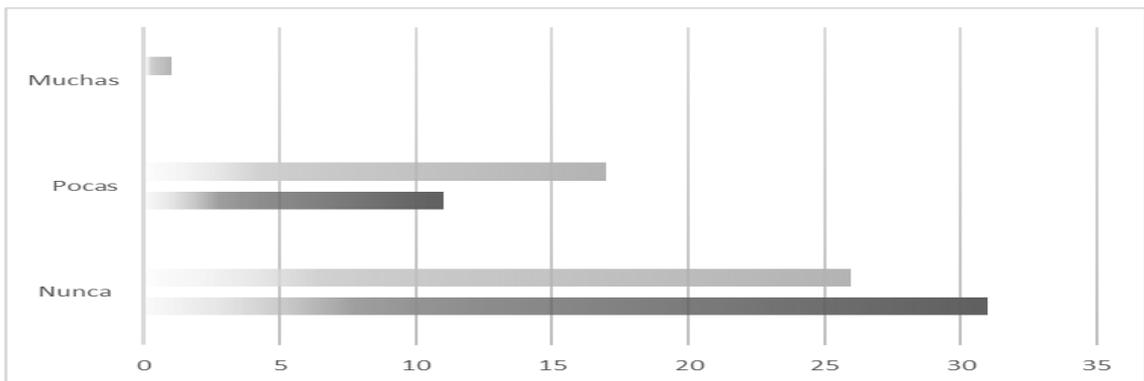


Figura 2. Frecuencia en la que los voluntarios padecen rinitis, expresados en frecuencias de la población I (gris oscuro) y la población U (gris claro).

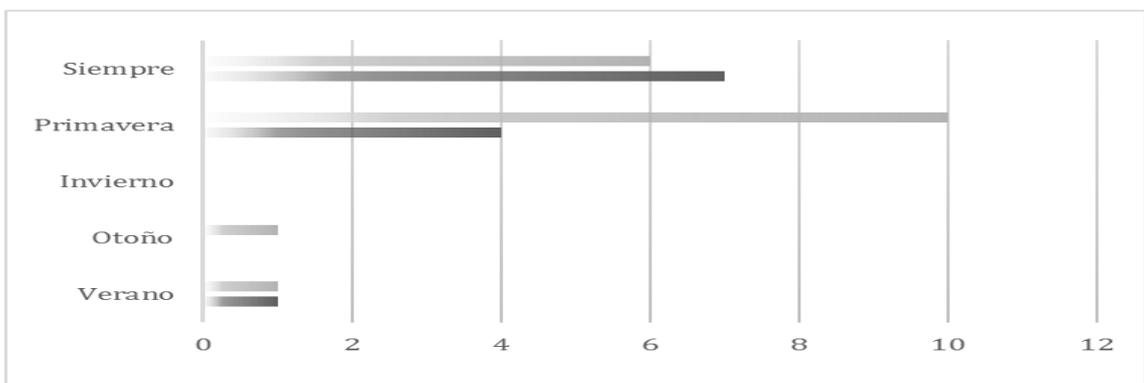


Figura 3. Respuestas de los voluntarios frente a la consulta por la época del año en la que padecen rinitis, expresados en frecuencias de la población I (gris oscuro) y la población U (gris claro).

De la figura 2 se desprende que frecuencia de padecimiento de la rinitis, en la mayoría está ausente y de los casos que reportaron rinitis, la frecuencia en general es poca. Esto se asocia a la información obtenida de la figura 3, donde se vio que las estaciones en las cuales ocurre predominantemente los hechos de rinitis en durante la primavera, asociándolo a una rinitis vernal o alérgica, frente

a 6 y 7 casos correspondientes a la zona U e I respectivamente, lo cuales padecen la rinitis durante todo el año.

5.3.2.2. Enfermedades Respiratorias y antecedentes asmáticos

Como se muestra en la figura 1, los antecedentes de enfermedades respiratorias (35,3% I y 13,6% U), mostraron diferencias significativas entre las zonas de estudio.

La distribución de las diferentes enfermedades respiratorias, se presenta en la figura siguiente:

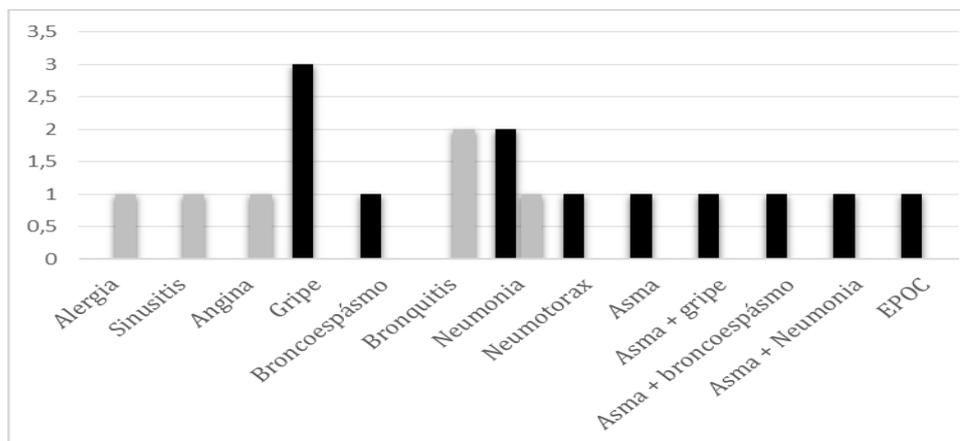


Figura 4. Tipo de enfermedades respiratorias presentes en las dos zonas, expresados frecuencias de la población I (negro) y la población U (gris).

Como se puede apreciar, las frecuencias de enfermedades reportadas para cada zona, presenta primeramente diferencias en cuanto al padecimiento del asma (17,6% para el I y 2,3 para el U), las cuales son estadísticamente significativas. Además los grados de severidad de las enfermedades presentadas varía entre las zonas, en la zona I existen mayores casos de enfermedades respiratorias que además se consideran crónicas como el asma y EPOC. Mientras que la zona U presenta predominantemente casos de alergia, sinusitis, angina, bronquitis y neumonía, las cuales son consideradas episódicas.

5.4 Espirometrías

Además se determinaron los diferentes parámetros espirométricos, con el objeto de evaluar la función respiratoria de los voluntarios, los cuales se presentan a continuación:

	<i>I</i>	<i>U</i>
FVC	3,86 (0,96)	4,03 (1,03)
FEV1	3,34 (0,83)	3,49 (0,89)
FEV1/FVC %	87,08 (8,41)	86,75 (7,62)

Tabla 4. Datos espirométricos de las dos zonas. FVC (Capacidad vital forzada); FEV1 (Volumen forzado expirado en el primer segundo) y la relación FEV1/FVC. Zona I n=32 y zona U n=36. Los resultados son expresados como la media (DE).

De la tabla 4 se desprende que los valores son muy similares en las zonas de estudio, por lo que no hubo diferencias significativas.

5.5 Análisis sanguíneos

A los participantes del estudio también se les realizaron pruebas bioquímicas tendientes a determinar parámetros del hemograma y de su fórmula leucocitaria, que nos permitirán reforzar los resultados obtenidos a nivel ocular, principalmente los de la fórmula leucocitaria por su estrecho vínculo con la respuesta inflamatoria. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

	<i>I</i>	<i>U</i>	<i>p</i>
TSH	2,47 (1,6)	2,08 (1,18)	
Glucosa (mg/dl)	99,79 (11,35)	91,34 (6,5)	p<0,001
Urea (mg/dl)	36,75 (8,5)	39,41 (9,38)	
Creatinina (mg/dl)	0,96 (0,14)	1,04 (0,13)	p<0,05
Colesterol (mg/dl)	177,38 (31,82)	177,36 (28,46)	
GOT	22,18 (9,39)	17,73 (4,86)	p<0,05
GTP	30,5 (26,65)	18,32 (9,33)	p<0,05
Fosfatasa Alcalina	221,03 (80,81)	169,32 (52,85)	p<0,01
Proteína total (g/dl)	7,64 (0,4)	7,44 (0,3)	p<0,05
Albumina (g/dl)	4,43 (0,18)	4,43 (0,2)	

Tabla 5. Datos de los diferentes parámetros medidas en sangre de ambas poblaciones de estudio. GPT (transaminasa glutamicopirúvica) y GOT (transaminasa glutámico-oxalacética). Los resultados se expresan como la media (DE). Se encontraron diferencias significativas en las variables resaltadas en negrita cuando se realizó el test de Mann-Whitney.

De esta tabla se observa que la mayoría de los parámetros valorados presenta diferencias significativas con el estadístico de Mann-Whitney.

En la valoración de la fórmula leucocitaria se observó:

	<i>I</i> ($10^3/mm^3$)	<i>U</i> ($10^3/mm^3$)	<i>p</i>
Neutrófilos	4,49 (1,36)	3,51 (1,21)	<i>p</i><0,01
Linfocitos	2,43 (0,61)	2,20 (0,48)	<i>p</i><0,05
Monocitos	0,63 (0,19)	0,61 (0,18)	
Eosinófilos	0,25 (0,18)	0,23 (0,19)	
Basófilos	0,038 (0,02)	0,03 (0,012)	
Leucocitos	7,84 (1,65)	6,59 (1,41)	<i>p</i><0,001

Tabla 6. Parámetros de la fórmula leucocitaria de ambas poblaciones de estudio. Los resultados se expresan como la media (DE). Se encontraron diferencias significativas en las variables resaltadas en negrita cuando se realizó el test de Mann-Whitney, entre ambas poblaciones.

Por otra parte, si evaluamos los resultados presentados en la tabla anterior frente a los valores normales de estos parámetros, nos da como resultado la gráfica siguiente:

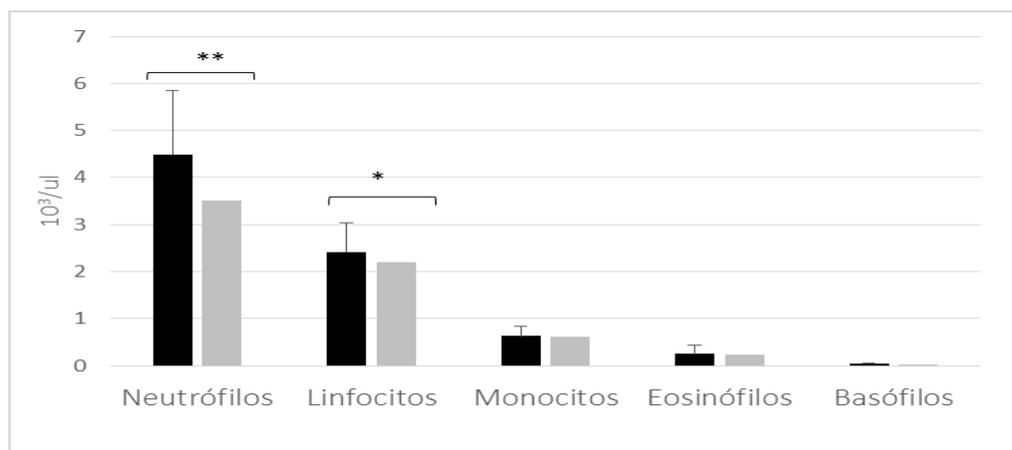


Figura 5. Valores de los distintos parámetros del hemograma. Se indican valores de la zona I (negro) y los de la zona U (gris). Los datos con * son estadísticamente significativos (** $p < 0,01$, * $p < 0,05$).

En la figura 5 se observa los distintos parámetros de la fórmula leucocitaria, en donde se expresan los valores de la media y su desviación estándar de los diferentes parámetros, los cuales fueron expresados en la tabla 4. Considerando valores normales para los Neutrófilos ($3-5,4 \times 10^3/\mu l$); Linfocitos ($1-3 \times 10^3/\mu l$); Monocitos ($0-0,8 \times 10^3/\mu l$); Eosinófilos: ($0,02-0,35 \times 10^3/\mu l$) y Basófilos ($0-0,15 \times 10^3/\mu l$). Se puede observar que los neutrófilos y los linfocitos se encuentran aumentados en la zona I con respecto a la U, superando los valores normales, lo cual representa además una diferencia significativa desde el punto

de vista estadístico entre las poblaciones. Así mismo se observa que el resto de los parámetros se encuentran dentro de los parámetros de normalidad y no poseen diferencias significativas.

Capítulo 6

Resultados oculares

6.1 Análisis del segmento anterior

En la siguiente tabla se muestran las comparaciones Paramétricas (t de student); se muestran en negrita las variables que presentaron diferencias significativas ($p_{\text{valor}} < 0,05$) entre los grupos U e I.

La tabla presenta un orden de presentación de los resultados de las diferentes variables estudiadas, agrupados según temática o estructura a analizar, dentro de las cuales se diferencian los cuestionarios oculares, superficie ocular y película lagrimal.

TIPO	Variables						Zona Industrial						Zona Urbana					
		n	μ	m	DE	n	μ	m	DE	n	μ	m	DE	n	μ	m	DE	p-valor
Cuestionarios	OSDI	34	8,88	4,16	11,80	44	7,19	4,16	8,68	44	7,19	4,16	8,68	44	7,19	4,16	8,68	0,3046
	MM	34	7,56	6,50	5,71	44	7,20	6,00	4,81	44	7,20	6,00	4,81	44	7,20	6,00	4,81	0,6749
S/colorantes	Hip. Bulbar (grado)*	66	2,79	3,00	0,60	88	2,40	2,00	0,62	88	2,40	2,00	0,62	88	2,40	2,00	0,62	0,0001
	Hip. Tarsal (grado)*	66	2,47	2,00	0,50	88	2,15	2,00	0,63	88	2,15	2,00	0,63	88	2,15	2,00	0,63	0,0009
	Hip. limbar (grado)	66	2,29	2,00	0,80	88	2,42	3,00	0,74	88	2,42	3,00	0,74	88	2,42	3,00	0,74	0,2889
	Blefaritis (grado)	66	0,58	0,00	0,96	88	0,36	0,00	0,83	88	0,36	0,00	0,83	88	0,36	0,00	0,83	0,1455
	Tipo corneal (grado)	66	0,26	0,00	0,69	88	0,35	0,00	0,76	88	0,35	0,00	0,76	88	0,35	0,00	0,76	0,426
Sup. Ocular	Profundidad (grado)	66	0,18	0,00	0,39	88	0,27	0,00	0,50	88	0,27	0,00	0,50	88	0,27	0,00	0,50	0,2203
	Fluoresceína Extensión (grado)	66	0,18	0,00	0,39	88	0,25	0,00	0,44	88	0,25	0,00	0,44	88	0,25	0,00	0,44	0,3159
	C/colorantes Conj. Fluor (grado)*	66	3,23	3,00	0,74	88	2,48	3,00	0,66	88	2,48	3,00	0,66	88	2,48	3,00	0,66	0
	LIPCOF (grado)	66	2,24	3,00	0,93	88	2,42	3,00	0,89	88	2,42	3,00	0,89	88	2,42	3,00	0,89	0,2309
	Verde de lisamina (grado)*	66	2,17	2,00	1,14	88	1,25	1,00	0,91	88	1,25	1,00	0,91	88	1,25	1,00	0,91	0
Cantidad	Schirmer I (mm)*	66	24,95	29,00	11,22	88	31,33	35,00	6,08	88	31,33	35,00	6,08	88	31,33	35,00	6,08	0
	Menisco (mm)*	66	0,26	0,20	0,09	88	0,29	0,30	0,10	88	0,29	0,30	0,10	88	0,29	0,30	0,10	0,0409
Estabilidad	BUTIN (seg)	66	5,65	4,33	3,48	88	6,40	5,00	4,21	88	6,40	5,00	4,21	88	6,40	5,00	4,21	0,2448
	DGM (grado)*	66	0,45	0,00	0,64	88	0,17	0,00	0,41	88	0,17	0,00	0,41	88	0,17	0,00	0,41	0,001

Tabla 1. Variables del segmento externo valoradas. Se detallan los valores del número de la muestra (n); la media (μ); la mediana (m) y la desviación estándar (DE), para cada zona de estudio. También se informa el p-valor según el T test de Student. Las variables que presentaron diferencias significativas entre las poblaciones (*) se presentan en negrita.

El tratamiento de los datos de las variables que se definen a través de grados, se obtuvo luego de la sumatoria total de los grados.

Para la agrupación superficie ocular fueron: Hip. Bulbar y tarsal y la tinción conjuntival con fluoresceína y tinción con verde de lisamina. Mientras que para la película lagrimal fueron: Schirmer I, menisco, DGM, menisco, los ácidos grasos y proteínas.

A continuación se profundizará sobre los resultados que presentaron diferencias significativas entre la zona I y U, por el t de Student. Se presentará los mismos agrupados en las categorías definidas en la tabla 1.

6.1.1 Evaluación de la superficie ocular

La tabla 1, nos mostró diferencias entre las poblaciones estudiadas en las variables correspondientes a esta categoría, siendo la Hip. Bulbar y tarsal y la tinción conjuntival con fluoresceína y tinción con verde de lisamina, cuando fueron analizadas por t de Student.

A su vez como cada variable se podía clasificar en grados según las observaciones obtenidas, se les realizó un análisis cualitativo de su distribución de frecuencias, con el objeto de obtener el estadístico Chi Cuadrado Pearson.

Trataremos primero las variables que no presentan colorantes para su valoración y luego las que si lo hacen.

6.1.1.1 Valoración sin colorantes

Los resultados del análisis cualitativo de su distribución de frecuencias para las variables correspondientes a la categoría de superficie ocular sin colorantes, entre los grupos U e I. Los resultados de dichos análisis están resumidos en la siguiente tabla:

<i>Variable</i>	<i>Chi Cuadrado Pearson</i>	<i>p-valor</i>
<i>Hip. Bulbar (grado)</i>	1.099,46	<0,0001
<i>Hip. Tarsal (grado)</i>	918,69	<0,0001

Tabla 2. Resultado del análisis cualitativo de las variables, correspondientes a la superficie ocular sin colorantes. Se encontraron diferencias significativas en todas las categorías entre ambas poblaciones ($p < 0,0001$).

En la tabla 2 se ve que las dos variables estudiadas presentan diferencias significativas en cuanto a su distribución de frecuencias en los diferentes grados de clasificación según la escala utilizada para cada una de ellas.

Por su parte las hiperemias que se encontraron en ambas zonas, con la LH, fueron agrupadas según grados definidos en la escala CCLRU, los mismos se presentan en la tabla 3.

		I %	U%
Hiperemia Bulbar	<i>Grado 1</i>		4,6
	<i>Grado 2</i>	31,3	53,4
	<i>Grado 3</i>	62,5	39,8
	<i>Grado 4</i>	9,4	2,3
Hiperemia tarsal	<i>Grado 1</i>	-	13,6
	<i>Grado 2</i>	53,1	59,1
	<i>Grado 3</i>	48,4	28,4
	<i>Grado 4</i>	-	-

Tabla 3. Porcentajes de voluntarios que presentaron hiperemia bulbar y tarsal en ambas zonas de estudio, valoradas según la escala CCLRU.

De esta tabla se desprende que las hiperemias bulbares más frecuentes en la I, corresponde a los grados más altos (3 y 4) con un porcentaje de 71,9 %, mientras que la zona U presento un 42,1% para la misma clasificación. Presentando la zona I mayor porcentaje de casos con grado 4 (9,4% vs 2,3%), correspondientes a hiperemias severas.

Por otra parte, las hiperemias tarsales también se encuentran con grados más altos y en mayor proporción en la zona I que en la U (100 % contra 87,5%).

Viéndose que las Hip. Grado 3 fueron altamente superiores en la zona I (48,4% vs 28,4), correspondientes a una hiperemia moderada.

En las imágenes siguientes se pueden observar a modo de ejemplo, las diferentes variables determinadas. Las imágenes se obtuvieron con iluminación difusa, intensidad media, ángulo de 30° y con un aumento 10X en LH.

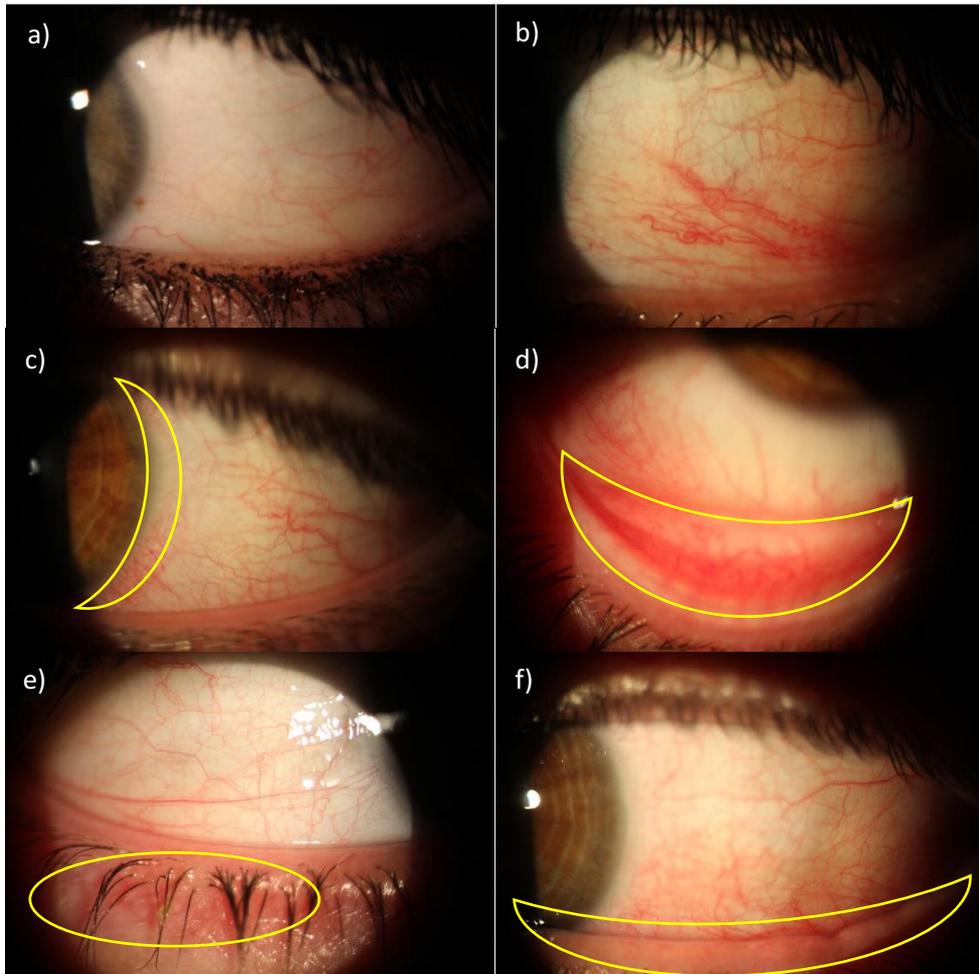


Figura 1. Imágenes de la valoración sin colorantes de la superficie ocular. a y b) Hip. Bulbar grado 1 y 3 respectivamente; c) Hip. limbal grado 4 y bulbar grado 2; d) Hip. Tarsal grado 2; e) blefaritis con secreción en forma de collarete y f) blefaritis posterior. Se marcan en amarillo las zonas de observación.

6.1.1.2 Valoración con colorantes

De la misma forma que se analizó la categoría superficie ocular sin colorantes, es que vamos a analizar con los colorantes utilizados. En la siguiente tabla se presenta el análisis estadístico:

<i>Variable</i>	<i>Chi Cuadrado Pearson</i>	<i>p-valor</i>
<i>Con fluoresceína</i>	45,88	<0,0001
<i>Verde lisamina (grado)</i>	30,89	<0,0001

Tabla 4. Resultado del análisis cualitativo de las variables, correspondientes a la superficie ocular con colorantes. Se encontraron diferencias significativas en las categorías entre ambas poblaciones ($p < 0,0001$).

En el caso de la tinción conjuntival con fluoresceína, se clasificaron según grados definidos en la escala CCLRU. Mientras que la tinción corneal y conjuntival

con verde de lisamina se determinó según la escala de Norn. Ambos resultados se presentan en la tabla 5.

		I %	U %
Tinción conjuntival	Grado 1	6	5
	Grado 2	9	36
	Grado 3	44	59
	Grado 4	41	0
Tinción con verde de lisamina	Grado 0	6	16
	Grado 1	32	36
	Grado 2	20,5	41
	Grado 3	23,5	5
	Grado 4	18	2

Tabla 5. Porcentajes de voluntarios que presentaron tinción conjuntival con fluoresceína y tinción con verde de lisamina en las dos zonas de estudio.

De la tabla 5 podemos ver que la tinción conjuntival con fluoresceína se vio en mayor porcentaje en la I con tinciones de grado 3 y 4 (85%) frente los valores encontrados en la zona U (59%). Sumado a esto, la población U no presenta casos de tinción grado 4, correspondientes a una tinción severa, mientras que la zona I si lo hace con un 41%.

A modo de ejemplo se muestran fotografías tomadas durante el desarrollo del estudio, con luz filtrada azul cobalto en LH. En los casos que fue necesario por la variable a valorar se utilizó filtro amarillo 12 de Kodak Wratten.

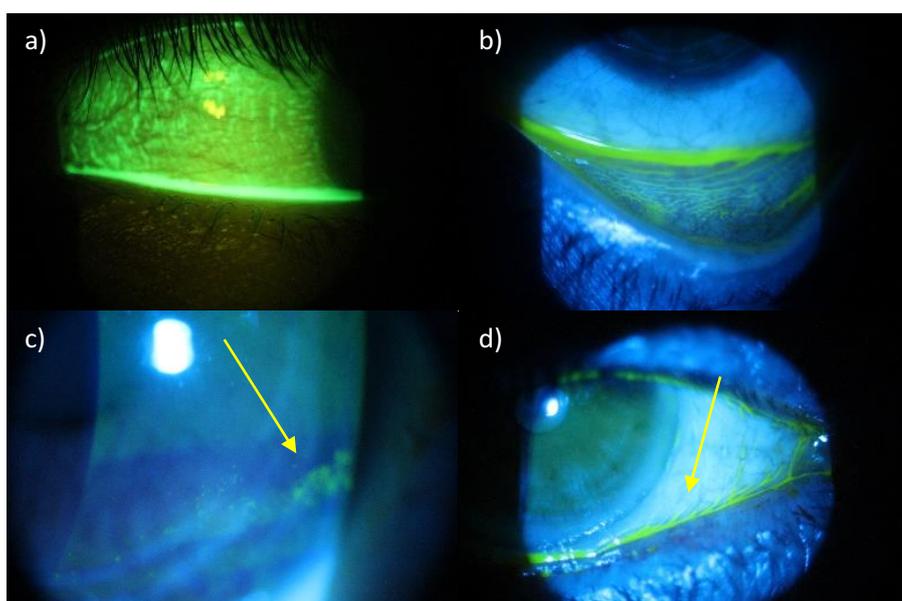


Figura 2. Tinción con fluoresceína. a) Tinción de la conjuntiva bulbar; b) de la conjuntiva tarsal inferior; c) tinción corneal grado 3/1/1; y d) LIPCOF grado 3.

Con respecto a la tinción de verde de lisamina, la tabla 5 muestra que existe porcentajes similares entre las dos poblaciones en cuanto al grado 0 y 1, y luego se en el grado 2 se visualiza un mayor porcentaje en la zona U (20,5% vs 41%), y por último se vio mayores casos de tinciones grado 3 y 4 (41,5% vs 7%), correspondientes a severas y marcada.

A modo de ejemplo se muestras dos imágenes de banco de imágenes del estudio, obtenidas con iluminación difusa, intensidad media, ángulo de 30° y con un aumento 10X en LH.

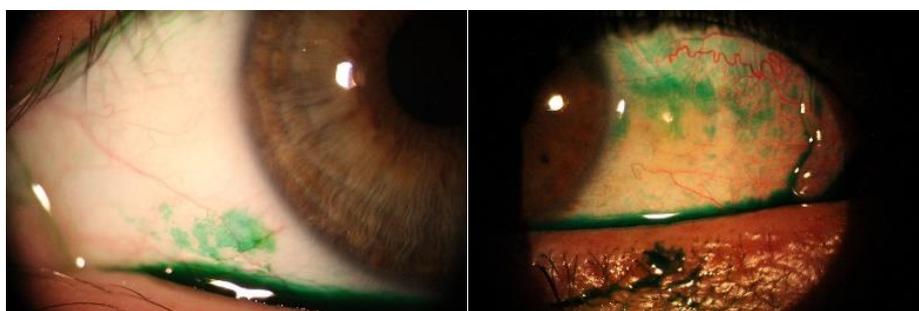


Figura 3. Tinción corneal con verde de lisamina: a) Tinción moderada grado 3; y b) tinción marcada grado 4.

6.2 Evaluación de la película lagrimal

De la tabla 1, vimos que cuando se valoró diferentes variables de la película lagrimal, se encontró que tanto Schirmer I como el menisco, DGM, los ácidos grasos y proteínas, presentaban diferencias estadísticamente comprobables. Tal es así que a continuación nos centraremos en profundizar estas diferencias. Se presentan en base al tipo de observación que se hace sobre la película, como ser para definir cantidad, estabilidad, capa lipídica y composición.

6.2.1.1 Valoración de la cantidad lagrimal

6.2.1.1.1 Test de Schirmer I.

Los resultados encontrados al realizar esta técnica de valoración de caudal lagrimal, fueron los expresados en la tabla 6, que se muestra a continuación. Los mismo se clasificaron según (Vitali et al. 1994).

		I %	U %
Test de Schirmer I	Normal >10 mm	73,5	98
	Bajo ≤ 10 mm	26,5	2

Tabla 6. Valores obtenidos al realizar el test de Schirmer I en ambas poblaciones. Los resultados se expresan en porcentajes de voluntarios. Se encontraron diferencias significativas entre las zonas ($\chi^2=845,8$; $p<0,0001$).

La tabla muestra que casi toda la población U presenta una buena cantidad de lagrima, mientras que la población I, presenta más casos de hiposecreción valores <10 mm, representando el 26,5% de la zona I.

6.2.1.1.2 **Menisco Lagrimal.**

La determinación de los meniscos presentó una distribución en cuanto a su altura y perfil, en las zonas que se muestran en la siguiente tabla:

Menisco lagrimal		I %	U %
Altura	Normal > 0,3 mm	13,6	22,7
	Bajo ≤ 0,3mm	86,4	77,3
Perfil	Continuo	81,8	75
	Ondulado	13,6	19,3
	Discontinuo	4,5	5,7

Tabla 7. Valoración de los meniscos lagrimales en ambas poblaciones. Los resultados se expresan en porcentajes de voluntarios. Se encontraron diferencias significativas entre las zonas ($\chi^2=373,26$; $p<0,0001$).

La tabla muestra un mayor porcentaje de meniscos reducidos en la población I con respecto a la U (86,4% VS 77,3%). Además se visualiza una mayor cantidad de perfiles ondulados y discontinuos en la zona U.

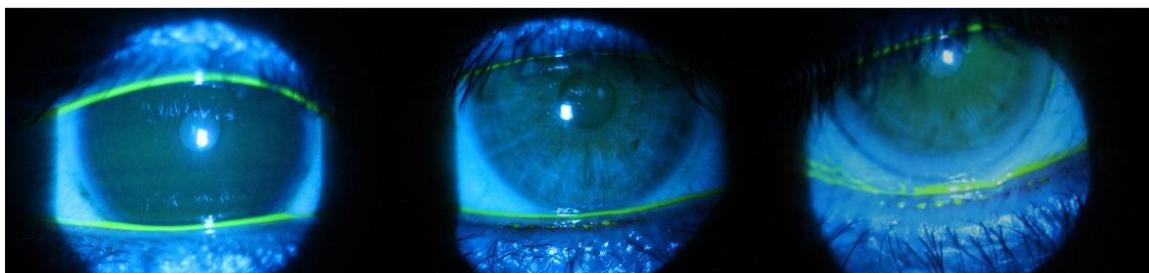


Figura 4. Imágenes del menisco lagrimal, se muestran: a) un menisco aceptable y uniforme; b) un menisco de menor altura y uniforme; c) menisco ondulado y por momentos discontinuo. Obtenida por el sistema de imágenes con luz cobalto sin filtro amarillo Wratten 12.

6.2.1.2 Evaluación de la capa lipídica

6.2.1.2.1 Disfunción de las glándulas de meibomio (DGM).

Los resultados encontrados al valoración la DGM, se expresan en la tabla 8, donde se distribuyen según los grados correspondientes a las escala Efron.

		I %	U%
DGM	Grado 0	62,1	84,1
	Grado 1	30,3	14,8
	Grado 2	7,6	1,1

Tabla 8. Valoración de DGM en voluntarios de ambas zonas. Los resultados se expresan en porcentajes Se encontraron diferencias significativas entre las zonas ($\chi^2=971,60$; $p<0,0001$).

La tabla 8 muestra un mayor porcentaje de DGM grado 0 en la zona U, mientras que en la zona I existe mayor porcentaje de grados 1 y 2, viéndose un 37,9 % contra un 15,9 % de los voluntarios de la zona U. Presentándose mayores casos de disfunción moderada en la zona I. A continuación se muestran algunas de las imágenes obtenidas.



Figura 5. Disfunción de las glándulas de meibomio: a) se señala la secreción cerosa de la glándula que obstruye del orificio de la misma; b) secreción fluida que sede a la opresión digital; y c) pérdida de la glándula.

6.3 Análisis de las muestras de lagrima

6.3.1 De proteínas

De la valoración de proteínas totales en lágrima por el método de Bradford y posterior análisis estadístico con la t- Student, los valores encontrados fueron de $1,41 \pm 0,75 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ $n=66$ para la zona industrial y de $2,26 \pm 0,79 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ $n =88$ para la zona urbana, correspondientes a mediana y su desviación estándar, con

un p valor $<0,0001$, lo que representa que las poblaciones tienen diferencias muy significativas en cuanto a la concentración de proteínas totales.

Luego, se caracterizaron las distintas proteínas presentes mediante electroforesis en minigeles de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) en gradiente 10 -20%. Las imágenes de los mismos se visualizan más abajo:

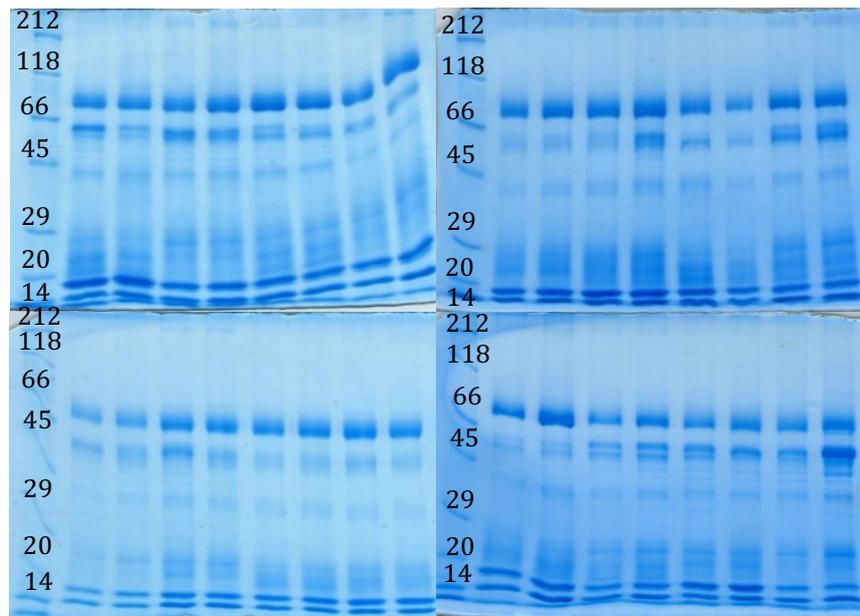


Figura 6. Diferentes geles electroforéticos SDS-PAGE en gradiente 10 -20%. La primera banda corresponde al patrón de pesos moleculares.

Luego estas imágenes fueron procesadas por el software Image J, con un protocolo que se desarrolla en el ANEXO VII.

En la imagen siguiente se muestra un ejemplo de gel y densitograma correspondientes:

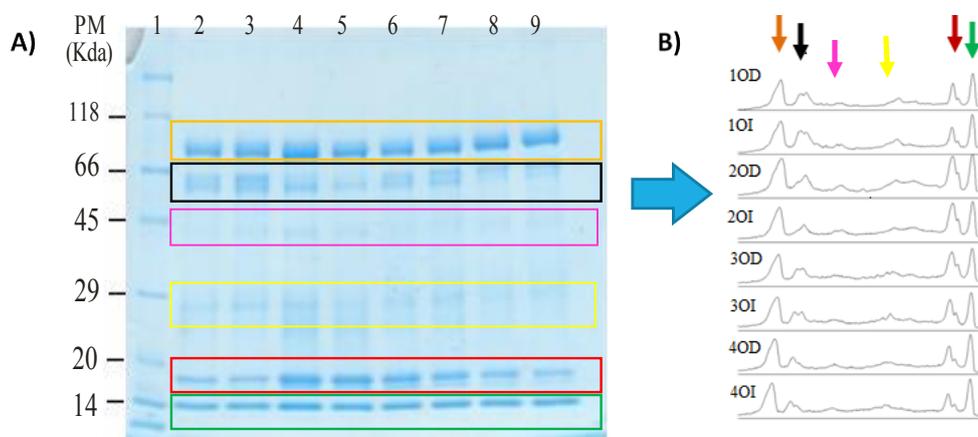


Figura 7. (A) SDS-PAGE 10-20% de lágrimas. Línea 1 patrón. Líneas 2-9 lágrimas del OD y OI de los pacientes 1 al 4. **(B)** Curvas de semicuantificación de lágrimas. Se muestran las curvas del ojo derecho (OD) y del ojo izquierdo (OI) correspondiente los mismos pacientes. Se indican las bandas y los picos correspondientes a cada recuadro coloreado.

Como se ve en la figura 7, se observan bandas de pesos moleculares entre 10 y 120 kDa. Existen bandas más intensas, una en la zona entre 118-66 kDa (recuadro naranja), una segunda y tercera entre 66 y 45 kDa (recuadro negro), otras dos cercanas a los 20 kDa (recuadro rojo), y la última a los 14 kDa (recuadro verde). Así mismo se observan otras bandas mucho más débiles, una en la zona de los 45 kDa (recuadro rosa) y otras dos entre los 20-29 kDa (recuadro amarillo). En la derecha de la figura se muestran las curvas de semicuantificación, donde los picos de cada banda se encuentran señalados con el color de la zona en la que se dividió el gel.

Cada banda se corresponde con un pico en el densitograma, cuya intensidad se asociará directamente a la concentración (C) de una proteína. Se tiene inicialmente esta consideración, para poder hacer la comparación entre las zonas, aunque se sabe que cada banda puede estar constituida por más de una proteína o diferentes isoformas de una misma proteína.

La tabla 9 contiene las comparaciones paramétricas (Test de t) entre las zonas de estudio; se muestran con asterisco las variables que presentaron diferencias significativas (pvalor<0,05) entre las zonas.

Nº de banda	Zona Industrial				Zona Urbana				
	n	μ (μg/μl)	m (μg/μl)	DE (μg/μl)	n	μ (μg/μl)	m (μg/μl)	DE (μg/μl)	p- valor
1	65	0,97	0,92	0,32	88	0,92	0,91	0,26	0,301
2 *	63	0,39	0,24	0,30	86	0,25	0,17	0,20	0,001
3	54	0,19	0,18	0,11	80	0,16	0,12	0,11	0,178
4	64	0,12	0,11	0,04	86	0,12	0,11	0,06	0,845
5	51	0,13	0,10	0,08	82	0,16	0,12	0,13	0,108
6 *	55	0,10	0,09	0,06	74	0,15	0,12	0,12	0,006
7	38	0,15	0,08	0,17	59	0,14	0,11	0,11	0,934
8	64	0,54	0,51	0,20	88	0,59	0,59	0,23	0,116
9	65	0,58	0,54	0,28	88	0,61	0,60	0,21	0,532
Prot. Total	66	1,41	1,20	0,75	88	2,26	2,22	0,79	0,000

Tabla 9. Resultados de las concentraciones estimadas de proteína presentes en cada una de las bandas para ambas poblaciones. Se detallan los valores del número de la muestra (n); la media (μ); la mediana (m); y la desviación estándar (DE), para cada zona de estudio. También se informa el p-valor según el T-test. Se encontraron diferencias significativas (*) en las variables en negrita, entre ambas poblaciones.

Teniendo en cuenta las diferencias observadas entre las zonas, se seleccionaron las bandas correspondientes para ser analizadas mediante identificación de la o las proteínas componentes de cada banda del gel. Las muestras se analizaron por nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masa con tecnología Orbitrap, lo que permite en primer lugar una separación de los péptidos obtenidos por digestión trípica de la muestra y una posterior identificación de los mismos. El análisis de los datos obtenidos se realizó con el programa Proteome Discoverer. Todos estos estudios fueron llevados a cabo por el Centro de Estudios Químicos y Biológicos en Espectroscopia de Masas (IQUIBICEN) de la UBA.

De acuerdo a los informes recibidos:

- La banda 2 podría corresponder a la cadena pesada de IgA humana (que también se identificó en el análisis por MALDI TOF TOF) de aproximadamente 50 kDa, aunque otras proteínas como seroalbúmina o la cadena pesada de IgG podrían estar presentes. La cuantificación de IgA mediante pruebas inmunoquímicas con anticuerpos específicos, permitirá confirmar o no estos resultados.
- En la muestra correspondiente a la banda 6, no se obtuvieron resultados significativos que permitieran la identificación de una proteína en particular, aunque algunos de los péptidos presentes en la misma corresponden a la cadena liviana lambda de inmunoglobulina humana (de aproximadamente 25 kDa) y a diferentes queratinas. Estas últimas podrían provenir del párpado del paciente, aunque tampoco podría descartarse completamente la contaminación durante la manipulación de la muestra.

6.3.2 De lípidos

De las muestras de lágrimas extraídas a los voluntarios de las dos poblaciones, se separó una parte para realizar el análisis de su composición lipídica. En este caso se analizaron los esteres metílicos de los ácidos grasos (FAMES) por GC-MS, lo cual nos ha permitido detectar, en promedio, 35 picos con

cuantificación válida, correspondientes a los ácidos grasos (AG), en el rango de C10 a C24.

A continuación se muestran los cromatogramas característicos de cada zona.

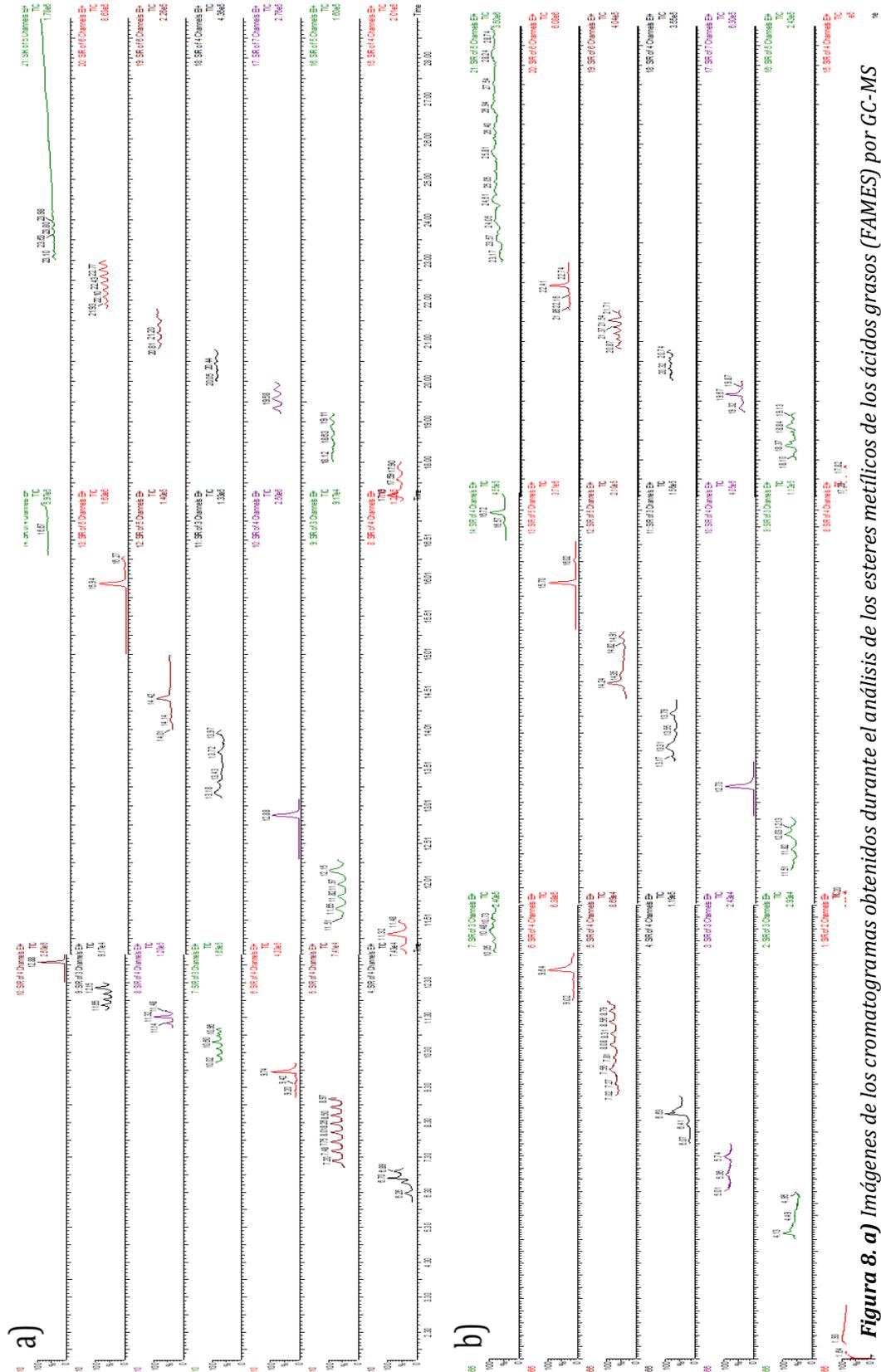


Figura 8. a) Imágenes de los cromatogramas obtenidos durante el análisis de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAMES) por GC-MS correspondientes a: **a)** la zona U; **b)** correspondiente a la zona I.

Para detectar si existe asociación entre la presencia de determinados AG en forma diferencial entre la zona Urbana e Industrial, se realizó un Análisis de Tabla de Contingencia, y posteriormente un Análisis de Correspondencia Múltiple para detectar esas asociaciones, las cuales se muestra en la figura siguiente:

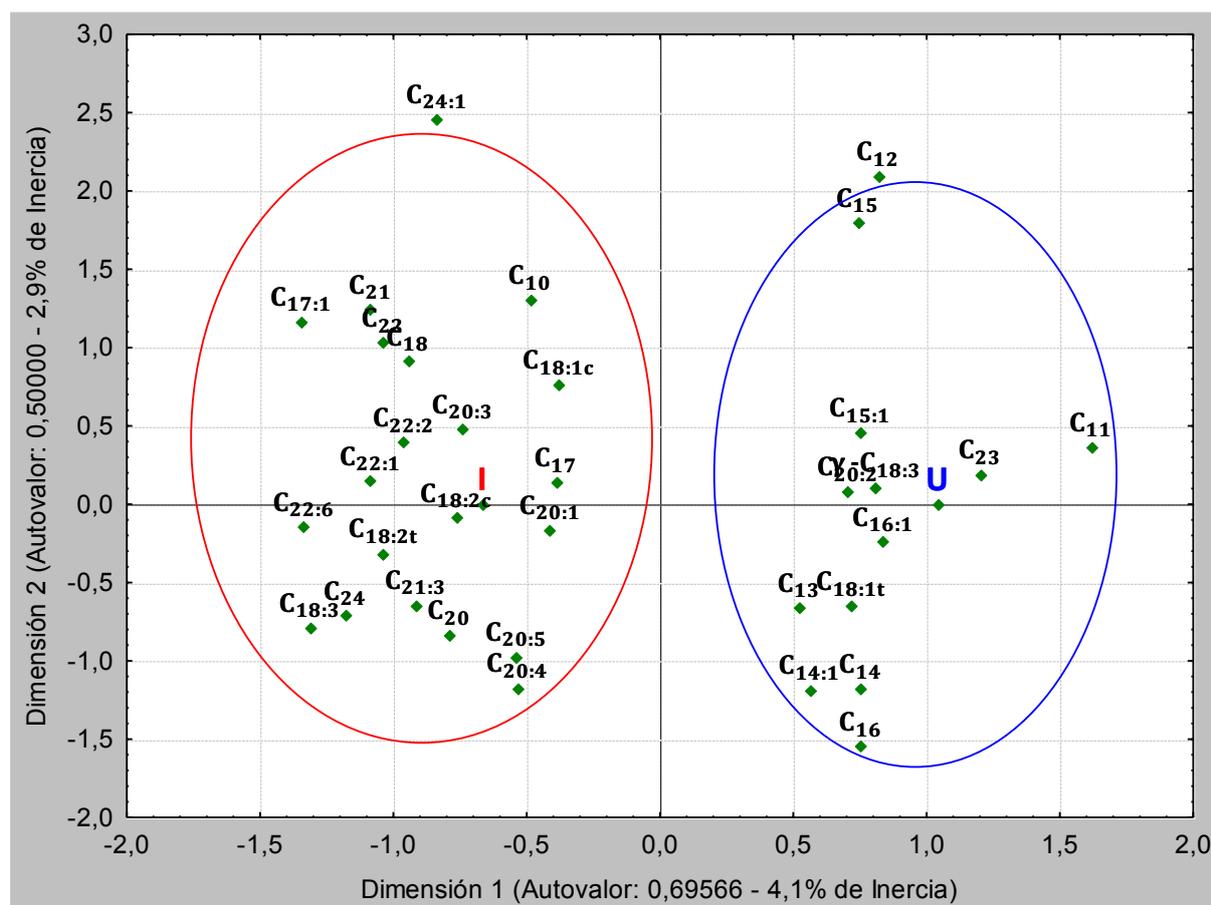


Figura 9. Análisis factorial de correspondencia entre los AG y las zonas de estudio (I y U). ($\chi^2=211,01$; p -valor<0,0001), realizado con STATISTICA 7.1.

El gráfico representa las distancias χ^2 entre las categorías de las variables, por lo tanto puntos/categorías próximas entre sí están más asociadas que categorías que están alejadas entre sí. Por lo que se ve existe una asociación entre los AG que se encuentran englobados en el conjunto rojo para la zona I, y el conjunto azul para la zona U. En ese sentido, los AG de cadena larga, es decir a partir de C₁₈ en adelante, se encuentran en su totalidad en la zona I, exceptuando el γ -C_{18:3}; C_{18:1t}; C_{20:2}; y C₂₃, que se encuentran más asociados a la zona U. Por su

parte, la zona I, presenta solo tres asociaciones a AG de cadena corta como el C₁₀; el C₁₇ y el C_{17:1}.

Además del análisis de correspondencia, se realizó Test de Mann-Whitney, entre los diferentes AG y las zonas para realizar comparaciones. En la tabla 10 se pueden ver las que presentaron diferencias significativas ($p_{valor} < 0,05$) entre los ambos grupos.

Variables	Zona Industrial				Zona Urbana				
	n	μ	m	DE	n	μ	m	DE	p-valor
C ₁₀	36	0,06	0,06	0,03	14	0,05	0,03	0,03	0,299
C₁₁	8	0,04	0,02	0,04	32	0,05	0,05	0,02	0,030
C ₁₂	64	0,14	0,12	0,08	88	0,18	0,12	0,36	0,148
C₁₃	46	0,03	0,03	0,01	46	0,06	0,06	0,03	0,000
C₁₄	66	0,75	0,6	0,71	88	0,72	0,19	2,35	0,000
C _{14:1}	48	0,24	0,16	0,18	52	0,19	0,18	0,12	1,000
C₁₅	64	0,12	0,09	0,14	84	0,13	0,05	0,36	0,038
C_{15:1}	46	0,15	0,09	0,23	62	0,33	0,15	0,62	0,000
C₁₆	66	4,19	2,59	4,85	88	4,98	0,96	18,12	0,000
C_{16:1}	50	0,45	0,19	0,9	70	0,12	0,08	0,16	0,000
C₁₇	58	0,22	0,18	0,18	28	0,45	0,05	1,35	0,000
C _{17:1}	20	1,09	0,08	3,12	2	0,02	0,02	0	0,067
C₁₈	64	2,34	1,72	2,03	14	3,29	3,21	1,66	0,033
C_{18:1t}	62	5,64	1,29	23,36	80	18,36	2,1	80	0,000
C_{18:1c}	64	2,11	1,29	2,77	28	0,53	0,18	0,72	0,005
C _{18:2t}	44	0,12	0,08	0,16	8	0,66	0,5	0,71	0,187
C _{18:2c}	56	0,48	0,47	0,41	16	1,39	0,27	1,99	0,704
γ-C_{18:3}	46	0,14	0,07	0,12	60	0,86	0,62	0,96	0,000
C _{18:3}	58	0,13	0,11	0,06	6	0,1	0,04	0,11	0,128
C₂₀	58	0,1	0,06	0,16	16	0,05	0,03	0,04	0,018
C_{20:1}	52	0,21	0,17	0,16	22	0,43	0,06	0,87	0,033
C _{20:2}	40	0,22	0,19	0,17	34	0,38	0,17	0,7	0,664
C_{21:3}	52	0,35	0,12	0,37	12	0,1	0,1	0,06	0,085
C ₂₁	12	0,67	0,58	0,37	2	0,58	0,58	0	1,000
C_{20:4}	38	0,3	0,08	0,76	16	0,57	0,15	0,94	0,028
C _{20:3}	56	0,16	0,13	0,17	16	0,44	0,13	0,52	0,159
C _{20:5}	60	0,25	0,23	0,19	24	0,6	0,14	1,58	0,303
C ₂₂	64	0,15	0,16	0,08	12	0,12	0,11	0,09	0,266
C _{22:1}	60	0,23	0,11	0,21	10	0,16	0,12	0,09	1,000

Variables	Zona Industrial				Zona Urbana				
	n	μ	m	DE	n	μ	m	DE	<i>p-valor</i>
C _{22:2}	58	0,93	0,89	0,68	12	0,7	0,54	0,54	0,350
C ₂₃	6	2,85	3,55	2,25	12	2,76	0,29	3,9	0,707
C ₂₄	58	10,34	8,64	7,22	8	9,06	3,85	11,15	0,432
C _{22:6}	64	3,35	2,15	2,84	6	4,13	4,24	1,84	0,131
C _{24:1}	8	1,89	1,18	2,15	2	4,72	4,72	0	0,289

Tabla 10. Comparaciones No Paramétricas (Test de Mann-Whitney); se muestran en negrita las variables que presentaron diferencias significativas (p -valor $<0,05$) entre los grupos Urbano e Industrial.

De la tabla 10 encontramos que 15 de 35 AG determinados en la Lágrima, presentan diferencias estadísticamente significativas cuando se analiza con el Test de Mann-Whitney.

Por último, se agrupa las diferentes los diferentes datos según agrupaciones de interés, en base al nivel de saturación y la longitud de la cadena: AGS (ácidos grasos saturados totales), AGS-cc (cadena corta, entre C4-C17), AGS-cl (cadena larga C18-C24), AGMI (monoinsaturados) y por último AGPI (poliinsaturados). También se presentan los valores correspondientes al cociente entre los AG insaturados/saturados (I/S) en la tabla a continuación.

	<i>I %</i>	<i>U %</i>
AGS	54,50	29,20
AGS-CC	17,0	22,8
AG-CL	37,4	6,5
AGI	45,5	70,8
AGMI	27,8	64,2
AGPI	17,8	6,6
AG (I/S)	0,8	2,4

Tabla 11. Porcentaje de las diferentes agrupaciones realizadas en las diferentes zonas.

En la tabla 11 se observan la composición de AG en las poblaciones estudiadas se distribuye de manera inversa, existiendo un mayor porcentaje de AGS en la zona I y un mayor porcentaje de AGI en la zona U.

Capítulo 7

Alteraciones oculares

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos de algunas de las posibles asociaciones entre las variables presentadas en el capítulo 5 (Resultado del estudio), siendo primeramente presentados los resultados referentes a la clasificación de ojo seco, seguidos de los relacionados con la afección ocular.

7.1. Ojo seco

Como antes hemos mencionado, en la actualidad se utilizan una combinación de pruebas clínicas y de cuestionarios específicos, para poder diagnosticar el ojo seco. Es por ello, que el estudio contó con diferentes valoraciones con el objetivo de evaluar la relación de la incidencia del ojo seco en poblaciones expuestas a diferentes calidades de aire, determinando dicha incidencia mediante criterios tanto objetivos (examen del segmento anterior) como subjetivos (respuestas a los cuestionarios OSDI y MM).

Teniendo conocimiento de que no existe una única prueba clínica que por sí sola sea suficiente para su diagnóstico del ojo seco es que se utilizaron variables pertenecientes tanto a la categoría de superficie ocular como a la de película lagrimal, para determinar dos criterios objetivos de evaluación. El criterio 1 (CRT 1) considera a pacientes con ojo seco cuando Schirmer ≤ 10 mm/5 min y BUTIN < 10 s. Por su parte, el criterio 2 (CRT 2) tiene en cuenta el

Schirmer I, el BUTIN, el patrón lagrimal, la tinción conjuntival con fluoresceína y LIPCOF, y considera que teniendo al menos 3 de estas pruebas con valores fuera de rango normal, el paciente presenta ojo seco.

Como criterios subjetivos, se utilizaron los cuestionarios OSDI y MM valoradas según la bibliografía y se consideraron las respuestas del OSDI con valores ≥ 12 como sospecha de ojo seco, mientras que valores ≥ 10 de la encuesta MM como posibilidad de ojo seco.

En la tabla 1 se resumen los criterios utilizados para esta clasificación.

Ojo seco	Objetivos	CRT 1	Schirmer ≤ 10 mm/ 5 min BUTIN < 10 s
		CRT 2	Schirmer ≤ 10 mm/ 5 min BUTIN < 10 s Tinción conjuntival con fluoresceína \geq grado 3 LIPCOF \geq grado 3 Patrón (no entra en el análisis)
	Subjetivos		OSDI MM

Tabla 1. Criterios objetivos para la determinación del ojo seco, definidos según las variables que tienen en cuenta para su diagnóstico de ojo seco.

7.1.1. A través de cuestionarios (Subjetivo)

Del análisis de las encuestas realizadas referidas al reporte subjetivo de síntomas oculares que presentaba la población, se utilizaron dos encuestas validadas como OSDI y MM. Ambos cuestionarios contienen preguntas sobre la función visual, síntomas oculares y estímulos ambientales.

Las respuestas fueron valoradas según la bibliografía y sus valores estadísticos clásicos fueron presentados en la tabla 3 del capítulo 5. En la tabla siguiente se muestran los resultados valorados según el criterio clínico presentado al inicio del capítulo:

	<i>Industrial</i>	<i>Urbano</i>
<i>OSDI <12</i>	76	77
<i>>12</i>	24	23
<i>MM <10</i>	65	73
<i>≥ 10</i>	35	27

Tabla 2. Respuestas a los cuestionarios OSDI y MM, expresado en porcentajes de voluntarios de ambas zonas.

Como se puede observar, los resultados no mostraron diferencias significativas entre las zonas consideradas cuando la incidencia del ojo seco fue determinada solo por los criterios subjetivos ($p > 0,25$ para ambos cuestionarios).

7.1.2. A través de la evaluación del segmento anterior (Objetivo)

Basándonos en el CRT 1 y el CRT 2 se determinó la incidencia del ojo seco en los voluntarios de ambas zonas. Los resultados se muestran en la tabla 3.

	Zona	n	CRT 1	CRT 2
<i>ojo normal</i>	Industrial	34	76	41
<i>ojo seco</i>			24	59
<i>ojo normal</i>	Urbano	44	98	73
<i>ojo seco</i>			2	27

Tabla 3. Porcentaje de voluntarios que presentaron ojo seco y normal, frente a dos criterios objetivos (CRT 1 Y CRT 2).

Los resultados mostraron diferencias significativas entre las zonas consideradas cuando la incidencia del ojo seco fue determinada por los dos criterios objetivos ($p < 0,005$ en ambos casos).

7.1.3. Análisis de componentes principales.

Por último se realizaron análisis estadístico multivariado de componentes principales relacionando los cuestionarios con las variables correspondientes al CRT1, al cual denominaremos (ACP1), así como también con el CRT 2, denominado (ACP2).

Los resultados del análisis del ACP1, se muestran en las gráficas siguientes:

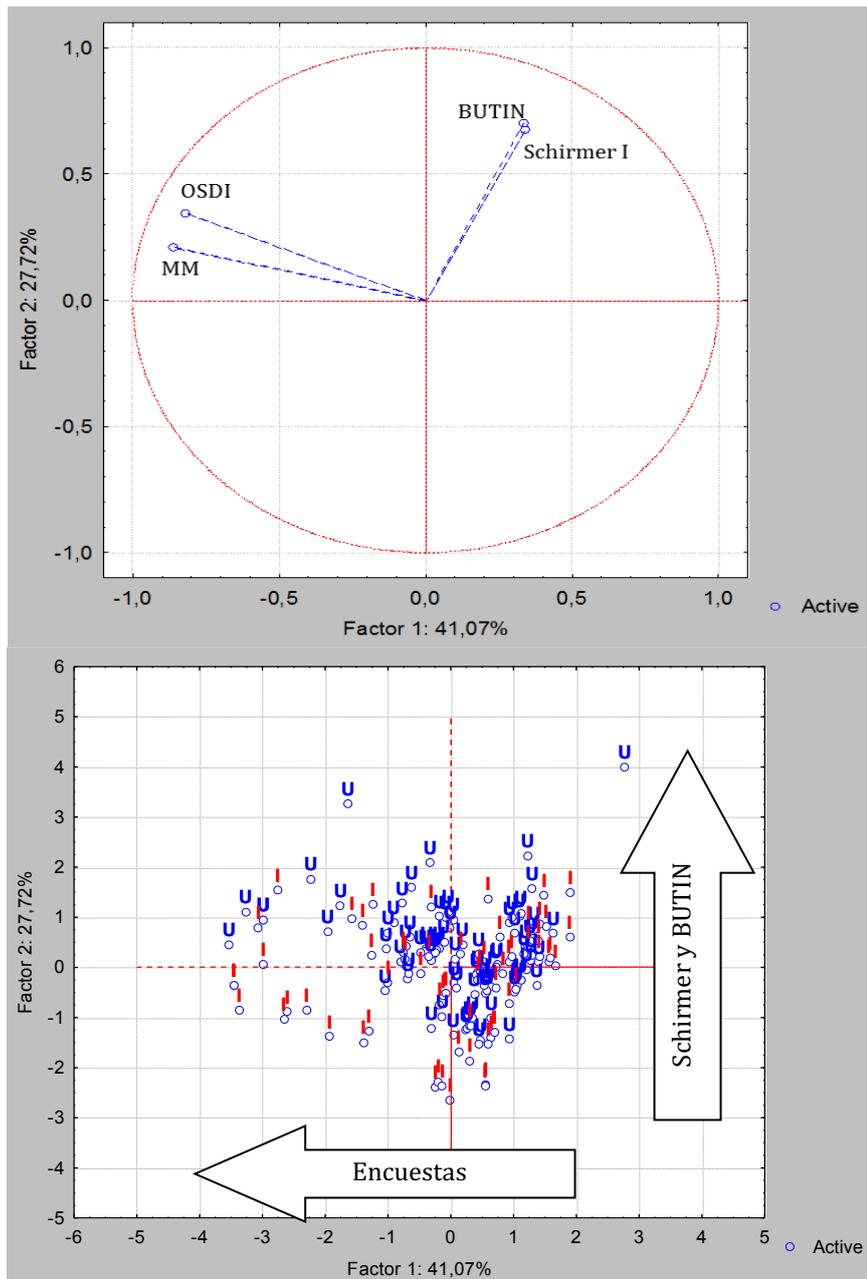


Figura 1. Proyección de variables comprendidas en el análisis de componentes principales 1 (ACP1) y la distribución de los diferentes voluntarios representadas en azul correspondientes a la zona U y rojo a la zona I. Análisis realizado con el software STATISTICA 7.1.

En La figura 1 se observa que este análisis capta en su plano principal un 68,78% de la información. Además se visualiza en el segundo gráfico, que la información aportada por las variables de la encuestas (OSDI y MM) aumenta en hacia la izquierda del eje horizontal, mientras que hacia arriba aumentan los valores de las variables oculares (Schirmer y BUTIN). De la proyección de los valores de los individuos sobre cualquiera de estos 2 gradientes, se observa que

no se logra separar claramente a aquellos individuos de zonas urbanas de aquellos de zonas industriales.

Luego si realizamos el mismo análisis para el análisis de los cuestionarios y las variables comprendidas en el CRT 2, obtenemos el análisis de componentes ACP2 que se desarrolla abajo.

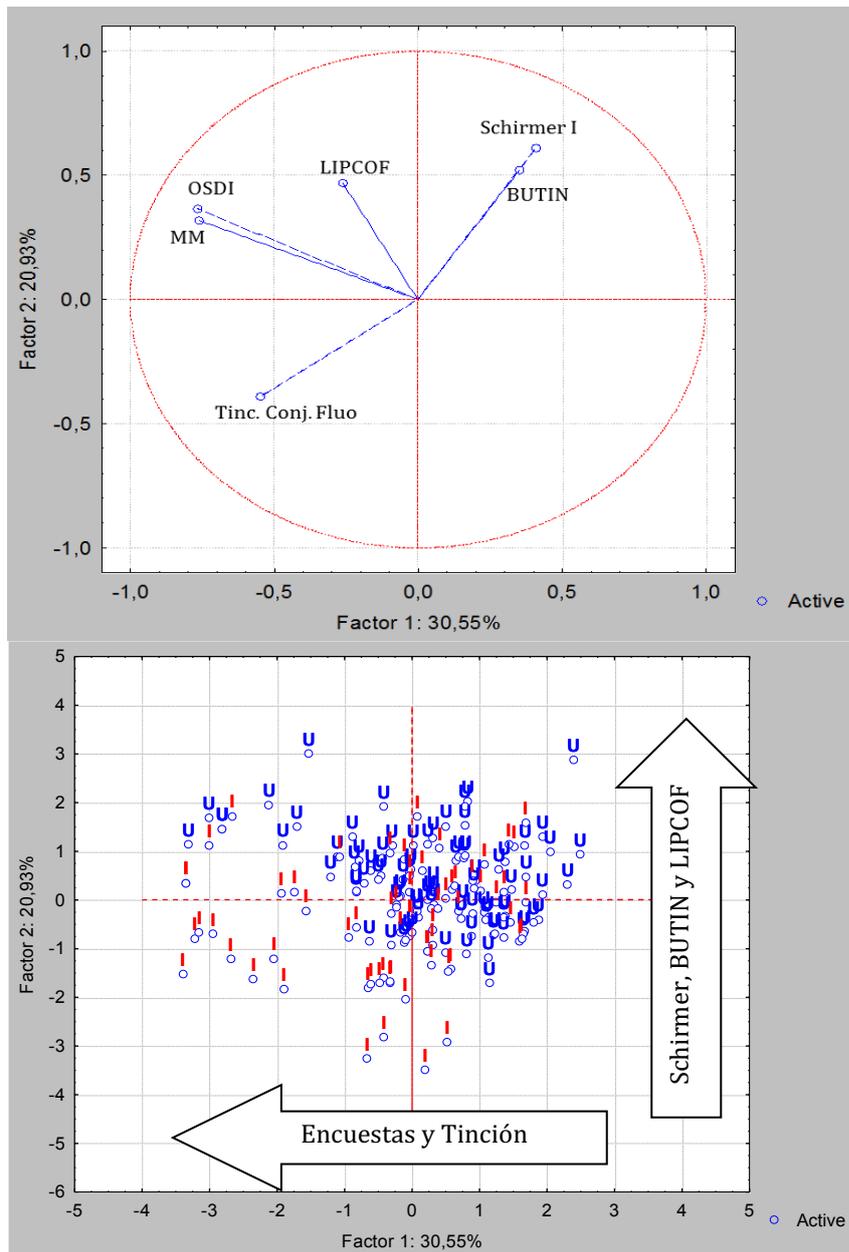


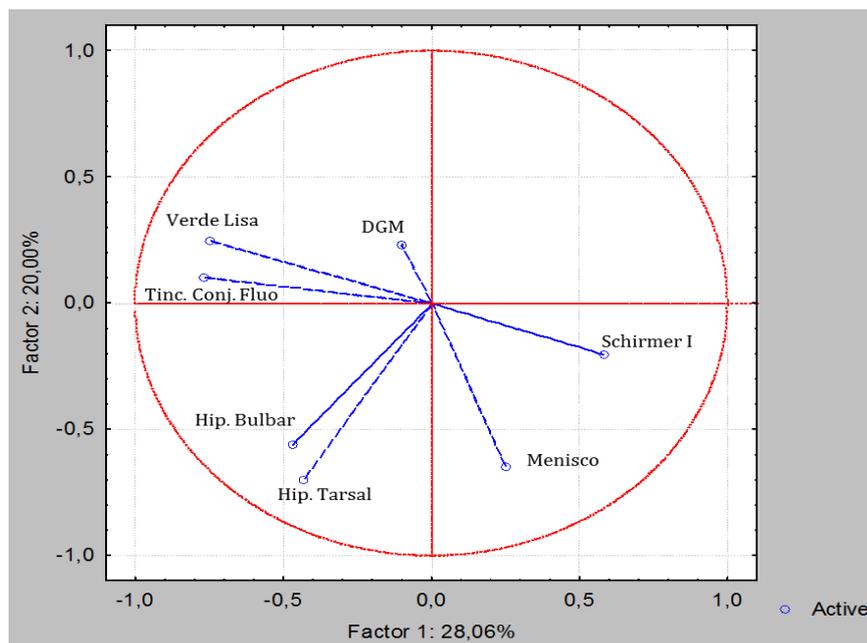
Figura 2. Proyección de variables comprendidas en el análisis de componentes principales 2 (ACP2) y la distribución de los diferentes voluntarios representadas en azul correspondientes a la zona U y rojo a la zona I. Análisis realizado con el software STATISTICA 7.1.

En este caso, la figura 2 capta en su plano principal un 51,47% de la información. La información aportada por las variables de la encuesta (OSDI y

MM) y la tinción conjuntival con fluoresceína aumenta en hacia la izquierda del eje horizontal, mientras que hacia arriba aumentan los valores de las variables oculares (Schirmer, BUTIN y LIPCOF). Como puede verse en el segundo gráfico si proyectamos los valores de los individuos sobre cualquiera de estos 2 gradientes solo se observa una incipiente separación de los individuos de zonas urbanas (hacia arriba) de aquellos de zonas industriales (hacia abajo).

7.2. Afeción ocular

Por último y frente al objetivo principal de esta tesis que era detectar alteraciones oculares asociados a la contaminación del aire, con el fin de encontrar posibles biomarcadores oculares, se realizó un análisis multivariado de componentes principales entre las variables estudiadas que presentaron diferencias significativas entre las dos poblaciones estudiadas. Los resultados se muestran en la figura 3.



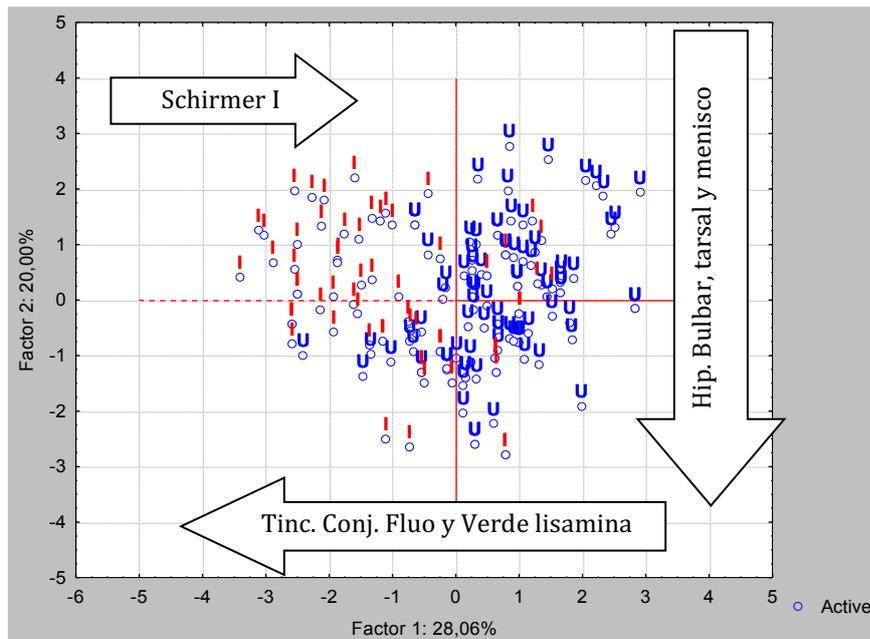


Figura 3. Proyección de variables con diferencias estadísticamente significativas y distribución de los diferentes voluntarios representadas en azul correspondientes a la zona U y rojo a la zona I. Análisis realizado con el software STATISTICA 7.1.

De este análisis, se obtiene que el plano principal capta un 48,06% de la información. Presentándose que el valor de las variables tinción conjuntival con fluoresceína y verde lisamina aumenta hacia la izquierda en el eje horizontal mientras que los de la variable Schirmer lo hacen hacia la derecha sobre el mismo eje; mostrando entre ellos una alta correlación inversa o indirecta. Mientras que las variables Hip. Bulbar, Hip. Tarsal y menisco aumentan hacia abajo en sentido vertical. Como puede verse en el gráfico de puntos/individuos, estas las zonas de procedencia de la muestra quedan claramente separadas en el sentido horizontal.

7.2.1. Índice de afección ocular (IAO)

A partir del análisis de componentes realizado para la afección ocular, y frente a la separación que se obtuvo de las poblaciones, es que selecciono este componente para la construcción de un índice de afección ocular, al cual denominaremos IAO. Para ello, se tomaron las cargas que presentaban las variables Schirmer, tinción conjuntival con fluoresceína y verde lisamina, como los coeficientes para el cálculo, ya que conformaban el gradiente que mejor discriminaba a los grupos. Obteniéndose un índice que se expresa a continuación:

$$IAO = 0,58301 * (Schirmer I - \mu_S / DE_S) - 0,76810 * (Tinc. Conj. Fluo - \mu_T / DE_T) - 0,74542 * (Verde lisamina - \mu_V / DE_V)$$

Figura 4. Formula del índice de afección ocular (IAO), donde se expresan las cargas de cada una de las variables, las cuales se multiplican por las variables estandarizadas, es decir que a cada valor de cada una de las variables se le resta su media (μ) y se la divide por su desvío estándar (DE). Donde el subíndice S corresponde a Schirmer I; T a la Tinción Conjuntival con Fluoresceína y V al verde de lisamina.

Con este índice se calculó el valor del IAO para cada individuo de la muestra y se le realizaron estadísticas descriptivas y se encontraron diferencias significativas entre el grupo Urbano e Industrial (Test paramétrico $t=8,04$; p -valor $<0,0000$; Test no paramétrico: $U=1128,5$; p -valor $<0,00000$).

Zona	n	μ	m	DE	EE	Mín.	Máx.
Industrial	68	-0,95	-0,98	1,65	0,2	-4,01	2,57
Urbano	88	0,75	0,65	1,05	0,11	-1,6	3,23

Tabla 4. Estadísticos descriptivos del índice de afección ocular (IAO). Se detallan los valores del número de la muestra (n); la media (μ); la mediana (m) y la desviación estándar (DE) el error estándar (EE), así como también los valores mínimos (Mín) y máximos (Máx.), para cada zona de estudio.

A su vez, si observamos cómo se distribuyen los datos nuestras dos zonas en relación a este índice generado, podemos ver los diferentes histogramas de distribución:

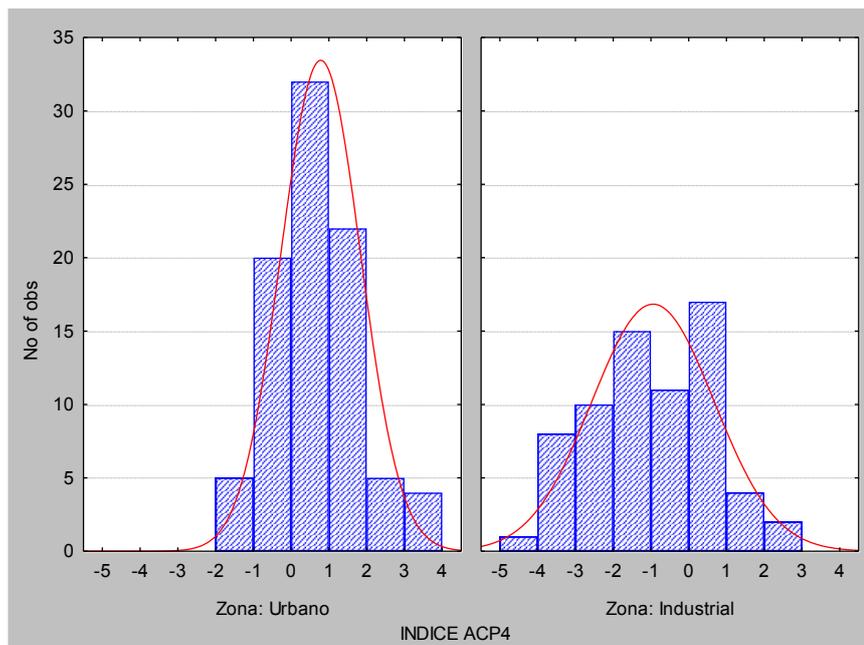


Figura 5. Histogramas de distribución del índice de afección ocular, en ambas poblaciones.

Finalizando, si calculamos el índice con los valores límites de cada una de las variables que lo componen obtenemos que sería correcto considerar un valor de corte en 0,71, ya que de esta forma se tendrían en cuenta las diferentes posibilidades de superación de los valores normales de las diferentes variables.

Este límite nos permite caracterizar a nuestro índice en sin afección ocular, cuando los valores arrojados por el mismo superen a 0,71 y con afección cuando sean iguales o menores a este valor.

Con esta premisa observamos cómo se distribuyen ambas poblaciones frente a este valor de corte.

IAO	I %	U %
≥ 0,71	11,8	48,9
< 0,71	88,2	51,1

Tabla 5. Distribución del índice de afección ocular (IAO) entre las zonas, expresada en porcentajes.

Como podemos ver de la tabla anterior, casi la totalidad de la población industrial presenta algún tipo de afección ocular (88,2 % frente a un 48,9 %), encontrándose que en la zona U la distribución del IAO es similar entre los que presentan o no afección.

Capítulo 8

Discusión y conclusiones

En el presente trabajo se analizaron las posibles alteraciones oculares que se pudieran asociar a los niveles de contaminación aérea, a través de la concentración del material particulado, en la ciudad de La Plata y Ensenada.

En este sentido la determinación de MP_{2.5} y MP₁₀ nos permitió corroborar las diferentes calidades de aire en las zonas en estudio. Cabe mencionar que no se ha realizado un muestreo continuo de años completos, la que sería una situación ideal para poder comparar con mayor precisión los valores de este contaminante, de la misma forma no se pudo determinar el error inducido por la rosa de los vientos en el monitoreo del MP en la zona urbana y tampoco se han incluido la valoración de otros contaminantes como gases y vapores. Sin embargo, las diferencias existentes en los niveles de MP en las dos zonas seleccionadas, son consistentes y señalan claramente que ambas zonas presentan una calidad del aire distinta.

Los niveles de MP (MP_{2.5} y MP₁₀) se encuentran aumentados en la zona I con respecto a la zona U. Si bien no se aprecian diferencias significativas en los niveles de MP₁₀, los valores medios obtenidos superan los valores guía (20 µg/m³) estipulados por la OMS (WHO 2006) para promedios anuales en ambos sitios de muestreo, aunque en el caso de la zona industrial son ampliamente superados.

En el caso de MP_{2.5} existen diferencias significativas entre ambas zonas de estudio siendo los niveles más elevados en la zona I. La zona U presenta valores cercanos a los valores medios guías definidos por la OMS (10 µg/m³), mientras que los valores de la zona I supera ampliamente los valores guía de la OMS y la EPA (12 µg/m³).

Es conocido que MP₁₀ y MP_{2.5} se relacionan con diferentes orígenes. Mientras que el MP₁₀ se relaciona con actividades humanas como el tránsito vehicular, polvos de la agricultura y la construcción, el MP_{2.5} se relaciona a la actividad industrial, fundamentalmente termoeléctrica, petroquímica, siderúrgica y también con la combustión de motores diésel. Varios trabajos han logrado relacionar al aumento del riesgo de mortalidad con el aumento de los niveles de MP (Tonne et al. 2007; Rückerl et al. 2007; Simkhovich et al. 2008; Kok et al. 2009; Hart et al. 2013; Qiu et al. 2015), y aún considerando que los individuos están expuestos a un conjunto de tóxicos presentes en el aire, estudios preliminares de cohorte realizados en Europa han sugerido que el mayor contribuyente a la mortalidad de la población es el MP_{2.5} relacionado a la contaminación aérea por fuentes de combustión móviles (Brauer et al. 2002). En este sentido, nuestros hallazgos de mayores cantidades de MP_{2.5} en la zona I podrían estar incidiendo en el estado de salud de los habitantes de esta zona.

El tamaño de las partículas es determinante para sus efectos en la salud humana por su diferente capacidad de penetración en el árbol respiratorio y por su permanencia en la suspensión en el aire. Cuánto más pequeña es una partícula, más tiempo permanecerá en suspensión en el aire y más profundamente penetrará en el pulmón humano. Las MP₁₀ son retenidas en la parte superior del árbol respiratorio y son expulsadas al exterior por la tos y el movimiento de los cilios de las células epiteliales. Por otro lado, la fracción fina, MP_{2.5} está compuesta por partículas suficientemente pequeñas que penetran en las vías respiratorias hasta llegar a los pulmones y los alvéolos, lo que aumenta el riesgo de mortalidad prematura por efectos cardiopulmonares, en exposiciones de corto y largo plazo.

Es de consenso general que una vez depositados en los pulmones, el MP genera una cascada inflamatoria con un aumento de las especies reactivas al oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), siendo este uno de los principales

mecanismos responsable de los efectos tóxicos del MP (Harrison y Yin 2000; Pope y Dockery 2006). El pulmón responde a la injuria con mecanismos específicos de defensa que pueden ser adquiridos y modificados con el paso del tiempo al ser estimulados por la exposición constante a materiales antigénicos de bajo y alto peso molecular diseminados por vía aérea. La enfermedad pulmonar crónica y la broncoconstricción pueden resultar de la inhalación de materiales que parecen actuar total o parcialmente a través de una respuesta alérgica (AAIBA 2003; Río-Navarro et al., 2009).

Al evaluar las poblaciones de estudio, hemos encontrado que no presentan diferencias significativas en cuanto edad, y altura. Sin embargo ambas poblaciones presentan diferencias estadísticamente significativas en cuanto al peso e índice de masa corporal (IMC) ($p < 0,0005$ y $p < 0,0001$ respectivamente). Según lo establecido por la OMS una persona es obesa cuando el IMC $> 30 \text{Kg/m}^2$, tiene sobrepeso o preobesidad cuando IMC se encuentra entre 25 y 29,9 Kg/m^2 y tiene un peso normal cuando el IMC está entre 18,5–24,9 Kg/m^2 . A partir de estos parámetros, encontramos que la población de la zona I presenta valores indicativos de sobrepeso y cercanos a la obesidad, mientras que la población de la zona U tiene un peso normal. Estos resultados se podrían relacionar con la dieta alimentaria, así como también con su realidad socio-económica.

Si evaluación las características y servicios a nivel domiciliario reportados por los voluntarios (Tabla 3 del capítulo 5), la zona I presenta condiciones mas precarias de vivienda (tipo de vivienda, material del piso y características del baño) y con menor accesibilidad a los servicios públicos (agua, desagüe, luz y calefacción).

Estas diferencias dan un pantallazo sobre el desarrollo socioeconómico, si bien no se indagó sobre salarios, podemos estimar que los voluntarios industriales presentan un nivel socioeconómico menor al de los urbanos. Esto estaría en concordancia con un estudio reciente, que relacionó los sitios y las emisiones de la contaminación industrial con las desventajas socio-económicas de poblaciones aborígenes en Australia, a través de un inventario nacional de emisiones y cuatro índices socio-económicos (Chakraborty y Green, 2014), encontrándose que las comunidades con más sitios de emisiones de contaminantes y mayores cantidades de químicos emitidos, se caracterizaron con

mayores residentes aborígenes y con mayores desventajas socio-económicas. A su vez, en las mismas zonas también han ocurrido accidentes ambientales en los que las personas afectadas fueron estas poblaciones aborígenes de escaso nivel socio-económico (Teague, et al., 2014). Estos estudios dan cada vez más fuerza al desarrollo y fortalecimiento de la justicia ambiental, la cual mundialmente ha sido relegada frente a otras prioridades, pero a la que últimamente se le está dando mayor importancia debido a los costos económicos que se ven implicados frente a sus falencias.

En cuanto a la encuesta de salud, se aprecian diferencias significativas en el número de pacientes que presentaban rinitis, antecedentes asmáticos y enfermedades respiratorias ($p < 0,05$ en todos los casos), siendo la frecuencia de estas dos últimas afecciones mayor en la zona I que en la zona U. Es importante marcar que a pesar de que no hay diferencias estadísticamente comprobables en las otras preguntas realizadas, la población I presenta una mayor prevalencia en todas las consultas realizadas. Dentro de estas variables, frente a la consulta sobre hábitos tóxicos como fumar, se desprende que la zona I presenta un mayor hábito tabáquico con respecto a la zona U (12 y 9 casos respectivamente). Presentándose en la zona I mayores casos de fumadores, los cuales consumen más de 10 cigarrillos diarios, pudiendo ser este un factor de confusión a la hora de valorar los efectos respiratorios de la población.

De los voluntarios que presentaron rinitis en ambas zonas (32,4% y 56,8% de la zona I y U respectivamente), se observó que la frecuencia de aparición de la misma es en general baja, ocurriendo predominantemente los eventos durante la primavera, por lo que se los asocia a una rinitis vernal o alérgica.

En cuanto a los antecedentes de asma y enfermedades respiratorias en poblaciones de ambas zonas, se observó una tasa mayor estadísticamente significativa de padecimiento del asma en la zona I respecto de la zona U (17,6% y 2,3% respectivamente). Además, el grado de severidad de las enfermedades reportadas también varía entre las zonas, existiendo mayor frecuencia de casos de enfermedades respiratorias del tipo crónicas como el asma y EPOC en la zona I, mientras que la zona U presenta predominantemente enfermedades del tipo episódicas (alergia, sinusitis, angina, broquitis y neumonía). Estos resultados

concuerdan con los estudios previos de nuestro grupo de trabajo (Cianni et al, 2009; Wichmann et al, 2009).

Sin embargo, los resultados obtenidos de las espirometría no fortalecieron esta hipótesis, probablemente debido a un efecto que previamente ha sido descrito por (Becker et al. 2005), quienes plantean que existe una suerte de acostumbamiento de las personas expuestas constantemente a una mayor concentración de contaminantes con respecto a personas que lo están con niveles menores. Sumado a que los cambios que se presentan a nivel respiratorio no son tan evidentes, a veces ni con la medición de la función pulmonar con pruebas convencionales como la espirometría es posible valorar su verdadera magnitud (Rodríguez Lastra 2009). También se puede deber a que las espirometrías requieren de mayor cantidad de datos (individuos estudiados) y valores de referencia regionales para mejorar su sensibilidad.

Por otra parte, cuando se evaluaron distintos parámetros sanguíneos, se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones para la glucosa, creatinina, GOT, GTP, fosfatasa alcalina y proteínas totales; encontrándose valores superiores en la zona I (a excepción de la creatinina), aunque todas las medias se encontraron dentro de la normalidad. Por su parte, en la zona I se encontraron 5 casos con glucosa elevada, de los cuales solo dos presentaban diagnóstico y tratamiento de diabetes. En contraposición, en la zona U no se presentó ningún caso de este tipo. Sumado a esto, en resultados no presentados en la tesis, se observa una mayor tendencia de las enfermedades crónicas de prevalencia mundial (HTA, DBT, anemias, hipotiroidismo) en la zona I, así como también una mayor frecuencia de casos que presentan más de una enfermedad crónica. En cuanto al colesterol, las medias de ambas poblaciones fueron muy similares y dentro de los parámetros normales, a pesar de que ambas zonas presentaron casos de colesterol total elevado (9 en la industrial y 8 en la urbana), por lo que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones. Si bien existen estudios en los se han relacionado marcadores inflamatorios en sangre, con el aumento de la contaminación del aire, como son la interleuquina (IL) -6, el ligando de CD40 soluble (sCD40L), el fibrinógeno, la mieloperoxidasa (MPO) y el inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1 (PAI-1) (Rückerl et al. 2007; Rückerl et al. 2014), no se ha profundizado sobre otro tipo

de parámetros sanguíneos. En Argentina, y particularmente en nuestra región, es la primera vez que se realizan estudios de estas características.

Estos resultados se pueden analizar desde el punto de vista de una entidad mayor como es el síndrome metabólico (SM), el cual se define como la asociación de alteraciones metabólicas e inflamatorias a nivel molecular, celular o hemodinámica, que pueden presentarse en forma simultánea o secuencial en un mismo individuo. Esto imprime un mayor riesgo de desarrollar diabetes y enfermedades cardiovasculares, teniendo como base la resistencia insulínica (Barrera, Pinilla, Cortés, Mora, y Rodríguez, 2008). Se ha reportado que la prevalencia de síndrome metabólico en adultos oscila entre el 25 y el 45%, con diferencias importantes entre las zonas urbanas y rurales (López-Jaramillo et al. 2013). Datos epidemiológicos recientes han sugerido que la obesidad (Dubowsky, Suh, Schwartz, Coull, y Gold, 2006), la hipertensión (Liao et al., 1999), y la diabetes mellitus (O'Neill et al., 2005), pueden impartir una mayor susceptibilidad al MP y asociarlo a efectos cardíacos.

A su vez, si nos focalizamos en los parámetros de la fórmula leucocitaria, el aumento de los neutrófilos y linfocitos respecto a los valores normales, y la mayor tendencia del resto de los parámetros, son indicativos del aumento de la respuesta inflamatoria general en los pacientes de la zona I. Estos resultados concuerdan con los reportados en bibliografía (Bello Rodríguez et al., 2012; Eze et al., 2014; Liao et al., 1999; Rückerl et al., 2014), donde se encontró un aumento de la incidencia de diabetes y de la respuesta inflamatoria en personas expuestas a contaminantes aéreos, incluso a concentraciones inferiores a las directrices de calidad del aire, lo que puede agravar las enfermedades ateroscleróticas e inducir daño multiorgánico. Estos hallazgos explican en algún punto los datos obtenidos en cuanto a las enfermedades respiratorias prevenibles que presenta esta población, que se encuentra expuesta diariamente frente a una mayor cantidad de contaminantes.

Frente a este marco descriptivo de las poblaciones, y con el objetivo principal de esta tesis doctoral, al evaluar el segmento anterior de ambas poblaciones, se han encontrado diferencias significativas en varias de las variables estudiadas.

En cuanto a la superficie ocular, tanto la hiperemia de la conjuntiva bulbar y tarsal, como la tinción conjuntival con fluoresceína y tinción con verde de lisamina, presentaron valores medios mayores en la zona I (Tabla 1, Capítulo 6), los cuales a su vez mostraron diferencias significativas entre los pacientes provenientes de ambas zonas. Es importante aclarar que estas variables son representativas del daño ocular presente en los pacientes, por lo que valores más altos corresponden a mayor daño superficial. Sumado a esto, cuando se profundizó en cada una de estas variables, se vio que la frecuencia de distribución de los diferentes rangos de cada escala de notación utilizada, se distribuían de manera similar, todas presentaban mayor frecuencia de los grados más altos (3 y 4) en la zona I que en la zona U, encontrándose diferencias con el estadístico χ^2 con un $p < 0,0001$ para todas las variables, siendo para la hiperemia bulbar ($\chi^2=1099,5$); la hiperemia tarsal ($\chi^2=918,7$); la tinción conjuntival con fluoresceína ($\chi^2=45,9$), y ($\chi^2=30,9$) para la tinción con verde de lisamina, respectivamente. Asimismo, para la tinción con fluoresceína, la población de la zona U no presentó casos con grado 4, y en el resto de las variables, la frecuencia de voluntarios con grado 4 era muy inferior a los de la zona I.

En la evaluación de la película lagrimal, se encontró que tanto Schirmer I como el menisco y DGM, presentaban diferencias estadísticamente comprobables por el Test de Student ($p < 0,005$). En relación al Schirmer I, la población de la zona U presenta una buena cantidad de lágrima, mientras que la población de la zona I presenta más casos de hiposecreción, con valores < 10 mm (26,5%). En cuanto al menisco, los resultados van en el mismo sentido, encontrándose mayor porcentaje de meniscos reducidos en la población de la zona I con respecto a la de la zona U (86,4% vs 77,3%). Por último, en cuanto a la DGM se vieron más casos de grado 1 y 2 en la zona I (37,9 %) que en los voluntarios de la zona U (15,9 %), a lo que se suma un número mayor de casos de disfunción media en la zona I. Estas diferencias fueron corroboradas con el estadístico χ^2 con un $p < 0,0001$ para todas las variables: siendo para el Schirmer I ($\chi^2=845,8$); el menisco ($\chi^2=373,26$) y DGM ($\chi^2=971,60$).

Por lo que la población I, presenta mayor daño de la superficie ocular y menor caudal de la película lagrimal, encontrándose la situación inversa en la población U. Estos resultados estarían en concordancia con los reportados en

estudios previos, donde se ha visto una disminución de la estabilidad lagrimal y trastornos asociados a la contaminación atmosférica (Saxena et al., 2003, Gupta et al., 2007; Novaes et al., 2010; Moen et al., 2011). Aunque a diferencia de estos, en nuestros resultados no se encontraron diferencias significativas en cuanto al BUTIN a pesar de encontrarse valores medios menores en la zona I. Estas diferencias más sutiles podrían deberse al aumento de uso de utilitarios electrónicos (computadoras, tabletas, celulares, etc.) por la población U, debido tanto a su demanda laboral, como a su poder adquisitivo. Se ha visto que el uso de estos dispositivos, disminuye el tiempo de parpadeo de los usuarios y disminuye el tiempo de ruptura lagrimal, por evaporación de la lágrima (Blehm et al., 2005).

Cuando se evaluó la composición de la película lagrimal, se hizo hincapié en la composición proteínica y lipídica. Con respecto a las proteínas, la concentración total es significativamente menor en la población de la zona I que en la U ($p < 0,0001$). Además cuando se analizaron las proteínas por SDS-PAGE en gradiente, se revelaron 9 bandas por tinción con Coomassie blue G-250 y mediante un análisis de la intensidad de dichas bandas, se observaron diferencias significativas en la concentración de la banda 2 y la banda 6, al comparar las muestras provenientes de zona U e I. Estas bandas fueron analizadas mediante espectrometría de masas, encontrándose que la banda 2 correspondería a la cadena pesada de IgA, el isótopo de anticuerpo predominante en las secreciones mucosales, con una concentración aparentemente mayor en los pacientes de la zona I respecto de los de la zona U. La presencia de la cadena pesada se atribuye al tratamiento previo de la muestra con 2-mercaptoetanol, el cual reduce los puentes disulfuro intercatenarios que mantienen a las cadenas pesadas y livianas unidas entre sí. Estos hallazgos podrían resultar de importancia ya que la IgA desempeña un papel importante en los mecanismos locales de defensa en la zona externa del ojo, como lo muestran los niveles aumentados de IgA e IgG en lágrimas asociadas con inflamación ocular (Barrero J 2011). A su vez también se han visto aumentadas estas inmunoglobulinas frente a respuestas inflamatorias causadas por diferentes afecciones oculares como ser conjuntivitis bacteriana, queratomalacia, reacción de injerto de córnea, blefaroconjuntivitis, y queratoconjuntivitis aguda (Sen y Sarin 1979), o frente a quistes ductales de la glándula lagrimal (Lam et al. 2013). Si bien nuestros resultados son preliminares

y es necesario confirmarlos mediante ensayos de cuantificación específicos, se podrían asociar a un aumento de respuesta inflamatoria en los voluntarios que habitan en la zona I.

Luego, en el análisis de la composición lipídica a través de la caracterización de los ácidos grasos, se logró detectar 35 picos con cuantificación válida, correspondientes a los ácidos grasos (AG) en el rango de C10 a C24. Luego de un análisis por tabla de Contingencia y posterior de Correspondencia Múltiple, se vio una asociación clara entre la presencia de AG de cadena larga y la zona I, y entre los AG de cadena corta y la zona U. Tal es así, que la zona I presentó casi la totalidad de los AG de cadena larga, excepto el γ -C_{18:3}; C_{18:1t}; C_{20:2}; y C₂₃, que se encuentran más asociados a la zona U, así como también esta zona se asoció a tres AG de cadena corta como el C₁₀; el C₁₇ y el C_{17:1}, el resto se presenta en su mayoría en la zona U. Esto nos indicaría la existencia de perfiles de AG característicos en cada zona de estudio, encontrándose que las lágrimas de los voluntarios correspondientes a la zona I se encuentran asociados con AG de cadena larga, y viceversa para la zona U.

Ahora bien, cuando se analizaron las concentraciones de los diferentes AG presentes en la lágrima, se observó que 15 de los 35 AG determinados, presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las zonas. De estos AG, casi todos se encontraban en mayor concentración en la zona U, a excepción del C₁₄, C_{16:1}, C_{18:1c}, C₂₀, y C_{21:3} que están en mayor concentración en la zona I. Por último, al evaluar las concentraciones de diferentes agrupaciones de interés (AGS, AG-CC, AG-CL, AGI, AGMI, AGPI Y AG (I/S)), las cuales nos permiten visualizar el nivel de saturación y la longitud de la cadena de los 35 AG determinados, se vio que la composición de AG en las poblaciones estudiadas se distribuye de manera diferente, existiendo una mayor concentración de AGS en la zona I y una mayor concentración de AGI en la zona U.

Estos resultados se podrían relacionar con la fluidez de la película lagrimal, considerando que el punto de fusión de los AG aumenta con la longitud de la cadena carbonada y disminuye al aumentar el número de insaturaciones. A su vez, también se podría estimar la estabilidad de la película lagrimal si se analizara la linealidad de los AG presentes, ya que los AG ramificados generan mayor inestabilidad. Por lo que, cuanto más largos, lineales y saturados sean los

AG encontrados en la lágrimas de los voluntarios, mayor estabilidad presentará su película lagrimal (Lozato et al. 2001). Nuestros resultados basados en el análisis de contingencia y de correspondencia múltiple, y el grado de insaturación, no llegan a ser suficientemente exhaustivos a la hora de permitirnos definir las características físicas de la película lagrimal, ya que no hemos evaluado la composición de AG ramificados en cada zona, lo que quizás nos hubiera ayudado a definir mejor estas características. Pero por otra parte, el análisis basado en las diferentes agrupaciones nos sirve para asociarlo a trabajos realizados en cuanto a efectos de la salud ocular, tal es así que la distribución presente en la población U es muy similar a la reportada por pacientes sanos (Joffre et al. 2008; Souchier et al. 2008), mientras que la población de la zona I presenta un perfil diferenciado.

Luego, mediante el análisis multivariado de las alteraciones oculares se encontró que la incidencia de ojo seco presenta diferencias significativas entre ambas zonas cuando se la diagnostica por los dos criterios objetivos CRT 1 y CRT 2 ($p < 0,005$ en ambos casos), y no así cuando se la diagnostica con los criterios subjetivos (OSDI y MM) con valores $p > 0,25$ para ambos cuestionarios. Dado que se observa una mejor separación de los individuos con el ACP 2, el cual a su vez presentó un 51,47% de la información, se concluye que de los criterios objetivos el CRT 2 es más sensible para el diagnóstico del ojo seco. Este incremento en la incidencia de ojo seco, coincide con el aumento que ha existido en los últimos años de personas que padecen afecciones oculares en ciudades con alta contaminación aérea, en donde resultó ser una de las consultas más frecuentes en los hospitales públicos (García-Ubaque et al., 2011). Esta patología multifactorial altera la estabilidad lagrimal, desencadenando un daño epitelial que conduce a la liberación de mediadores de inflamación en la lágrima (Baudouin, 2001). Este esquema de Baudouin incluye factores de riesgo o causas conocidas de ojo seco que llevan a una serie de cascadas biológicas secundarias, que causan la ruptura de la película y afectan a la superficie ocular, generando un círculo vicioso. A pesar de lo atractivo de este modelo, se propone también otro esquema centrado en los mecanismos biológicos de esta patología, los cuales están gobernados por la hiperosmolaridad y la inestabilidad lagrimal, ya que pueden iniciar, amplificar, y potencialmente cambiar el carácter del ojo seco en el tiempo (DEWS 2007a),

aunque la inestabilidad lagrimal puede ser un evento desencadenante que no esté relacionado con la hiperosmolaridad. En este sentido estudios recientes han encontrado una asociación positiva significativa entre la exposición a la contaminación del aire y la hiperplasia de células caliciformes en conjuntiva humana (Novaes et al. 2007), como así también se encontraron asociaciones entre la densidad de las células de goblet (CG) y los niveles MUC5AC mRNA, y los niveles de MP_{2.5}, apoyando la hipótesis de que se producen cambios en la superficie ocular en respuesta a la contaminación del aire (Torricelli et al. 2014). Por esto, la mayor incidencia del ojo seco encontrada en este estudio podría estar relacionada a cambios en el mismo sentido que los estudios antes mencionados, en donde la contaminación aérea modifica la estabilidad lagrimal y esto lleva aparejado un ojo seco.

Por último, se realizó un análisis multivariado de componentes principales entre las variables del segmento anterior que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las dos poblaciones estudiadas. De este análisis, se obtiene que el plano principal capta un 48,06% de la información, y como puede verse en la Fig. 3 del capítulo 7, los individuos quedan claramente separados en el sentido horizontal. Por ello, en base a los componentes que se mueven en estas direcciones es que se realizó la construcción del índice de afección ocular (IAO). Se tomaron las cargas que presentaban las variables estandarizadas de Schirmer, tinción conjuntival con fluoresceína y verde lisamina, como los coeficientes para el cálculo.

$$IAO = 0,58301 * (Schirmer - \mu/DS) - 0,76810 * (Tinc. Conj. Fluo - \mu/DS) - 0,74542 * (Verde lisamina - \mu/DS)$$

Para obtener un valor de corte que permita evaluar en forma sencilla la afectación del sistema ocular se determinaron los valores límites para IAO, obteniéndose un valor de corte en 0,71. De esta forma se tienen en cuenta las diferentes posibilidades de superación de los valores normales de las diferentes variables. Este límite nos permite caracterizar a nuestro índice en: sin afección

ocular, cuando los valores arrojados por el mismo superen a 0,71 y con afección cuando sean igual o menor a este valor.

Bajo esta premisa analizamos la distribución de ambas poblaciones, existiendo casi la totalidad de la población I con algún tipo de afección ocular (88,2 %) mientras que sólo el 48,9 % presentaba afección en la zona U. Estos resultados coinciden con el mayor número de incidencia de ojo seco que tiene la población I (Tabla 3 del capítulo 7), donde por cualquiera de los criterios objetivos utilizados para su diagnóstico, se obtuvieron porcentajes más altos.

Por otra parte, entendemos a este índice propuesto como una herramienta más a la hora de testear la salud ocular en poblaciones con diferentes calidades de aire, así como también se podría utilizar en la práctica de la contactología o la clínica optométrica, aunque aún es necesario validarlo en un estudio con un mayor número de individuos. A su vez, en caso de ser utilizado en otra zona por fuera de las estudiadas en esta tesis, deberían obtenerse los valores regionales para ajustar el IAO.

Por último esperamos que esta tesis, no solo aporte herramientas para la determinación de los efectos que produce la contaminación en la salud de poblaciones expuestas, sino que también sirva como documento para el fortalecimiento de la justicia ambiental con miras a una soberanía ambiental de la población.

Bibliografía

- AAIBA, (2003). Actualidades en Asma, Alergia e Inmunología Multidisciplinario. In Asma , Alergia e Inmunología, in: Asociación de Alergia, Asma E Inmunología de Buenos Aires.
- Adar, S.D., Kaufman, J.D., (2007). Cardiovascular Disease and Air Pollutants: Evaluating and Improving Epidemiological Data Implicating Traffic Exposure. *Inhalation Toxicology* 19, 135-149. doi:doi:10.1080/08958370701496012
- Albert, D.M., Jakobiec, F.A., (1994). Principles and practice of ophthalmology: clinical practice, Volume 1. Saunders.
- Albietz, J.M., (2000). Prevalence of dry eye subtypes in clinical optometry practice. *Optom Vis Sci* 77, 357-363. doi:00006324-200007000-00010 [pii]
- Al-rawashdeh R, Jaradat AQ, Al-shboul M (2014). Air Pollution and Economic Growth in MENA Countries : Testing EKC Hypothesis. 4:54-65. doi:http://dx.doi.org/10.5755/j01.erem.70.4.7743
- Altshuller, A.P., (1977). Eye Irritation as an Effect of Photochemical Air Pollution. *Journal of the Air Pollution Control Association* 27, 1125-1126. doi:10.1080/00022470.1977.10470538
- American Academy of Ophthalmology - AAO, (2012). Enfermedades de superficie ocular y córnea. 2011-2012: Sección 8. Elsevier España.
- Andrés, S., García, M.L., Espina, M., Valero, J., Valls, O., (1988). Tear pH, air pollution, and contact lenses. *American journal of optometry and physiological optics* 65, 627-631. doi:10.1097/00006324-198808000-00006
- Avunduk, A.M., Beuerman, R.W., Warnel, E.D., Kaufman, H.E., Greer, D., (2003). Comparison of efficacy of topical and oral fluconazole treatment in experimental *Aspergillus* keratitis. *Current eye research* 26, 113-7.

- Baldauf, R.W., Lane, D.D., Marotz, G.A., Wiener, R.W., (2001). Performance evaluation of the portable MiniVOL particulate matter sampler. *Atmospheric Environment* 35, 6087–6091. doi:10.1016/S1352-2310(01)00403-4
- Ballow, M., Donshik, P.C., Rapacz, P., Samartino, L., (1987). Tear Lactoferrin Levels in Patients With External Inflammatory Ocular Disease 1986–1988.
- Barrera, M. del P., Pinilla, A.E., Cortés, É., Mora, G., Rodríguez, M.N., (2008). Síndrome metabólico: una mirada interdisciplinaria . *Revista Colombiana de Cardiología* .
- Barrero J (2011) Película lacrimal: bioquímica y fisiología. In: *Revista Facultad de Medicina*. <http://www.bdigital.unal.edu.co/24740/1/21947-75272-1-PB.PDF>.
- Barrios Casas, S., Peña-Cortés, F., Osses Bustingorry, S., (2004). Efectos de la contaminación atmosférica por material particulado en las enfermedades respiratorias agudas en menores de 5 años. *Ciencia y enfermería* 10, 21–29. doi:10.4067/S0717-95532004000200004
- Baudouin, C., (2001). The pathology of dry eye. *Survey of Ophthalmology* 45 Suppl 2, S211–20.
- Becker S, Mundandhara S, Devlin RB, Madden M (2005). Regulation of cytokine production in human alveolar macrophages and airway epithelial cells in response to ambient air pollution particles: Further mechanistic studies. *Toxicology and Applied Pharmacology* 207:269–275. doi: 10.1016/j.taap.2005.01.023
- Begley, C.G., Chalmers, R.L., Abetz, L., Venkataraman, K., Mertzanis, P., Caffery, B.A., Snyder, C., Edrington, T., Nelson, D., Simpson, T., (2003). The Relationship between Habitual Patient-Reported Symptoms and Clinical Signs among Patients with Dry Eye of Varying Severity. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 44, 4753–4761. doi:10.1167/iovs.03-0270
- Bello Rodríguez, B., Sánchez Cruz, G., Ferreira Pinto, A.C., Báez Pérez, E.G., Fernández Morín, J., Achiong Estupiñan, F., (2012). Síndrome Metabólico: un problema de salud con múltiples definiciones . *Revista Médica Electrónica* .
- Bilos, C., Colombo, J.C., Skorupka, C.N., Rodriguez Presa, M.J., (2001). Sources, distribution and variability of airborne trace metals in La Plata City area, Argentina. *Environmental Pollution* 111, 149–158. doi:10.1016/S0269-7491(99)00328-0
- Blehm, C., Vishnu, S., Khattak, A., Mitra, S., Yee, R.W., (2005). Computer vision syndrome: a review. *Survey of ophthalmology* 50, 253–62. doi:10.1016/j.survophthal.2005.02.008
- Bogo, H., Otero, M., Castro, P., Ozafrán, M.J., Kreiner, A., Calvo, E.J., Negri, R.M., (2003). Study of atmospheric particulate matter in Buenos Aires city. *Atmospheric Environment* 37, 1135–1147. doi:10.1016/s1352-2310(02)00977-9
- Bradford, M.M., (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248–254. doi:http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Brauer M, Hoek G, Van Vliet P, et al (2002). Air pollution from traffic and the development of respiratory infections and asthmatic and allergic symptoms in children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 166:1092–1098. doi: 10.1164/rccm.200108-0070C
- Bron, A.J., Benjamin, L., Snibson, G.R., (1991). Meibomian gland disease. Classification and grading of lid changes. *Eye (London, England)* 5 (Pt 4), 395–411.

doi:10.1038/eye.1991.65

- Bron, A.J., (1997). Reflections on the tears. *Eye* 11, 583–602.
- Bron AJ, Evans VE, Smith JA (2003). Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* 22:640–650. doi: 10.1097/00003226-200310000-00008.
- Brook, R.D., Brook, J.R., Urch, B., Vincent, R., Rajagopalan, S., Silverman, F., (2002). Inhalation of fine particulate air pollution and ozone causes acute arterial vasoconstriction in healthy adults. *Circulation* 105, 1534–1536. doi:10.1161/01.CIR.0000013838.94747.64
- Brook, R.D., Rajagopalan, S., Pope III, C.A., Brook, J.R., Bhatnagar, A., Diez-Roux, A. V, Holguin, F., Hong, Y., Luepker, R. V, Mittleman, M.A., Peters, A., Siscovick, D., Smith Jr, S.C., Whitsel, L., Kaufman, J.D., Epidemiology, on behalf of the A.H.A.C. on, Prevention, C. on the K. in C.D., Council on Nutrition, P.A., Metabolism, (2010). Particulate Matter Air Pollution and Cardiovascular Disease: An Update to the Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 121, 2331–2378. doi:10.1161/CIR.0b013e3181d8e1
- Brüske, I., Hampel, R., Baumgärtner, Z., Rückerl, R., Greven, S., Koenig, W., Peters, A., Schneider, A., (2011). Ambient air pollution and lipoprotein-associated phospholipase A₂ in survivors of myocardial infarction. *Environmental health perspectives* 119, 921–926. doi:10.1289/ehp.1002681
- Caffery, B., Joyce, E., Boone, A., Slomovic, A., Simpson, T., Jones, L., Senchyna, M., (2008). Tear lipocalin and lysozyme in Sjogren and non-Sjogren dry eye. *Optom Vis Sci* 85, 661–667. doi:10.1097/OPX.0b013e318181ae4f00006324-200808000-00010 [pii]
- Calidad del aire en tiempo real [WWW Document], n.d. URL http://www.quepasabahiablanca.gov.ar/tiempo_real/calidad_de_aire/
- Carreras, H. a., Pignata, M.L., Saldiva, P.H.N., (2006). In situ monitoring of urban air in Córdoba, Argentina using the Tradescantia-micronucleus (Trad-MCN) bioassay. *Atmospheric Environment* 40, 7824–7830. doi:10.1016/j.atmosenv.2006.07.031
- Chakraborty J, Green D (2014) The relationship between industrial air pollution and social disadvantage in Australia : national and regional inequities. 48:35–39.
- Cianni, N., Aguilar, M., Massolo, L., Carballeda, A., Barberena, M., Martín, M., Chiapperini, V., Céspedes, M., Busi, L., Wichmann, F., González, H., Porta, A., (2006). Contaminación del aire en La Plata y alrededores: Factores de riesgo y patologías respiratorias en niños / La Plata's air pollution: Risk factors and respiratory pathologies in children. *Acta Toxicol. Argent* 14(supl), 13–16.
- Cianni, N., Aguilar, M., Massolo, L., Colman, E., Müller, A., Matamoros, N., Schlink, U., Wichmann, F., Porta, A., (2009). Calidad del aire en zonas urbana e industrial y patología respiratoria en niños. Mesa redonda en I Congreso Internacional de Toxicología de La Infancia y La Adolescencia. XVI Congreso Argentino de Toxicología. 24 al 27 de Junio de 2009, Puerto Madryn, Patagonia Argentina.
- Cobos, M.L. de, Ruiz, R.S.J., (2010). Enfermedades de la conjuntiva. *Culturalibros*.
- Colman Lerner, J.E., Morales, A., Aguilar, M., Giuliani, D., Orte, M., Gutiérrez, M., Ditondo, J., Doderó, V., Massolo, L., Sánchez, E., Matamoros, N., Porta, A., (2013). Air pollution and health effects on children. Comparative study between La Plata and Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina, in: Libro de Memorias Del IV Congreso Colombiano Y Conferencia Internacional de Calidad Del Aire Y Salud Pública

(CASAP IV). pp. 223–232.

- Colman Lerner, J.E., Kohajda, T., Aguilar, M., Massolo, L., Sánchez, E., Porta, A., Opitz, P., Wichmann, G., Herbarth, O., Mueller, A., (2014). Improvement of health risk factors after reduction of VOC concentrations in industrial and urban areas. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 9676–9688. doi:10.1007/s11356-014-2904-x
- Copeland, J.R., Lamberts, D.W., Holly, F.J., (1982). Investigation of the accuracy of tear lysozyme determination by the Quantiplate method. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22, 103–110.
- Datos diarios de monitoreo de la calidad del aire [WWW Document], n.d. URL http://www.buenosaires.gob.ar/agenciaambiental/monitoreoambiental/calidad_aire
- DEWS (2007a) The Definition and Classification of Dry Eye Disease : Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International DEWS. *The Ocular Surface* 5:75–92. doi: 10.1016/S1542-0124(12)70081-2
- DEWS (2007b) DEWS Diagnostic Methodology.Methodologies to Diagnose and Monitor Dry Eye Disease : Report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye Work Shop Subcommittee of the International Dry Eye Work Shop. 5:1 08 –1 5 2.
- Dougherty, J.M., McCulley, J.P., (1986). Analysis of the free fatty acid component of meibomian secretions in chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27, 52–56.
- Doughty, M.J., Fonn, D., Richter, D., Simpson, T., Caffery, B., Gordon, K., (1997). A patient questionnaire approach to estimating the prevalence of dry eye symptoms in patients presenting to optometric practices across Canada. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 74, 624–31.
- Doughty, M.J., Laiquzzaman, M., Oblak, E., Button, N., (2002). The tear (lacrimal) meniscus height in human eyes: a useful clinical measure or an unusable variable sign? *Contact Lens and Anterior Eye* 25, 57–65. doi:10.1016/s1367-0484(01)00005-4
- Dubowsky, S.D., Suh, H., Schwartz, J., Coull, B.A., Gold, D.R., (2006). Diabetes, Obesity, and Hypertension May Enhance Associations between Air Pollution and Markers of Systemic Inflammation. *Environmental Health Perspectives* 114, 992–998. doi:10.1289/ehp.8469
- Efron N (2000) Efron Grading Scales for Contact Lens Complications.
- Ellegård, A., (1997). Tears while Cooking: An Indicator of Indoor Air Pollution and Related Health Effects in Developing Countries. *Environmental Research* 75, 12–22. doi:10.1006/enrs.1997.3771
- Eze, I.C., Schaffner, E., Fischer, E., Schikowski, T., Adam, M., Imboden, M., Tsai, M., Carballo, D., von Eckardstein, A., Künzli, N., Schindler, C., Probst-Hensch, N., (2014). Long-term air pollution exposure and diabetes in a population-based Swiss cohort. *Environment International* 70, 95–105. doi:10.1016/j.envint.2014.05.014
- Faccia PA (2014) Técnicas de iluminación. In: *Exploración con biomicroscopio ocular. Tecnicas y protocolo de intervención.* pp 38–93
- Floyd, A.M., Zhou, X., Evans, C., Rompala, O.J., Zhu, L., Wang, M., Chen, Y., (2012). Mucin deficiency causes functional and structural changes of the ocular surface. *PLoS one* 7, e50704. doi:10.1371/journal.pone.0050704
- Franck, C., Bach, E., Skov, P., 1993. Prevalence of objective eye manifestations in people

working in office buildings with different prevalences of the sick building syndrome compared with the general population. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 65, 65–69. doi:10.1007/BF00586061

- Fuks, K.B., Weinmayr, G., Foraster, M., Dratva, J., Hampel, R., Houthuijs, D., Oftedal, B., Oudin, A., Panasevich, S., Penell, J., Sommar, J.N., Sørensen, M., Tiittanen, P., Wolf, K., Xun, W.W., Aguilera, I., Basagaña, X., Beelen, R., Bots, M.L., Brunekreef, B., Bueno-de-Mesquita, H.B., Caracciolo, B., Cirach, M., de Faire, U., de Nazelle, A., Eeftens, M., Elosua, R., Erbel, R., Forsberg, B., Fratiglioni, L., Gaspoz, J.-M., Hilding, A., Jula, A., Korek, M., Krämer, U., Künzli, N., Lanki, T., Leander, K., Magnusson, P.K.E., Marrugat, J., Nieuwenhuijsen, M.J., Ostenson, C.-G., Pedersen, N.L., Pershagen, G., Phuleria, H.C., Probst-Hensch, N.M., Raaschou-Nielsen, O., Schaffner, E., Schikowski, T., Schindler, C., Schwarze, P.E., Sjøgaard, A.J., Sugiri, D., Swart, W.J.R., Tsai, M.-Y., Turunen, A.W., Vineis, P., Peters, A., Hoffmann, B., (2014). Arterial Blood Pressure and Long-Term Exposure to Traffic-Related Air Pollution: An Analysis in the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE). *Environmental health perspectives* 896, 896–906. doi:10.1289/ehp.1307725
- Gachon, A.M., Verrelle, P., Betail, G., Dastugue, B., (1979). Immunological and electrophoretic studies of human tear proteins. *Experimental eye research* 29, 539–53.
- Gallardo, L., Escribano, J., Dawidowski, L., Rojas, N., de Fátima Andrade, M., Osses, M., (2012). Evaluation of vehicle emission inventories for carbon monoxide and nitrogen oxides for Bogotá, Buenos Aires, Santiago, and São Paulo. *Atmospheric Environment* 47, 12–19. doi:10.1016/j.atmosenv.2011.11.051
- Gálvez Tello, J.F., Lou Royo, M.J., Andreu Yela, E., (1998). Ojo seco: diagnóstico y tratamiento, mspsi.gob.es.
- García-Ubaque, J.C., Garcia-Ubaque, C. a., Vaca-Bohórquez, M.L., (2011). Medical consultation in productive age population related with air pollution levels in Bogota city. *Procedia Environmental Sciences* 4, 165–169. doi:10.1016/j.proenv.2011.03.020
- Gilbard, J.P., Farris, R.L., (1979). Tear osmolarity and ocular surface disease in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 97, 1642–1646.
- Gilbard, J.P., Farris, R.L., (1983). Ocular surface drying and tear film osmolarity in thyroid eye disease. *Acta ophthalmologica* 61, 108–16.
- Gilbard, J.P., Gray, K.L., Rossi, S.R., (1987). Improved technique for storage of tear microvolumes. *Investigative ophthalmology & visual science* 28, 401–3.
- Gilbard, J.P., Rossi, S.R., Heyda, K.G., Dartt, D. a, (1990). Stimulation of tear secretion by topical agents that increase cyclic nucleotide levels. *Investigative ophthalmology & visual science* 31, 1381–8.
- Gilbard, J.P., Rossi, S.R., Heyda, K.G., Dartt, D. a, (1991). Stimulation of tear secretion and treatment of dry-eye disease with 3-isobutyl-1-methylxanthine. *Archives of ophthalmology* 109, 672–6.
- Gioda, A., Sales, J.A., Cavalcanti, P.M.S., Maia, M.F., Maia, L.F.P.G., Aquino Neto, F.R., (2004). Evaluation of air quality in Volta Redonda, the main metallurgical industrial city in Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 15, 856–864.
- Gipson, I.K., Hori, Y., Argüeso, P., (2004). Character of Ocular Surface Mucins and Their Alteration in Dry Eye Disease. *The Ocular Surface* 2, 131–148. doi:10.1016/S1542-0124(12)70149-0

- Gipson, I.K., (2007). The ocular surface: The challenge to Enable and Protect Vision 48, 4390–4398. doi:10.1167/iovs.07-0770.The
- Glasson, M.J., Stapleton, F., Keay, L., Willcox, M.D.P., (2006). The effect of short term contact lens wear on the tear film and ocular surface characteristics of tolerant and intolerant wearers. *Contact lens & anterior eye: the journal of the British Contact Lens Association* 29, 41–7; quiz 49. doi:10.1016/j.clae.2005.12.006
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J., David, M.M., (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *The Journal of Biological Chemistry* 177, 751–766.
- Goto, T., Zheng, X., Klyce, S.D., Kataoka, H., Uno, T., Karon, M., Tatematsu, Y., Bessyo, T., Tsubota, K., Ohashi, Y., (2003). A new method for tear film stability analysis using videokeratography. *Am J Ophthalmol* 135, 607–612. doi:S0002939402022213 [pii]
- Guerrero Vargas, J.J., (2006). *Optometría clínica*. Universidad Santo Tomás.
- Guillon, J.P., (1982). Tear film photography and contact lens wear. *Journal of The British Contact Lens Association* 5, 84–87. doi:10.1016/S0141-7037(82)80022-0
- Guillon, J.P. (1998). Non-invasive Tearscope Plus routine for contact lens fitting. *Cont Lens Anterior Eye* 21 Suppl 1:S31–40. doi: S1367-0484(98)80035-0 [pii]
- Gulati, A., Sullivan, R., Buring, J.E., Sullivan, D.A., Dana, R., Schaumberg, D.A., (2006). Validation and repeatability of a short questionnaire for dry eye syndrome. *American journal of ophthalmology* 142, 125–131. doi:10.1016/j.ajo.2006.02.038
- Gupta, S.K., Gupta, S.C., Agarwal, R., Sushma, S., Agrawal, S.S., Saxena, R., (2007). A multicentric case-control study on the impact of air pollution on eyes in a metropolitan city of India. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine* 11, 37–40.
- Gutiérrez, M., Sedan, D., Serradell, M., Delaplace, L., Porta, A., Andrinolo, D., (2013). Changes in the composition tear because of the air pollution by material particles in la plata and around, in: *Libro de Memorias Del IV Congreso Colombiano Y Conferencia Internacional de Calidad Del Aire Y Salud Pública (CASAP IV)*. pp. 459–464.
- Guzmán, A., Hernandez, M., Martinez, M., Martinez, M., Noguera, C., (2007). *Comisión de Oftalmología*.
- Harrison, R.M., Yin, J., (2000). Particulate matter in the atmosphere: Which particle properties are important for its effects on health? *Science of the Total Environment*. doi:10.1016/S0048-9697(99)00513-6
- Hart, J.E., Rimm, E.B., Rexrode, K.M., Laden, F., (2013). Changes in traffic exposure and the risk of incident myocardial infarction and all-cause mortality. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)* 24, 734–42. doi:10.1097/EDE.0b013e31829d5dae
- Hoek, G., Brunekreef, B., Goldbohm, S., Fischer, P., van den Brandt, P.A., (2002). Association between mortality and indicators of traffic-related air pollution in the Netherlands: a cohort study. *The Lancet* 360, 1203–1209. doi:10.1016/s0140-6736(02)11280-3
- Höh, H., Schirra, F., Kienecker, C., Ruprecht, K.W., (1995). Lid-parallel conjunctival folds are a sure diagnostic sign of dry eye. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft* 92, 802–808.
- Holly, F. J., (1985). Physical chemistry of the normal and disordered tear film. *Trans Ophthalmol Soc U K* 104 (Pt 4, 374–380.

- Hom, M.M., (1997). Manual of contact lens prescribing and fitting. Butterworth-Heinemann, Boston.
- Hornillos, J.A.C., Dacasa, A.G., (1992). Oftalmología II. Ed. Universidad de Cantabria.
- IARC- International Agency for Research on Cancer, (n.d.). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Outdoor air pollution. Lyon, France.
- Ichihara, K., Fukubayashi, Y., (2010). Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *Journal of lipid research* 51, 635–640. doi:10.1194/jlr.D001065
- Ine-Sermanat, (2005). Guía de elaboración y usos de inventarios de emisiones.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos -INDEC, (2011). Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2010.
- Jensen, S.S., (1998). Mapping human exposure to traffic air pollution using GIS. *Journal of Hazardous Materials* 61, 385–392. doi:10.1016/s0304-3894(98)00139-3
- Joffre, C., Souchier, M., Grégoire, S., Viau, S., Bretillon, L., Acar, N., Bron, A.M., Creuzot-Garcher, C., (2008). Differences in meibomian fatty acid composition in patients with meibomian gland dysfunction and aqueous-deficient dry eye. *The British journal of ophthalmology* 92, 116–9. doi:10.1136/bjo.2007.126144
- Kercheval, D.B., Terry, J.E., (1977). Essentials of slit lamp biomicroscopy. *Journal of the American Optometric Association* 48, 1383–9.
- Kijlstra, A., Kuizenga, A., van der Velde, M., van Haeringen, N.J., (1989). Gel electrophoresis of human tears reveals various forms of tear lactoferrin. *Curr Eye Res* 8, 581–588.
- Klein, R., Klein, B.E.K., Knudtson, M.D., Wong, T.Y., Cotch, M.F., Liu, K., Burke, G., Saad, M.F., Jacobs, D.R., (2006). Prevalence of age-related macular degeneration in 4 racial/ethnic groups in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Ophthalmology* 113, 373–80. doi:10.1016/j.ophtha.2005.12.013
- Kok, A., Yassi, T., Kjellström, T., Guidotti, L., (2009). Salud Ambiental Básica, Organización Mundial De La Salud.
- Korb, D.R., Henriquez, A.S., (1980). Meibomian gland dysfunction and contact lens intolerance. *J Am Optom Assoc* 51, 243–251.
- Korb, D.R., British Contact Lens Association., (2002). The tear film : structure, function, and clinical examination. Butterworth-Heinemann, Oxford ; Boston.
- Krewski, D., Jerrett, M., Burnett, R.T., Ma, R., Hughes, E., Shi, Y., Turner, M.C., Pope, C.A., Thurston, G., Calle, E.E., Thun, M.J., Beckerman, B., DeLuca, P., Finkelstein, N., Ito, K., Moore, D.K., Newbold, K.B., Ramsay, T., Ross, Z., Shin, H., Tempalski, B., (2009). Extended follow-up and spatial analysis of the American Cancer Society study linking particulate air pollution and mortality. *Research report (Health Effects Institute)* 5–114; discussion 115–136.
- Kruse, E., Sarandón, R., Schnack, E., Del Cogliano, D., Ainchil, J., Bagu, D., Baldello, G., Besteiro, S.I., Carol, E., Carretero, S., Charó, M.P., Delgado, M.I., Deluchi, M., D'Onofrio, E., Fiore, M., Fucks, E., Gaspari, F.J., Gaviño Novillo, M., Gómez, M.E., Guerrero Borges, V., Laurencena, P., Mendoza, L., Natale, P., Nuccetelli, G., Perdomo, R., Perdomo, S., Pisano, M.F., Pousa, J., Richter, A., Rodríguez Capítulo, L., Rodríguez Vagaría, A., Ruiz, M.S., (2011). El cambio climático y las condiciones ambientales en los Partidos de La Plata, Berisso y Ensenada, Provincia de Buenos Aires: aspectos preliminares. III Congreso Internacional sobre Cambio Climático y Desarrollo Sustentable, 8 al 11 de agosto de 2011, La Plata, Argentina 9.

- Kuizenga, A., Stolwijk, T.R., van Agtmaal, E.J., van Haeringen, N.J., Kijlstra, A., (1990). Detection of secretory IgM in tears of IgA deficient individuals. *Curr Eye Res* 9, 997–1005.
- Kuizenga, A., van Haeringen, N.J., Kijlstra, A., (1991). Identification of lectin binding proteins in human tears. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32, 3277–3284.
- Kuizenga, A., Van Haeringen, N.J., Kijlstra, A., (1991). SDS-Minigel electrophoresis of human tears: Effect of sample treatment on protein patterns. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 32, 381–386.
- Kuizenga, A., van Haeringen, N.J., Meijer, F., Kijlstra, A., (1996). Analysis of human tear fluid components, inhibiting protein adhesion to plastic surfaces. *Experimental eye research* 63, 319–328. doi:10.1006/exer.1996.0121
- Laemmli, U.K., (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680–685.
- Lam, K., Brownstein, S., DR, J., Jastrzebski, A., (2013). Dacryops: A series of 5 cases and a proposed pathogenesis. *JAMA Ophthalmology* 131, 929–932.
- Lam, S.M., Tong, L., Duan, X., Petznick, A., Wenk, M.R., Shui, G., (2014). Extensive characterization of human tear fluid collected using different techniques unravels the presence of novel lipid amphiphiles. *Journal of lipid research* 55, 289–98. doi:10.1194/jlr.M044826
- Lamaisón, M.J., (2014). *Petroquímica General Mosconi, una historia de trabajo, privatización y resistencia.*
- Lemp, M.A., (1995). Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eye. *CLAO* 21, 221–232.
- Lenth, R. V., (n.d.) *Java Applets for Power and Sample Size [Computer software].*
- Li, N., Wang, N., Zheng, J., Liu, X.M., Lever, O.W., Erickson, P.M., Li, L., (2005). Characterization of human tear proteome using multiple proteomic analysis techniques. *J Proteome Res* 4, 2052–2061. doi:10.1021/pr0501970
- Liao, D., Creason, J., Shy, C., Williams, R., Watts, R., Zweidinger, R., (1999). Daily variation of particulate air pollution and poor cardiac autonomic control in the elderly. *Environmental Health Perspectives* 107, 521–525.
- Lijteroff, R., Cortinez, V., Raba, J., (1999). Urban Development and Air Quality in San Luis City, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment* 57, 169–182. doi:10.1023/A:1005907307177
- Lin, P.-Y., Tsai, S.-Y., Cheng, C.-Y., Liu, J.-H., Chou, P., Hsu, W.-M., (2003). Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai Eye Study. *Ophthalmology* 110, 1096–101. doi:10.1016/S0161-6420(03)00262-8
- Liotet, S., Van Bijsterveld, O.P., Kogbe, O., Laroche, L., (1987). A new hypothesis on tear film stability. *Ophthalmologica* 195, 119–124.
- Loomis, D., Grosse, Y., Lauby-Secretan, B., Ghissassi, F. El, Bouvard, V., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Baan, R., Mattock, H., Straif, K., (2013). The carcinogenicity of outdoor air pollution. *The Lancet Oncology* 14, 1262–1263. doi:10.1016/S1470-2045(13)70487-X
- López García, J.S., García Lozano, I., Smaranda, A., Martínez Garchitorena, J., (2005). Estudio comparativo del test de Schirmer y BUT en relación con la etiología y gravedad del ojo seco. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología* 80, 289–296.

- López-Jaramilloa, Patricio Sánchez, R.A., Díaz, M., Cobos, L., Alfonso, B., Parra-Carrillo, J.Z.L.F., Lanash, F., Sinay, I., Sierra, I.D., Penaherrera, Benderkyl, M., Schmid, H., Botero, R., Urina, M., Joffre Larap, Milton C. Foose, Gustavo Márquez, Stephen Harraps, A.J.R. y A.Z., (2013). Consenso latinoamericano de hipertensión en pacientes con diabetes tipo 2 y síndrome metabólico * Latin american consensus of hypertension in patients with type 2 diabetes and metabolic syndrome 26. doi:10.1016/j.arteri.2013.11.008
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, L., Randall, R., (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275. doi:10.1016/0304-3894(92)87011-4
- Lozato PA, Pisella PJ, Baudouin C (2001) Fase lipídica.
- Magnani, N.D., Marchini, T., Tasat, D.R., Alvarez, S., Evelson, P.A., (2011). Lung oxidative metabolism after exposure to ambient particles. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 412, 667–672. doi:10.1016/j.bbrc.2011.08.021
- Maheswaran, R., Elliott, P., (2003). Stroke mortality associated with living near main roads in England and Wales: a geographical study. *Stroke; a journal of cerebral circulation* 34, 2776–80. doi:10.1161/01.STR.0000101750.77547.11
- Mainstone, J.C., Bruce, A.S., Golding, T.R., (1996). Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Current eye research* 15, 653–661. doi:10.1016/0892-8967(96)88967-X
- Malerbi, F.K., Martins, L.C., Saldiva, P.H.N., Braga, A.L.F., (2012). Ambient levels of air pollution induce clinical worsening of blepharitis. *Environmental Research* 112, 199–203. doi:10.1016/j.envres.2011.11.010
- Mangione, C.M., Lee, P.P., Pitts, J., Al, E., (1998). Psychometric properties of the national eye institute visual function questionnaire (nei-vfq). *Archives of Ophthalmology* 116, 1496–1504.
- Martinez Ataz, E., (2004). Contaminación atmosférica.
- Massolo, L., Muller, A., Tueros, M., Rehwagen, M., Franck, U., Ronco, A., Herbarth, O., (2002). Assessment of mutagenicity and toxicity of different-size fractions of air particulates from La Plata, Argentina, and Leipzig, Germany. *Environ Toxicol* 17, 219–231. doi:10.1002/tox.10054
- Massolo, L.A., (2004). Exposición a contaminantes atmosféricos y factores de riesgo asociados a la calidad de aire en La Plata y alrededores.
- Massolo, L., Müller, a, Herbarth, O., Ronco, A., Porta, A., (2008). Contaminación atmosférica y salud infantil en áreas urbanas e industriales de La Plata, Argentina / Air pollution and children's health in urban and industrial areas of La Plata, Argentina. *Acta bioquím. clín. latinoam* 42, 567–574.
- Massolo, L., Rehwagen, M., Porta, A., Ronco, A., Herbarth, O., Mueller, A., (2010). Indoor-outdoor distribution and risk assessment of volatile organic compounds in the atmosphere of industrial and urban areas. *Environmental Toxicology* 25, 339–349. doi:10.1002/tox.20504
- Matejíček, L., Engst, P., Janour, Z., (2006). A GIS-based approach to spatio-temporal analysis of environmental pollution in urban areas: A case study of Prague's environment extended by LIDAR data. *Ecological Modelling* 199, 261–277. doi:10.1016/j.ecolmodel.2006.05.018
- Mayorga, M.T., (2009). Estabilidad De La Película Lagrimal Precorneal. *Ciencia & Tecnología para la SALud Visual y Ocular* 7, 141–156.

- Mayorga, M.T., (2010). Diferencias en la variación del hebrecho lagrimal con el uso de lentes de contacto de hidrogel y de hidrogel de silicona 8, 73-79.
- Mccarty, C. a, Stanislausky, Y.L., Bansal, A.K., Livingston, P.M., Taylor, H.R., (n.d.) The Epidemiology of Dry Eye in 1114-1119.
- McMonnies, C.W., (1986). Key questions in a dry eye history. *J Am Optom Assoc* 57, 512-517.
- McMonnies, C., Ho, A., Wakefield, D., (1998). Optimum dry eye classification using questionnaire responses. *Adv Exp Med Biol* 438, 835-838.
- Mertzanis, P., Abetz, L., Rajagopalan, K., Espindle, D., Chalmers, R., Snyder, C., Caffery, B., Edrington, T., Simpson, T., Nelson, J.D., Begley, C., (2005). The relative burden of dry eye in patients' lives: Comparisons to a U.S. normative sample. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 46, 46-50. doi:10.1167/iovs.03-0915
- Milder, B., Weil, B.A., (1983). *The Lacrimal System*. Appleton-Century-Crofts.
- Ministerio del Medio Ambiente [WWW Document], (n.d.). URL <http://portal.mma.gob.cl/pronostico-rm/>
- Mishima, S., Gasset, A., Klyce Jr., S.D., Baum, J.L., (1966). Determination of tear volume and tear flow. *Invest Ophthalmol* 5, 264-276.
- Mitsubayashi, K., Ogasawara, K., Yokoyama, K., Takeuchi, T., Tsuru, T., Karube, I., (1995). Measurement of tear electrolyte concentration and turnover rate using a flexible conductimetric sensor. *Technology and health care: official journal of the European Society for Engineering and Medicine* 3, 117-121.
- Miyawaki, S., Nishiyama, S., (1995). [Classification criteria for Sjogren's syndrome--sensitivity and specificity of criteria of the Japanese Ministry of Health and Welfare (1977) and criteria of European community (1993)]. *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine* 53, 2371-2375.
- Moen, B.E., Norbäck, D., Wieslander, G., Bakke, J. V, Magerøy, N., Granslo, J.T., Irgens, a, Bråtveit, M., Hollund, B.E., Aasen, T., (2011). Can air pollution affect tear film stability? A cross-sectional study in the aftermath of an explosion accident. *BMC public health* 11, 235. doi:10.1186/1471-2458-11-235
- Morales, R.G.E., (2006). *Contaminación atmosférica urbana. Episodios críticos de contaminación ambiental en la ciudad de Santiago*. Editorial Universitaria SA, Santiago de Chile.
- Moss, S.E., Klein, R., Klein, B.K., (2000). Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. *Archives of Ophthalmology* 118, 1264-1268.
- Mostafavi, N., Vlaanderen, J., Chadeau-Hyam, M., Beelen, R., Modig, L., Palli, D., Bergdahl, I.A., Vineis, P., Hoek, G., Kyrtopoulos, S.A., Vermeulen, R., (2015). Inflammatory markers in relation to long-term air pollution. *Environment international* 81, 1-7. doi:10.1016/j.envint.2015.04.003
- Muller, A., Wichmann, G., Massolo, L., Rehwagen, M., Grabsch, C., Loffhagen, N., Herbarth, O., Ronco, A., (2006). Cytotoxicity and oxidative stress caused by chemicals adsorbed on particulate matter. *Environ Toxicol* 21, 457-463. doi:10.1002/tox.20207
- Murube del Castillo, J., Cortes Rodrigo, M.D., (1989). Eye parameters for the diagnosis of xerophthalmos. *Clin Exp Rheumatol* 7, 145-150.
- Nichols, K.K., Mitchell, G.L., Zadnik, K., (2004). The repeatability of clinical measurements of dry eye. *Cornea* 23, 272-285. doi:10.1097/00003226-200404000-00010

- Nicolaidis, N., Kaitaranta, J.K., Rawdah, T.N., Macy, J.I., Boswell, F.M., Smith, R.E., (1981). Meibomian gland studies: comparison of steer and human lipids. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 20, 522–536.
- NIOSH, (2003). *Manual of Analytical Methods (NMAM®)*.
- Norn MS (1973). Lissamine green. Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 51:483–491. doi: 10.1111/j.1755-3768.1962.tb02387.x
- Novaes, P., do Nascimento Saldiva, P.H., Kara-Jose, N., Macchione, M., Matsuda, M., Racca, L., Berra, A., (2007). Ambient levels of air pollution induce goblet-cell hyperplasia in human conjunctival epithelium. *Environ Health Perspect* 115, 1753–1756. doi:10.1289/ehp.10363
- Novaes, P., Hilário do Nascimento Saldiva, P., Matsuda, M., Macchione, M., Peres Rangel, M., Kara-José, N., Berra, A., (2010). The effects of chronic exposure to traffic derived air pollution on the ocular surface. *Environmental Research* 110, 372–374. doi:10.1016/j.envres.2010.03.003
- O’Ryan, R., Larraguibel, L., (2000). Contaminación del aire en Santiago : ¿qué es, qué se ha hecho, qué falta? *Perspectivas* 4, 153–191.
- O’Neill, M.S., Veves, A., Zanobetti, A., Sarnat, J.A., Gold, D.R., Economides, P.A., Horton, E.S., Schwartz, J., (2005). Diabetes enhances vulnerability to particulate air pollution-associated impairment in vascular reactivity and endothelial function. *Circulation* 111, 2913–20. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.517110
- O’Neill, M.S., Bell, M.L., Ranjit, N., Cifuentes, L.A., Loomis, D., Gouveia, N., Borja-Aburto, V.H., (2008). Air Pollution and Mortality in Latin America: The Role of Education. *Epidemiology* 19, 810–819 10.1097/EDE.0b013e3181816528.
- Observatorio ambiental de Bogotá [WWW Document], (n.d.). URL <http://oab.ambientebogota.gov.co/>
- Observatorio petrolero sur, (2015). *Polos Injusticias ambientales e industriales petrolera en Argentina*.
- Ohashi, Y., Ishida, R., Kojima, T., Goto, E., Matsumoto, Y., Watanabe, K., Ishida, N., Nakata, K., Takeuchi, T., Tsubota, K., (2003). Abnormal protein profiles in tears with dry eye syndrome. *American Journal of Ophthalmology* 136, 291–299. doi:10.1016/S0002-9394(03)00203-4
- Ohashi, Y., Dogru, M., Tsubota, K., (2006). Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 369, 17–28. doi:10.1016/j.cca.2005.12.035
- OMS, (2005). *Guías de calidad del aire de la OM S relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre. Actualización mundial 2005*.
- Orte, M., Colman Lerner, J., Arrieta, N., Giuliani, D., N., M., Sachetto, V., Reyna Almandos, J., y Porta, A., (2013). Estudio del material particulado y contaminantes asociados en el aire ambiente de La Plata y alrededores, in: *Contaminación Atmosférica E Hídrica En Argentina. Contribuciones Del IV Congreso PROIMCA Y II Congreso PRODECA*.
- Orte, M., Colman Lerner, JE. Gutierrez, M., Elordi, L., Matamoros, N., Reyna Almandos, J. y Porta, A., (2015). Estudio de hidrocarburos aromáticos policíclicos asociados al material particulado y en fase gaseosa en la ciudad de la plata y alrededores, in: *Contaminación Atmosférica E Hídrica En Argentina: Contribuciones de La V Reunión Anual PROIMCA Y III Reunión Anual PRODECA*.
- Ostachuk, A., Evelson, P., Martin, S., Dawidowski, L., Sebastián Yakisich, J., Tasat, D.R.,

- (2008). Age-related lung cell response to urban Buenos Aires air particle soluble fraction. *Environmental Research* 107, 170–177. doi:10.1016/j.envres.2008.01.007
- Peñaloza Páez, J.A., (2012). Revista Desarrollo Local Sostenible DELOS Desarrollo Local Sostenible 1–9.
- Petznick, A., Evans, M.D.M., Madigan, M.C., Markoulli, M., Garrett, Q., Sweeney, D.F., (2011). A comparison of basal and eye-flush tears for the analysis of cat tear proteins. *Acta ophthalmologica* 89, e75–81. doi:10.1111/j.1755-3768.2010.02082.x
- Pflugfelder, S.C., Maskin, S.L., Anderson, B., Chodosh, J., Holland, E.J., De Paiva, C.S., Bartels, S.P., Micuda, T., Proskin, H.M., Vogel, R., (2004). A randomized, double-masked, placebo-controlled, multicenter comparison of loteprednol etabonate ophthalmic suspension, 0.5%, and placebo for treatment of keratoconjunctivitis sicca in patients with delayed tear clearance. *American Journal of Ophthalmology* 138, 444–457. doi:10.1016/j.ajo.2004.04.052
- Pope, III C.A., Dockery, D.W. (2006). Health Effects of Fine Particulate Air Pollution : Lines that Connect. *Journal of the Air & Waste Management Association* 56:709–742. doi: 10.1080/10473289.2006.10464485
- Pronóstico de la calidad del aire en la ciudad de Lima [WWW Document], (n.d.). URL http://www.senamhi.gob.pe/calidad_aire03.php
- Puliafito, S.E., Castro, F., Allende, D., (2011). Air-quality impact of PM10 emission in urban centres. *International Journal of Environment and Pollution*. doi:10.1504/IJEP.2011.045476
- Pult, H., Purslow, C., Murphy, P.J., (2011). The relationship between clinical signs and dry eye symptoms. *Eye (London, England)* 25, 502–510. doi:10.1038/eye.2010.228
- Qiu, H., Tian, L., Ho, K., Pun, V.C., Wang, X., Yu, I.T.S., (2015). Air pollution and mortality: Effect modification by personal characteristics and specific cause of death in a case-only study. *Environmental Pollution* 199, 192–197. doi:10.1016/j.envpol.2015.02.002
- Ravin, J.G., (1999). Gullstrand, Einstein, and the Nobel Prize. *Archives of Ophthalmology* 117, 670. doi:10.1001/archophth.117.5.670
- Records, R.E., (2002). Foundation Volume 2, Chapter 3. The Tear Film [WWW Document]. URL <http://80.36.73.149/almacen/medicina/ofthalmologia/enciclopedias/duane/pages/v8/v8c003.html> (accessed 11.9.15).
- Rehwagen, M., Müller, A., Massolo, L., Herbarth, O., Ronco, A., (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons associated with particles in ambient air from urban and industrial areas. *Science of The Total Environment* 348, 199–210. doi:10.1016/j.scitotenv.2004.12.050
- Reitz, C., Breipohl, W., Augustin, A., Bours, J., (1998). Analysis of tear proteins by one- and two-dimensional thin-layer isoelectric focusing, sodium dodecyl sulfate electrophoresis and lectin blotting. Detection of a new component: cystatin C. *Graefe's Archive For Clinical And Experimental Ophthalmology = Albrecht Von Graefes Archiv Für Klinische Und Experimentelle Ophthalmologie* 236, 894–899.
- Ribeiro, H., Cardoso, M.R.A., (2003). Air pollution and children's health in Sao Paulo (1986-1998). *Social Science and Medicine*.
- Río-navarro, B.E., Hidalgo-castro, E.M., Sienra-monge, J.J.L., (2009). *Artemisa Asthma* 66,

- Rodriguez Lastra, J., (2009). Contaminación ambiental y enfermedades respiratorias. *Métodos en Ecología y Sistemática* 4, 29-34.
- Ross, R.D., (1974). *La industria y la contaminación del aire*. México : Diana, México.
- Roy, A., Gong, J., Thomas, D.C., Zhang, J., Kipen, H.M., Rich, D.Q., Zhu, T., Huang, W., Hu, M., Wang, G., Wang, Y., Zhu, P., Lu, S.-E., Ohman-Strickland, P., Diehl, S.R., Eckel, S.P., (2014). The Cardiopulmonary Effects of Ambient Air Pollution and Mechanistic Pathways: A Comparative Hierarchical Pathway Analysis. *PLoS ONE* 9, e114913. doi:10.1371/journal.pone.0114913
- Rückerl, R., Phipps, R.P., Schneider, A., Frampton, M., Cyrys, J., Oberdörster, G., Wichmann, H.E., Peters, A., (2007). Ultrafine particles and platelet activation in patients with coronary heart disease--results from a prospective panel study. *Particle and fibre toxicology* 4, 1. doi:10.1186/1743-8977-4-1
- Rückerl, R., Hampel, R., Breitner, S., Cyrys, J., Kraus, U., Carter, J., Dailey, L., Devlin, R.B., Diaz-Sanchez, D., Koenig, W., Phipps, R., Silbajoris, R., Soentgen, J., Soukup, J., Peters, A., Schneider, A., (2014). Associations between ambient air pollution and blood markers of inflammation and coagulation/fibrinolysis in susceptible populations. *Environment International* 70, 32-49. doi:10.1016/j.envint.2014.05.013
- Sahai, A., Malik, P., (2005). Dry eye: prevalence and attributable risk factors in a hospital-based population. *Indian journal of ophthalmology* 53, 87-91. doi:10.4103/0301-4738.16170
- Salvador Martínez, P., Artíñano Rodríguez de Torres, B., (2000). *Informes Técnicos Ciemat* 921.
- San Sebastian, M., Armstrong, B., Stephens, C., (2001). [Health of women living near oil wells and oil production stations in the Amazon region of Ecuador]. *Rev Panam Salud Publica* 9, 375-84. doi:10.1590/S1020-49892001000600004
- Saxena, R., Srivastava, S., Trivedi, D., Anand, E., Joshi, S., Gupta, S.K., (2003). Impact of environmental pollution on the eye. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* 81, 491-494. doi:10.1034/j.1600-0420.2003.00119.x
- Schaumberg, D.A., Sullivan, D.A., Buring, J.E., Dana, M.R., (2003). Prevalence of dry eye syndrome among US women. *American Journal of Ophthalmology* 136, 318-326. doi:10.1016/S0002-9394(03)00218-6
- Schein, O.D., Muñoz, B., Tielsch, J.M., Bandeen-Roche, K., West, S., (1997). Prevalence of Dry Eye Among the Elderly. *American Journal of Ophthalmology* 124, 723-728. doi:10.1016/S0002-9394(14)71688-5
- Schein, O.D., Hochberg, M.C., Muñoz, B., Al, E., (1999). Dry eye and dry mouth in the elderly: A population-based assessment. *Archives of Internal Medicine* 159, 1359-1363.
- Schiffman, R.M., Christianson, M.D., Jacobsen, G., et al (2000). Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Archives of ophthalmology* 118:615-621. doi: 10.1001/archophth.118.5.615
- Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. [WWW Document], (n.d.). URL <http://www.ambiente.gov.ar>
- Sen, D.K., Sarin, G.S., (1979). Immunoglobulin concentrations in human tears in ocular diseases. *The British journal of ophthalmology* 63, 297-300.

- Shephard, R.J., Ponsford, E., LaBarre, R., Basu, P.K., (1979). Effect of cigarette smoke on the eyes and airway. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 43, 135–144. doi:10.1007/BF00378151
- Siddiqui, A.R., Lee, K., Gold, E.B., Bhutta, Z. a., (2005). Eye and respiratory symptoms among women exposed to wood smoke emitted from indoor cooking: a study from southern Pakistan. *Energy for Sustainable Development* 9, 58–66. doi:10.1016/S0973-0826(08)60524-4
- Simkhovich, B.Z., Kleinman, M.T., Kloner, R. a., (2008). Air pollution and cardiovascular injury epidemiology, toxicology, and mechanisms. *Journal of the American College of Cardiology* 52, 719–26. doi:10.1016/j.jacc.2008.05.029
- Soler, R., (1982). *Día, 100 años de vida platense*. Sociedad Impresora Platense.
- Souchier, M., Joffre, C., Gregoire, S., Bretillon, L., Muselier, A., Acar, N., Beynat, J., Bron, A., D’Athis, P., Creuzot-Garcher, C., (2008). Changes in meibomian fatty acids and clinical signs in patients with meibomian gland dysfunction after minocycline treatment. *British Journal of Ophthalmology* 92, 819–822. doi:10.1136/bjo.2007.133900
- Stern, M.E., Beuerman, R.W., Fox, R.I., Gao, J., Mircheff, A.K., Pflugfelder, S.C., (1998). The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 17, 584–589. doi:00003226-199811000-00002 [pii]
- Stern, M.E., Pflugfelder, S.C., (2004). Inflammation in dry eye. *The ocular surface* 2, 124–130. doi:10.1016/S1542-0124(12)70148-9
- Subsecretar, B., Comit, A., Ley, E., Integral, P., Auditor, S., (2005). *Municipalidad de Bahía Blanca Subsecretaría de Gestión Ambiental Comité Técnico Ejecutivo Ley 12.530*.
- Sunwoo, Y., Chou, C., Takeshita, J., Murakami, M., Tochihara, Y., (2006). Physiological and subjective responses to low relative humidity in young and elderly men. *J Physiol Anthropol* 25, 229–238. doi:JST.JSTAGE/jpa2/25.229 [pii]
- Tapasztó, I., Vass, Z., Kiss, L., (1965). The agar immunoelectrophoresis of the protein fractions of the human tears. *Acta Ophthalmologica* 43, 802–807. doi:10.1111/j.1755-3768.1965.tb07894.x
- Tauber, J., Davitt, W.F., Bokosky, J.E., Nichols, K.K., Yerxa, B.R., Schaberg, A.E., LaVange, L.M., Mills-Wilson, M.C., Kellerman, D.J., (2004). Double-masked, placebo-controlled safety and efficacy trial of diquafosol tetrasodium (INS365) ophthalmic solution for the treatment of dry eye. *Cornea* 23, 784–92. doi:10.1097/01.icc.0000133993.14768.a9
- Teague, B., Catford, J. and Petering, S., (2014). *Hazelwood Mine Fire Inquiry Report*.
- Terry JE (1984). Eye disease of the elderly. *Journal of the American Optometric Association* 55:23–9.
- Terry, R.L., Schnider, C.M., Holden, B.A., Cornish, R., Grant, T., Sweeney, D., La Hood, D., Back, A., (1993). CCLRU standards for success of daily and extended wear contact lenses. *Optometry and vision science: official publication of the American Academy of Optometry* 70, 234–243. doi:10.1097/00006324-199303000-00011
- Thriene, B., Sobottka, A., Willer, H., Weidhase, J., (1996). Man-made mineral fibre boards in buildings - Health risks caused by quality deficiencies, in: *Toxicology Letters*. pp. 299–303. doi:10.1016/0378-4274(96)03753-8
- Tiffany, J.M., (1979). The meibomian lipids of the rabbit. I. Overall composition. *Experimental Eye Research* 29, 195–202. doi:10.1016/0014-4835(79)90084-8

- Tonne, C., Melly, S., Mittleman, M., Coull, B., Goldberg, R., Schwartz, J., (2007). A case-control analysis of exposure to traffic and acute myocardial infarction. *Environ Health Perspect* 115, 53–57.
- Torricelli, A.A.M., Novaes, P., Matsuda, M., Alves, M.R., Monteiro, M.L.R., (2011). Ocular surface adverse effects of ambient levels of air pollution. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. doi:10.1590/S0004-27492011000500016
- Torricelli, A.A.M., Matsuda, M., Novaes, P., Braga, A.L.F., Saldiva, P.H.N., Alves, M.R., Monteiro, M.L.R., (2014). 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* 131, 59–63. doi:10.1016/j.envres.2014.02.014
- Van Haeringen, N.J., (1981). Clinical biochemistry of tears. *Survey of Ophthalmology* 26, 84–96. doi:10.1016/0039-6257(81)90145-4
- Vienneau, D., de Hoogh, K., Briggs, D., (2009). A GIS-based method for modelling air pollution exposures across Europe. *Science of The Total Environment* 408, 255–266. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.09.048
- Vitali, C., Moutsopoulos, H.M., Bombardieri, S., (1994). The European Community Study Group on diagnostic criteria for Sjogren's syndrome. Sensitivity and specificity of tests for ocular and oral involvement in Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 53, 637–647.
- Weichenthal, S., (n.d.) Exposure to traffic-related air pollution during physical activity and acute changes in blood pressure , autonomic and micro-vascular function in women : a cross-over study.
- WHO, (2006). Guías de calidad del aire de la OMS relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre. Actualización mundial 2005 .
- WHO, (2009). Environmental Health Criteria 239. Principles for Modelling Dose–Response for the Risk Assessment of Chemicals. Published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organization and the World Health Organization. Geneva.
- WHO, EC, (2002). Guidelines for concentration and exposure-response measurement of fine and ultra fine particulate matter for use in epidemiological studies, World Health.
- Wichmann, F. a, Müller, A., Busi, L.E., Cianni, N., Massolo, L., Schlink, U., Porta, A., Sly, P.D., (2009). Increased asthma and respiratory symptoms in children exposed to petrochemical pollution. *The Journal of allergy and clinical immunology* 123, 632–8. doi:10.1016/j.jaci.2008.09.052
- Wolff, E., (1946). The muco-cutaneous junction of the lid-margin and the distribution of the tear fluid. *Trans Ophthalmol Soc UK* 66, 291–308.
- Wong, C.M., Lai, H.K., Tsang, H., Thach, T.Q., Thomas, G.N., Lam, K.B.H., Chan, K.-P., Yang, L., Lau, A.K.H., Ayres, J.G., Lee, S.-Y., Chan, W.M., Hedley, A.J., Lam, T.-H., (2015). Satellite-Based Estimates of Long-Term Exposure to Fine Particles and Association with Mortality in Elderly Hong Kong Residents. *Environmental Health Perspectives*. doi:10.1289/ehp.1408264
- Yen, M.T., Pflugfelder, S.C., Feuer, W.J., (2001). The effect of punctal occlusion on tear production, tear clearance, and ocular surface sensation in normal subjects. *American Journal of Ophthalmology* 131, 314–323. doi:10.1016/S0002-

9394(00)00822-9

- Yokoi, N., Takehisa, Y., Kinoshita, S., (1996). Correlation of tear lipid layer interference patterns with the diagnosis and severity of dry eye. *American journal of ophthalmology* 122, 818–824.
- Yu, D.F., Chen, Y., Han, J.M., Zhang, H., Chen, X.P., Zou, W.J., Liang, L.Y., Xu, C.C., Liu, Z.G., (2008). MUC19 expression in human ocular surface and lacrimal gland and its alteration in Sjögren syndrome patients. *Experimental eye research* 86, 403–11. doi:10.1016/j.exer.2007.11.013
- Zhang, Y., Yang, Z., Feng, Y., Li, R., Zhang, Q., Geng, H., Dong, C., (2015). Effects of coarse chalk dust particles (2.5–10 μm) on respiratory burst and oxidative stress in alveolar macrophages. *Environmental Science and Pollution Research* 1–8. doi:10.1007/s11356-015-4437-3
- Zhou, L., Beuerman, R.W., Chan, C.M., Zhao, S.Z., Li, X.R., Yang, H., Tong, L., Liu, S., Stern, M.E., Tan, D., (2009). Identification of Tear Fluid Biomarkers in Dry Eye Syndrome Using iTRAQ Quantitative Proteomics. *Journal of Proteome Research* 8, 4889–4905. doi:10.1021/pr900686s

Anexos

Anexo I

Consentimiento informado

TITULO DEL ESTUDIO: “Estudio de las afecciones que genera la contaminación aérea en la salud”

El lenguaje que se ha utilizado en este modelo de consentimiento informado es práctico, simple y coloquial, comprensible para una persona de cualquier nivel de escolaridad. En el caso de que el voluntario no entendiera alguna terminología, los investigadores le explicarán su significado.

Este modelo consta de dos partes:

1. Información para el voluntario.
2. Modelo de Consentimiento para la firma

1. INFORMACIÓN PARA EL VOLUNTARIO

1a. Información general:

Título del Estudio:

“Análisis de los efectos biológicos, de las matrices oculares frente a la contaminación aérea, por técnicas bioquímicas, clínicas y diferenciales”

Investigador Principal:

- Jerónimo Nahuel Chaparro Fresco, Médico, (UNLP). Especialista en terapia Intensiva, Ministerio de Salud de la Nación, médico de guardia de terapia intensiva Hospital de alta complejidad El Cruce, Florencio Varela.

Otros investigadores participantes:

- Dr. Darío Andrinolo, Dr. en Ciencias Biomédicas otorgado por la Facultad de Medicina de La Universidad de Chile. (UNLP)
- Dr. Andrés Atilio Porta, Dr. En Ciencia Bioquímicas otorgado por la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. (UNLP)
- Lic. María de los Ángeles Gutiérrez, tesista de la Facultad de Cs. Exactas. (UNLP)
- Bioq. Laura Delaplace, Dir. Del Lab. clínico Facultad de Ciencias Exactas (UNLP)

Centros Participantes:

- PAEU. Facultad de Ciencias Exactas - UNLP
- Facultad de Ciencias Exactas - UNLP
- Centro de Investigaciones del Medio Ambiente. (CIMA) - UNLP
- Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. (CIDCA) - UNLP
- Laboratorio de análisis clínico de la Facultad de Ciencias Exactas UNLP

Introducción:

Lo invitamos a formar parte de un estudio clínico (un tipo de estudio de investigación), en el cual participan solamente las personas que por libre voluntad desean hacerlo. Esté seguro de su decisión sobre participar en esta investigación. A continuación, le proporcionaremos la información requerida para que usted comprenda las características del estudio, dedique el tiempo que necesite para leerla con atención y consulte si así lo desea con su familia, amigos y médico general o de familia.

1b. Información específica del estudio:

Objetivos:

El objetivo de este estudio es evaluar los ojos frente al material particulado presente en el aire de zonas específicas de estudio.

De esta manera, este trabajo pretende profundizar y encontrar posibles biomarcadores que nos ayuden a detectar de manera inmediata, que pacientes que se encuentran frente a niveles de contaminación ambiental que podrían afectar el estado de salud del ojo o de su sistema en general.

Protocolo del estudio:

El estudio se realizará sobre **50 voluntarios sanos**, con edades entre 18 y 50 años.

Si Ud. acepta integrar este estudio se le realizará la **toma de la muestra (lágrima y sangre) y los análisis diferenciales.**

Así como la medición de su función respiratoria se le realizara el mismo día que la toma de la muestra lagrimal.

La **duración total** del estudio será de **4 semanas**, durante los cuales se tomarán las respectivas muestras y se realizarán los diferentes estudios, para lo cual se necesitará que usted se presente en el lugar de estudio como máximo **dos días diferentes**.

En los 15 días posteriores a la primera visita, los responsables del trabajo pasarán por su domicilio y le darán información sobre los resultados obtenidos en los diferentes análisis.

Si Ud. decide participar en esta investigación **será evaluado por un médico**, quien le realizará un examen clínico, para la detección de síntomas, signos, y/o patologías asociadas, a través del llenado de una planilla confeccionada a tal fin, y verificará si reúne los requisitos necesarios para participar del estudio.

En todo momento el estudio respetará la **Ley de derechos de los pacientes N° 26.529 y su decreto reglamentario**.

Para ser aceptado como voluntario, debe reunir ciertas condiciones que se detallan a continuación:

- Ser una persona sana, entre 18 y 50 años de edad
- Tener un peso normal
- No presentar una patología ocular
- Exámenes bioquímicos normales
- HIV negativo
- Test de embarazo negativo (para voluntarios de sexo femenino)

Los **criterios de exclusión** comprenden:

- Neumotórax activo o reciente.
- Enfermedad cardiovascular inestable.
- Hemoptisis importante de origen desconocido.
- Aneurisma cerebral, torácico o abdominal (riesgo de rotura).
- Desprendimiento de retina o cirugía de ojo reciente.
- Usuarios de lentes de contacto.
- Obesos / Desnutridos
- Enfermedades asociadas
- Embarazo o amamantamiento (en voluntarios de sexo femenino)
- Participación en otro estudio clínico como voluntario en los últimos 30 días.
- Donación de sangre dentro de los últimos 3 meses.
- Ingesta crónica de medicamentos
- Ingesta de cualquier medicamento en la semana previa al estudio
- Adicciones a drogas
- Ingesta de alcohol 48 horas antes del estudio

Aquellos voluntarios que no reúnan los requisitos necesarios para participar en el estudio debido a que se ha detectado alguna anomalía o patología al realizarle los exámenes correspondientes serán derivados a un centro de salud para que reciban el tratamiento correspondiente.

Durante los **períodos de toma de muestras**:

- No podrá utilizar fármacos oculares.
- No podrá usar lentes de contacto.
- No consumirá tabaco, alcohol, medicamentos
- No ingerirá alimentos o bebidas que puedan alterar la función circulatoria, gastrointestinal, hepática o renal (por ejemplo, té, café, mate, etc.)

El día del inicio del estudio, se deberá concurrir al laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias Exactas, cito en calle 50 y 115, por la mañana, con un ayuno no menor a 12 horas. De esta manera el médico le podrá realizar a Ud. un estudio clínico y una posterior toma de la muestra sanguínea, a cargo de la bioquímica.

Seguidamente, se le extraerá una muestra de la lágrima. Luego se le colocará lágrimas artificiales para ayudar a reestablecer la película lagrimal.

Inmediatamente después se le realizarán las pruebas respiratorias y diagnósticas.

Las pruebas diagnósticas serán registradas por imágenes fotográficas de sus ojos, lo cual no es identificatorio de su rostro, por lo cual su identidad me mantendrá bajo **Ley de derechos de los pacientes Nº 26.529 y su decreto reglamentario**.

Posibles riesgos y/ o molestias:

Mientras esté participando en este estudio, usted podría presentar alguna molestia, como ser sensación leve de picazón frente a la instilación de fluoresceína, o frente a la extracción de la muestra. Si sus ojos están extremadamente resecos, puede sentir aspereza con las tiras de Schirmer. Sin embargo, las sensaciones son pasajeras. En este estudio Ud. recibirá posterior a cada test una gota de un humectante para restablecer la normalidad. Además, Ud. recibirá atención médica y un control clínico para identificar la aparición de algún evento adverso. En el caso de un evento adverso frente el estudio usted será derivado a un centro de salud para que reciban el tratamiento correspondiente.

Si durante el período ambulatorio, Ud. advierte algún síntoma que lo preocupe, puede comunicarse con el Centro de Investigación, al teléfono 0221-15-5402867 y será atendido inmediatamente.

Posibles beneficios:

Esperamos que la información que se obtenga como resultado de esta investigación beneficien en el futuro a los pacientes que viven expuestos a distintos tipos de contaminación aérea.

Tendrán acceso a los resultados bioquímicos y de capacidad respiratoria, los cuales podrán ser utilizados por los beneficiarios para detectar posibles afecciones que no se hayan detectado aun.

1c. Derechos del voluntario:

Participación voluntaria y retiro:

La participación en este estudio es voluntaria. Usted puede escoger no participar o puede abandonar el estudio en cualquier momento, sin tener que dar una razón. Ud. no tiene obligación de finalizar el estudio, pero desearíamos que así lo hiciese. El retirarse del estudio no le representará ninguna penalidad.

Notificación de nuevos hallazgos:

Ud. será informado durante todo el ensayo de cualquier evento que se produzca o cualquier nueva información relevante ocurrida durante el transcurso del estudio que pudiera afectar su salud, bienestar o interés por continuar en el estudio.

Salida del estudio:

El equipo de investigación puede decidir dar por terminada su participación en el caso de que Ud. no cumpla con la conducta a seguir antes y durante el estudio, detallada en el diseño del estudio (no realizar actividad física, no consumir café, té, mate, etc.).

Confidencialidad:

Todos los datos obtenidos en el ensayo con relación a su persona serán custodiados, garantizando discreción y confidencialidad sobre su identificación y para esto en la documentación generada en el ensayo clínico sólo se recogerán las iniciales de sus nombres y apellidos, respetando así la **Ley Nº25.326 sobre Protección de datos y su decreto reglamentario**. Ante cualquier duda o queja, puede dirigirse a la Dirección de Protección de Datos Personales.

Los miembros del Comité Consultivo Central de Bioética Ética y las autoridades sanitarias tendrán libre acceso a su historia clínica para la verificación de los procedimientos y/ o datos del ensayo clínico sin violar su confidencialidad hasta donde lo permitan las leyes y regulaciones aplicables. Al firmar este consentimiento usted está autorizando dicho acceso.

Pago por Participación:

La participación es voluntaria, no habiendo un pago por la misma.

Costos:

No hay costos adicionales para usted al participar en este estudio.

Preguntas / Contactos:

Si durante el curso del estudio Ud. tiene preguntas acerca de la naturaleza del mismo o sobre sus derechos o cree que ha sufrido una lesión relacionada con el estudio clínico o necesita tratamiento médico de emergencia, debe contactar al médico encargado de la investigación.

No firme el formulario de consentimiento a menos que Ud. haya tenido la oportunidad de realizar preguntas y obtenido respuestas satisfactorias a las mismas. Su consentimiento debe ser dado voluntariamente, sin coerción o forzado.

Ud. debe recibir y conservar en su poder un original de la hoja de información y del formulario de consentimiento escrito firmado.

2. PÁGINAS DE FIRMAS DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por la presente presto mi consentimiento para participar como voluntario en el presente estudio de las afecciones que genera la contaminación aérea en la salud, el cual tiene por objetivo encontrar posibles biomarcadores que permitan detectar de manera inmediata si nos encontramos frente a niveles de contaminación ambiental que podrían afectar nuestro estado de salud del ojo o de nuestro sistema en general.

Tengo conocimiento que en este estudio se me realizará la toma de la muestra (lágrima y sangre) y de fotografías de los diferentes análisis diferenciales. Así como también se me estudiará la función respiratoria. Por lo que el estudio tendrá una duración total de 4 semanas, para lo cual se necesitará que me presente en el lugar de estudio como máximo dos días diferentes.

Participando en esta investigación seré evaluado por un médico, quien me realizará un examen clínico, para la detección de síntomas, signos, y/o patologías asociadas, y verificará si reúno los requisitos necesarios para participar del estudio.

Mi participación es voluntaria y si me negara a participar o me retirara en cualquier estadio del estudio, no tendré ningún tipo de consecuencia.

Mientras esté participando en este estudio, podré presentar alguna molestia, como ser sensación leve de picazón frente a la instilación de fluoresceína, o frente a la extracción de la muestra, así como también, si mis ojos están extremadamente resecos, puedo sentir aspereza con las tiras de Schirmer.

Entiendo que, durante este estudio, pueden surgir nuevos hallazgos tanto positivos, como negativos respecto a la seguridad de este tratamiento. En dicho caso seré informado.

Podrán presentarse circunstancias que provoquen que los investigadores me retiren del estudio sin mi consentimiento. Estas incluyen: incumplimiento de las premisas exigidas durante el período del estudio o la aparición de un efecto adverso inesperado que pueda afectar mi salud.

También entiendo que todas las muestras que se obtengan durante este estudio (lágrima y fotografías del ojo) serán utilizadas para la investigación, y las mismas no serán identificatorias de mi rostro, por lo cual mi identidad se mantendrá bajo la Ley de derechos de los pacientes N° 26.529 y su decreto reglamentario. No se realizarán estudios genéticos en ninguna de las muestras recolectadas.

Si surge algún problema o tengo alguna duda durante el estudio con respecto a la investigación deberé comunicarme con los responsables del estudio al teléfono 0221-15-5402867.

Declaro que he tenido tiempo suficiente para leer y analizar toda la información referida a las características y objetivos del estudio, y a los potenciales efectos adversos que pudiesen sobrevenir y que me han respondido satisfactoriamente todas mis inquietudes.

Autorizo a los investigadores que realizan este estudio, al Comité Consultivo Central de Bioética y a las autoridades sanitarias a tener acceso a mis registros médicos.

Firma del Voluntario:.....

Nombre y Apellido:.....

Domicilio:.....

Documento:.....

Fecha:.....

Firma del Testigo:.....

Nombre y Apellido:.....

Domicilio:.....

Documento:.....

Fecha:.....

Firma del Investigador Principal:.....

Nombre y Apellido:.....

Domicilio:.....

Documento:.....

Fecha:.....



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
DIRECCION DE SALUD

Aval del Comité Consultivo Central de Bioética de la U.N.L.P.

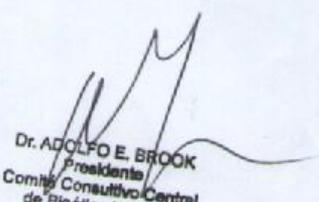
Conformidad del Comité Consultivo Central de Bioética.

-----Por la presente se informa que se ha leído y aprobado la versión 2 del modelo de consentimiento del "Estudio de las afecciones que genera la contaminación aérea en la salud" y corresponde su aprobación.-----

Apellido y nombre del Investigador Principal Dr. Jerónimo Nahuel Chaparro Fresco.-----

La Plata, 19 de Marzo de 2014.


Dr. DANIEL de SAGASTIZABAL
Comité Consultivo Central
de Bioética
Dirección de Salud U.N.L.P.


Dr. ADOLFO E. BROOK
Presidente
Comité Consultivo Central
de Bioética U.N.L.P.

Anexo II

Protocolo

TITULO DEL ESTUDIO: “Estudio de las afecciones que genera la contaminación aérea en la salud”

Tipo de estudio

Se realizará un estudio de investigación con riesgo mínimo en la población.

Investigador Principal:

- Jerónimo Nahuel Chaparro Fresco, Médico, (UNLP). Especialista en terapia Intensiva, Ministerio de Salud de la Nación, médico de guardia de terapia intensiva Hospital de alta complejidad El Cruce, Florencio Varela.

Otros investigadores participantes:

- Dr. Darío Andrinolo, Dr. en Ciencias Biomédicas otorgado por la Facultad de Medicina de La Universidad de Chile. (UNLP)
- Dr. Andrés Atilio Porta, Dr. En Ciencia Bioquímicas otorgado por la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. (UNLP)
- Lic. María de los Ángeles Gutiérrez, tesista de la Facultad de Cs. Exactas. (UNLP)
- Bioq. Laura Delaplace, Dir. Del Lab. clínico Facultad de Ciencias Exactas (UNLP)

Centros Participantes:

- PAEU. Facultad de Ciencias Exactas - UNLP
- Facultad de Ciencias Exactas - UNLP
- Centro de Investigaciones del Medio Ambiente. (CIMA) - UNLP
- Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. (CIDCA) – UNLP
- Laboratorio de análisis clínico de la Facultad de Ciencias Exactas - UNLP

Resumen

La contaminación del aire representa una amenaza importante para la salud pública en todo el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) más de dos millones de muertes anuales por debajo de la media de la población, son atribuibles a los efectos de la contaminación del aire en espacios abiertos urbanos (extramuros) y en espacios cerrados (intramuros). Más de la mitad de esta carga de enfermedad recae en las poblaciones de los países en desarrollo (Who, 2006, 2009). Esta contaminación aumenta significativamente la morbilidad y la mortalidad en la población en general (Brook, et al., 2010), (Hoek, et al., 2002), (Maheswaran and Elliott, 2003), (Tonne, et al., 2007).

Estudios epidemiológicos realizados en diversos países, incluso en muchos casos mediados por proyectos internacionales, evidencian cómo la exposición crónica a contaminantes relacionados al tráfico vehicular y la industria química y petroquímica, tales como material particulado, metales e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) asociados, compuestos orgánicos volátiles (COVs) y gases inorgánicos (SO₂ y NO_x) producen efectos adversos en la salud de la población.

Un ejemplo de lo antedicho, se puede visualizar cuando frente a la presencia de contaminantes en el ambiente, la estabilidad de la película lagrimal varía, y las concentraciones de sus componentes (como los espesores de las diferentes capas que los componen) se ven afectadas. Varios estudios demuestran las relaciones frente a exposiciones de CO y PM_{2,5} (Siddiqui, et al., 2005), de CO (Ellegård, 1997), o de hidrocarburos totales de petróleo en aguas (San Sebastián, et al., 2001), y los síntomas y signos oculares que presenta la población que vive cerca de focos de contaminación. Los mismos pueden ir desde los comúnmente reportados como dolor y picazón (McMonnies, C.W. et al 1986) a las más graves condiciones de daño de la superficie ocular, disminución de la visión (Lemp, 1995), y en el área de la contactología pueden generar intolerancia al uso de lentes de contacto (Korb y Henriquez, 1980). A su vez, estos trastornos en la película lagrimal pueden producir algún subtipo de ojo seco (Albietz, 2000).

Por otra parte, en los últimos 15 años la contaminación del aire y la toxicidad cardiovascular inducida se ha convertido en el foco de estudios intensivos entre los cardiólogos y especialistas en medicina ambiental (Adar, Sara D., et al., 2010). Dentro de la variedad de estudios realizados, se han estudiado los efectos que la contaminación aérea genera en la presión sanguínea, tono vascular, coagulación, etc. Así como también los efectos tóxicos que genera en corazón, pulmones y sistema cardiovascular. Se ha supuesto que los impactos sobre microvasculatura retinal puede desempeñar un papel

en estas asociaciones, en diferentes estudios realizados. (Pope Iii y Dockery, 2006), (Adar, Sara D., et al., 2010)

Así como también la vulnerabilidad a problemas respiratorios ha sido reconocido como uno de los principales efectos adversos de la contaminación aérea (Adar, S. D. y Kaufman, 2007), (Pope Iii y Dockery, 2006).

Trabajos previos

Haciendo un análisis de la región comprendida por los partidos de La Plata y Ensenada, encontramos que cuentan con una población aproximada de 700.000 habitantes y presentan dos importantes fuentes emisoras de contaminantes. En primer lugar, un importante polo industrial petroquímico, en el cual se destaca la refinería de petróleo más importante del país, con una capacidad de procesamiento de unos 38.000 m³/día de crudo. Cercana a ésta, se ubican otras industrias subsidiarias productoras de compuestos aromáticos (benceno, tolueno, xilenos), alifáticos (pentano, hexano, heptano), anhídrido maleico y coque de petróleo, entre otros. Por otro lado, se debe considerar la zona periférica, de estructura residencial, la que ha presentado un fuerte crecimiento urbano en los últimos años. Estudios previos muestran elevados niveles de PM, HAPs y COVs en áreas cercanas al Polo y en el casco urbano, además de efectos adversos en la función respiratoria en habitantes de La Plata (Cianni N., 2009, Wichmann, Fernando A., et al., 2009).

En estudios realizados en esta zona, se encontraron diferencias significativas en cuanto a los niveles de COVs, material particulado y compuestos asociados en las distintas zonas evaluadas, siendo dichos niveles mayores en la zona con influencia industrial. Asimismo se encontraron efectos mutagénicos y citotóxicos asociados al material particulado, especialmente en zonas industriales. Por otra parte, respecto al relevamiento por medio de cuestionarios, sólo se pudo obtener un sondeo preliminar de la situación, encontrándose algunas asociaciones significativas (Massolo, et al., 2010, Wichmann, Fernando A., et al., 2009).

Objetivos generales y particulares

Hasta el presente no se conocen marcadores de exposición específicos para contaminantes ambientales, que tengan una relación estrecha con el órgano de la visión, por el contrario sí se conocen para la función respiratoria. De esta manera, el objetivo de este trabajo es encontrar si estos marcadores, tanto los oculares como los de la función respiratoria, conocidos o no, se relacionan entre sí o tienen patrones de comportamiento que se puedan reconocer, con la finalidad de detectar de manera inmediata de problemáticas sistémicas en general y de la contaminación aérea en particular.

Objetivo general: Detectar biomarcadores oculares para la detección de expresiones de contaminantes aéreos.

Objetivos particulares:

- Buscar umbrales de exposición a contaminantes en un modelo *in vivo*.
- Buscar posibles componentes de la capa lagrimal que se vean afectados por la exposición a contaminantes en un modelo *in vivo*.
- Medir y evaluar los contaminantes en las zonas aledañas a sus fuentes de producción y en una zona control.
- Analizar mediante la clínica optométrica para evaluar signos y síntomas presentes en la población expuesta.
- Analizar por métodos fisicoquímicos la composición lagrimal.
- Determinar la relación entre el biomarcador determinado y los niveles de contaminación en las zonas de estudio.
- Relacionar este biomarcador con posibles modificaciones en la microvasculatura retinal.

Métodos y técnicas a emplear

1. Definición de la población

Para evaluar el efecto de la contaminación aérea en la estabilidad lagrimal se evaluarán tres poblaciones de la ciudad de La Plata y alrededores con diferentes características ambientales: una población cercana a un área industrial, otra en un área urbana y otra en donde no exista fuente de contaminación relevante.

En función de los datos bibliográficos encontrados para el contenido de lípidos y proteínas en lágrima, (Caffery, et al., 2008) como así también para el tiempo de ruptura de la lágrima y la altura del menisco, (Albietz, 2000, Guillon, 1998) se esperan variaciones porcentuales máximas (expresadas como coeficiente de variación, CV%) de alrededor del 60%. Realizando los cálculos estadísticos correspondientes para dicho valor de dispersión (Lenth, 2006-9), se concluyó que trabajando con grupos de 25 voluntarios por tratamiento (zona), se lograrían conclusiones estadísticas con un 80% de potencia (beta, error tipo II), manteniendo siempre la significación de 0,01 (alfa, error tipo I).

Por lo tanto, se comenzará trabajando con grupos de 25 voluntarios para testear la hipótesis nula de falta de diferencia entre los grupos para cada una de las variables estudiadas.

La muestra será aleatoria, con edades entre 18 y 50 años y se tendrán los siguientes criterios de inclusión y exclusión, así como también, el protocolo respetará en todo momento la **Ley de derechos de los pacientes Nº 26.529 y su decreto reglamentario**.

Los **criterios de inclusión** comprenden:

- Ser una persona sana, entre 18 y 50 años de edad
- Tener un peso normal
- No presentar una patología ocular
- Exámenes bioquímicos normales
- HIV negativo
- Test de embarazo negativo (para voluntarios de sexo femenino)

Los **criterios de exclusión** comprenden:

- Neumotórax activo o reciente
- Enfermedad cardiovascular inestable
- Hemoptisis importante de origen desconocido
- Aneurisma cerebral, torácico o abdominal (riesgo de rotura)
- Desprendimiento de retina o cirugía de ojo reciente
- Usuarios de lentes de contacto
- Obesos / Desnutridos
- Enfermedades asociadas
- Embarazo o amamantamiento (en voluntarios de sexo femenino)
- Participación en otro estudio clínico como voluntario en los últimos 30 días
- Donación de sangre dentro de los últimos 3 meses
- Ingesta crónica de medicamentos
- Ingesta de cualquier medicamento en la semana previa al estudio
- Adicciones a drogas
- Ingesta de alcohol 48 horas antes del estudio

Durante los períodos de toma de muestras:

- No podrá utilizar fármacos oculares
- Usar lentes de contacto
- No consumirá tabaco, alcohol, medicamentos
- No ingerirá alimentos o bebidas que puedan alterar la función circulatoria, gastrointestinal, hepática o renal (por ejemplo, té, café, mate, etc.)

Estos criterios serán evaluados por el médico Jerónimo Chaparro Fresco, quien realizará el llenado de una planilla confeccionada para la detección de síntomas, signos, y/o patologías asociadas, y verificará si reúne los requisitos necesarios para participar del estudio. También se le realizará un análisis clínico en sangre en el Laboratorio Clínico de análisis bioquímico de la Facultad de Ciencias Exactas, a cargo de la bioquímica Laura Delaplace, para la confirmación de ciertos criterios.

Aquellos voluntarios que no reúnan los requisitos necesarios para participar en el estudio debido a que se ha detectado alguna anomalía o patología al realizarle los exámenes correspondientes serán derivados a un centro de salud para que reciban el tratamiento correspondiente.

La duración total del estudio será de 8 semanas, durante los cuales se tomarán las respectivas muestras y se realizarán los diferentes estudios, con un intervalo de 15 días con respecto a la primera visita, para permitir que la lágrima se encuentre en las condiciones habituales, y el estudio no influya en su estabilidad. Para lo cual se necesitará que el paciente se presente en el lugar de estudio dos días diferentes.

El día del inicio del estudio, se deberá concurrir al Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias Exactas, sito en calle 50 y 115, por la mañana, con un ayuno no menor a 12 horas. De esta manera el médico le podrá realizar a Ud. un estudio clínico y una posterior toma de la muestra sanguínea, a cargo de la bioquímica.

Seguidamente, se le extraerá una muestra de la lágrima, generada con la estimulación sensorial de la glándula lagrimal a través un motor de aire frío en la superficie ocular. Luego se le colocarán lágrimas artificiales para ayudar a restablecer la película lagrimal.

Inmediatamente después se le realizarán las pruebas respiratorias y diagnósticas. Durante el segundo día se le practicarán solamente pruebas diagnósticas y finalmente, en los 15 días posteriores a la segunda visita, los responsables del trabajo pasarán por su domicilio y le darán información sobre los resultados obtenidos en los diferentes análisis.

Participación voluntaria y retiro:

La participación en este estudio es voluntaria y sin costo. El paciente puede escoger no participar o puede abandonar el estudio en cualquier momento, sin tener que dar una razón. El retirarse del estudio en cualquier estadio no le representará ninguna consecuencia.

Posibles riesgos y/ o molestias:

Mientras esté participando en este estudio, usted podría presentar alguna molestia, como ser sensación leve de picazón frente a la instilación de fluoresceína, o frente a la extracción de la muestra. Si sus ojos están extremadamente secos, puede sentir aspereza con las tiras de Schirmer. Sin embargo, las sensaciones son pasajeras. En este estudio Ud. recibirá posterior a cada test una gota de un humectante para restablecer la normalidad. Además, Ud. recibirá atención médica y un control clínico para identificar la aparición de algún evento adverso. En el caso de un evento adverso frente el estudio, usted será derivado a un centro de salud para que reciba el tratamiento correspondiente.

Si durante el período ambulatorio, Ud. advierte algún síntoma que lo preocupe, puede comunicarse con el centro de Investigación, al teléfono 0221-15-5402867 y será atendido inmediatamente.

Posibles beneficios:

Esperamos que la información que se obtenga como resultado de esta investigación beneficien en el futuro a los pacientes que viven expuestos a distintos tipos de contaminación aérea.

Tendrán acceso a los resultados bioquímicos y de capacidad respiratoria, los cuales podrán ser utilizados por los beneficiarios para detectar posibles afecciones que no se hayan detectado aun.

Notificación de nuevos hallazgos:

El paciente será informado durante todo el ensayo de cualquier evento que se produzca o cualquier nueva información relevante ocurrida durante el transcurso del estudio que pudiera afectar su salud, bienestar o interés por continuar en el estudio.

Se le notificará a cada paciente los resultados del estudio, en los 15 días posteriores a la segunda visita.

Confidencialidad:

Todos los datos obtenidos en el ensayo con relación a su persona serán custodiados, garantizando discreción y confidencialidad sobre su identificación y para esto en la documentación generada en el ensayo clínico sólo se recogerán las iniciales de sus nombres y apellidos, respetando así la **Ley N°25.326 sobre Protección de datos y su decreto reglamentario**. Ante cualquier duda o queja, puede dirigirse a la Dirección de Protección de Datos Personales.

Los miembros del Comité consultivo central de Bioética y las autoridades sanitarias tendrán libre acceso a su historia clínica para la verificación de los procedimientos y/ o datos del ensayo clínico sin violar su confidencialidad hasta donde lo permitan las leyes y regulaciones aplicables. Al firmar este consentimiento usted está autorizando dicho acceso.

Pago por Participación:

La participación es voluntaria, no habiendo un pago por la misma.

Costos:

No hay costos adicionales para el paciente al participar en este estudio.

2. Determinación de las características de la película lagrimal

Muestra

Las mismas serán recolectadas a los individuos participantes de este trabajo de investigación, de manera no invasiva, generada con la estimulación sensorial de la glándula lagrimal a través un motor de aire frío en la superficie ocular.

2.1 Análisis de la composición lagrimal:

a. Análisis de lípidos

La excreción de las glándulas de Meibomio, obtenida de la muestra lagrimal, se disuelve en un solvente orgánico y luego son separados en clases de lípidos antes del análisis por cromatografía líquida de alta performance (HPLC), con detección UV o por espectrometría de masas (HPLC-UV o HPLC-MS) (San Sebastián, et al.). Otra técnica posible para este análisis es la cromatografía de gases, también con detección por espectroscopia de masas (GC-MS)(Ohashi, et al., 2006).

b. Análisis de proteínas

Se cuantificarán los niveles de proteínas en la lágrima, tales como albúmina, inmunoglobulina, lisozima y lactoferrina, mediante SDS-minigel electroforesis como describe (Kuizenga, et al., 1991).

2.2 Análisis clínico ocular:

- **Test de Schirmer I.** Determina la cantidad de fracción acuosa lagrimal presente en el saco conjuntival del paciente. Esta prueba utiliza una tira de papel filtro de 35 mm de largo y 5 mm de ancho que se dobla en un extremo y se coloca en el saco conjuntival

inferior. El mismo tiene una escala que indica la cantidad de lágrima que corrió durante los 5 minutos de la prueba. (Van Bijsterveld, 1969).

- **Biomicroscopía.** Examen no invasivo y estereoscópico del segmento anterior del ojo. Ofrece una visión detallada con los diferentes aumentos que pueden llegar a 40X.
- **Tiempo de ruptura lágrima (BUTIN)** Es una prueba cualitativa, donde la película lagrimal puede observarse con ayuda de fluoresceína, y consiste en la medición del tiempo que tardan en aparecer zonas oscuras dentro del fondo verde-amarillo cuando el paciente deja de parpadear. Se utiliza para demostrar la inestabilidad de la película lagrimal principalmente cuando existe un déficit de mucina. Se visualiza con el biomicroscopio y luz cobalto (Vitali, et al., 1994)
- **Tiempo de ruptura lágrima (BUTNI)** Es una técnica no invasiva y se refiere a la medida de la estabilidad de la película lagrimal sin el empleo de fluoresceína. Se puede realizar con el queratómetro, biomicroscopio mediante una reflexión especular, un queratoscopio manual o el tearscope.
- **Tinción corneal y conjuntival**
 - **Con fluoresceína:** mediante tiras impregnadas con 1 mg de fluoresceína sódica U.S.P, humedecidas con cloruro sódico al 0,9% aplicadas en la conjuntiva o fónix. Visualización con biomicroscopía.
 - **Con rosa de bengala:** mediante tiras impregnadas con 1,5 mg de rosa de bengala, humedecidas con cloruro sódico al 0,9% aplicadas en la conjuntiva o fónix. Este un colorante que se emplea para marcar células epiteliales muertas o degeneradas en la córnea o conjuntiva. Visualización con biomicroscopía (Van Bijsterveld, 1969)
- **Tinción con verde de lisamina** tiñe las células degeneradas y los filamentos de moco presentes en la película lagrimal. Se utiliza al 1%.
- **Análisis con tearscope** (Guillon, 1998), método no invasivo que permite medir la estabilidad lagrimal, la visualización de las estructuras lagrimales (patrones de interferencia) y la morfología del reservorio lagrimal.
- **Frecuencia de parpadeo,** se medirá la cantidad de parpadeos por minuto a través de una modificación del método utilizado en el estudio de Sunwoo (2006).
- **Análisis de la microvasculatura retinal,** la microvasculatura central del fondo de ojo se analiza a través de un estudio no invasivo, y posterior análisis de las imágenes obtenidas por biomicroscopía indirecta con un lente alto positivo. (Klein, et al., 2006).

3. Muestreo y análisis de contaminantes en aire

En todos los muestreos que se realicen, para una correcta interpretación de los resultados obtenidos, los datos serán correlacionados con parámetros meteorológicos de la región, mediante la utilización de la estación instalada en la UTN-FRLP y de los provenientes de otras estaciones cercanas. Con el mismo criterio, en todos los casos se utilizará un GPS para situar los puntos de muestreo de modo indubitable y además incorporar otras variables puntuales como superficies y alturas barométricas. El uso de GPS permite además una evaluación espacio temporal, con la consecuente aplicación de modelos de dispersión de contaminantes (Jensen, 1998), (Matejícek, et al., 2006, Vienneau, et al., 2009).

3.1 Material particulado y compuestos asociados

Para el muestreo y análisis de material particulado y compuestos asociados, se realizarán muestreos de material particulado inhalable (partículas < 10 µm) y respirable (partículas < 2.5 µm) utilizando un muestreador MiniVol TAS, con cabezales intercambiables para 100, 10 y 2,5 micrómetros. Se realizarán monitoreos estacionales (invierno y verano) con una duración de entre 10 y 20 días por zona, según los niveles que se encuentren de PM. Se utilizarán metodologías de muestreo estandarizadas según normas ASTM y 40CFR. (Rehwagen, et al., 2005), (Niosh).

4. Pruebas de funcionalidad respiratoria

En particular se plantea realizar estudios de función pulmonar en la población de la región, mediante ensayos tales como la medición de los flujos espiratorios forzados, capacidad pulmonar total, capacidad vital funcionante, entre otros. A tal objeto se utilizará la prueba espirométrica sin respuesta broncodilatadora, utilizando un espirómetro portátil oportunamente calibrado, en un todo de acuerdo con las recomendaciones internacionales (ATS, ERS). El análisis de los resultados obtenidos se realiza mediante el programa estadístico SSPS (Wichmann, F. A., et al., 2009), (Chapman, et al., 2003).

Identificación del lugar donde se realizará el plan de trabajo

Las tareas propuestas en este plan de trabajo se llevarán a cabo en el Laboratorio de análisis clínico de la Facultad de Ciencias Exactas a cargo de la. Bioq. Laura Delaplace, y en el Programa Ambiental de Extensión Universitaria (PAEU) – UNLP, bajo la dirección del Dr. Darío Andrinolo.

Anexo III

Encuesta



CIMA

DATOS PERSONALES:

Apellidos y nombre:.....

Fecha de nacimiento:..... Edad:.....

Sexo: F M

Tel.:.....

Ocupación:.....

Lugar de trabajo:.....

Oficina:..... Aire libre:.....

LUGAR DE RESIDENCIA Y VIVIENDA FAMILIAR:

Domicilio:.....

¿Desde cuándo vive en ese domicilio?(Meses o años)

<u>La vivienda está ubicada</u> (marcar todas las opciones afirmativas):	Si
En una Villa de Emergencia	<input type="checkbox"/>
En un Asentamiento	<input type="checkbox"/>
En un barrio de vivienda social	<input type="checkbox"/>
Barrio con calles de tierra sin veredas ni desagües	<input type="checkbox"/>
Barrio con veredas y desagües pero con viviendas precarias o muy deterioradas	<input type="checkbox"/>
Cercana a un basural	<input type="checkbox"/>
Cercana a aguas servidas	<input type="checkbox"/>
Zona inundable	<input type="checkbox"/>
Sobre una calle de tránsito principal o cruce de semáforos o loma de burro	<input type="checkbox"/>
Sobre un parque o espacio verde	<input type="checkbox"/>
Cercana (1 km de distancia) a un establecimiento industrial de gran envergadura	<input type="checkbox"/>
Cercana (500 m de distancia) a un establecimiento industrial pequeño o mediano(carpintería, metalúrgica, construcción, soldaduras, etc.)	<input type="checkbox"/>
Cercana (100 m) a una tintorería	<input type="checkbox"/>
Cercana (500 m) a una estación de servicio	<input type="checkbox"/>

<u>Tipo de vivienda</u>		<u>Material de los pisos</u>	
Casa	<input type="checkbox"/>	Mosaico, madera,	<input type="checkbox"/>
Casilla	<input type="checkbox"/>	Alfombra o baldosa plástica	<input type="checkbox"/>
Rancho	<input type="checkbox"/>	Cemento o ladrillo fijo	<input type="checkbox"/>
Departamento	<input type="checkbox"/>	Ladrillo suelto o tierra	<input type="checkbox"/>
Inquilinato	<input type="checkbox"/>	Otro:.....	
Pensión	<input type="checkbox"/>		
Otro	<input type="checkbox"/>		

<u>Posee</u>					
Baño	<input type="checkbox"/>	Letrina	<input type="checkbox"/>	Ninguna	<input type="checkbox"/>
Inodoro con botón o cadena de arrastre de agua					<input type="checkbox"/>
Inodoro sin botón o cadena de arrastre de agua					<input type="checkbox"/>
Sin inodoro					<input type="checkbox"/>

<u>Servicio de Agua</u>			
De red pública o agua corriente	<input type="checkbox"/>	Cañería y red interna en la vivienda	<input type="checkbox"/>
De perforación (bombedador)	<input type="checkbox"/>	Sólo cañería en la vivienda	<input type="checkbox"/>
De superficie (río o lago)	<input type="checkbox"/>	Provisión de agua fuera del terreno	<input type="checkbox"/>
Otro:			

<u>El desagüe del inodoro es</u>			
A red pública (cloacas)	<input type="checkbox"/>	A cámara séptica y pozo ciego	<input type="checkbox"/>
Solamente pozo ciego	<input type="checkbox"/>	Otro:.....	

<u>Servicio de luz</u>		<u>Calefacción</u>	
Con medidor particular	<input type="checkbox"/>	Eléctrica	<input type="checkbox"/>
Con medidor compartido	<input type="checkbox"/>	Gas	<input type="checkbox"/>
Sin medidor	<input type="checkbox"/>	Leña	<input type="checkbox"/>

No tiene electricidad Otro:.....

¿Tiene o tuvo un animal doméstico (mascota)? Sí No
¿Cuál/les? Perros Aves Gatos Conejos
Otros:

¿Observa frecuentemente insectos en su casa? Sí No
¿Cuáles?.....
¿Utiliza insecticidas para combatirlos? Sí No
¿Con que frecuencia?
Diaria Semanal Mensual
¿Observa frecuentemente presencia de roedores/ratas en su casa? Sí No
Usan productos químicos para combatirlos? Cuáles?.....

Alergias Sí No Ns/Nc
¿Le diagnosticaron algún tipo de alergia? Sí No Ns/Nc
¿Qué tipo de alergia?.....
¿Le realizaron test de alergia? Sí No Ns/Nc
Mostró reacciones a (marcar todas las opciones que correspondan) Sí No Ns/Nc
Ninguna reacción? Sí No Ns/Nc
Ácaro de polvo hogareño? Sí No Ns/Nc
animales (ej., gato, perro, aves, caballo, etc.)? Sí No Ns/Nc
moho? Sí No Ns/Nc
alimentos? Sí No Ns/Nc
polen de pastos, hierbas, flores, arbustos, árboles? Sí No Ns/Nc
otros?

Rinitis alérgica Sí No Ns/Nc
Ns/Nc Sí No
¿En los últimos doce meses tuvo estornudos, o la nariz le goteaba, o estaba tapada o le picaba, sin estar resfriado o engripado? Sí No
¿En los últimos doce meses, estos problemas de nariz estuvieron acompañados de lagrimeo y picazón en los ojos? Sí No
¿En qué estación del año los síntomas fueron más severos?
Verano otoño invierno primavera siempre

¿Con que frecuencia los problemas de nariz le han impedido realizar sus actividades diarias en los últimos doce meses? nunca pocas muchas

Eczemas (alergias en piel) Sí No
¿Ha tenido alguna vez manchas rojas en la piel (alérgicas) que pican y que aparecen y desaparecen? Si- No Sí No
¿Estas manchas rojas que pican, le han salido alguna vez en alguno de los siguientes lugares: pliegues de los codos, detrás de rodillas empeine, bajo las nalgas, alrededor del cuello, ojos u orejas? Sí No
¿Bajo qué circunstancias se agravaron estas manchas?.....
(Puede identificar algún alimento, ropa o lugar en particular como la causa)
¿Es su piel fotosensible? Sí No

Antecedentes asmáticos
¿Algún profesional de la salud, le diagnosticó asma? Sí No
¿Qué edad tenía?.....años

Recibió tratamiento farmacológico.....¿Cuál?.....
 ¿Algún profesional de la salud, le diagnosticó broncoespasmo? Sí No

 ¿Qué edad tenía?.....años
 Recibió tratamiento farmacológico.....¿Cuál?.....

¿Ha presentado en por lo menos tres ocasiones en total, o dos veces en el último año, alguno de los siguientes síntomas?

	Sí	No
Respiración sibilante	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sensación de opresión torácica (se le cierra el pecho?)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Disnea (falta de aire)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tos persistente nocturna o al levantarse	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

La aparición de estos síntomas fue de forma espontánea (ESP) o por exposición a algún factor desencadenante (FD) como (emociones, ejercicio, irritantes químicos)

ESP	FD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
-----	----	--------------------------	--------------------------

¿En qué estación del año los síntomas fueron más severos?
 Verano otoño invierno primavera siempre

¿En alguna oportunidad, ha presentado, sibilancias durante o luego de realizar actividad física en los últimos doce meses?

	Sí	No
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

¿Ha tenido alguno de los síntomas mencionados sin que la causa fuera un resfrío, en los últimos doce meses?

	Sí	No
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

¿Tuvo una crisis de asma o bronco espasmo en los últimos 12 meses?

	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--	--------------------------	--------------------------

Enfermedades Respiratorias

¿Alguna vez fue a un hospital o centro de salud por algunas de las siguientes enfermedades?. ¿Fue por una emergencia? ¿Fue necesario dejarlo internado?

	AT	INT	EM		AT	INT	EM
Crup / seudocrup	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Neumonía	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bronquitis/bronquiolitis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Broncoespasmo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Síndromes coronaries	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Reacción alérgica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Neumotórax	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				

¿Se requirió oxígeno y/o asistencia respiratoria mecánica, cuantos días totales?.....días

Alimentación

¿Cuál es su dieta básica? Sí No

Cítricos	<input type="checkbox"/>	Carnes blancas	<input type="checkbox"/>
Carnes rojas	<input type="checkbox"/>	Productos de harina	<input type="checkbox"/>
Huevos	<input type="checkbox"/>	Productos lácteos	<input type="checkbox"/>
Leguminosas	<input type="checkbox"/>	Chocolates	<input type="checkbox"/>
Gaseosas	<input type="checkbox"/>	Panificados	<input type="checkbox"/>
Frutas y verduras	<input type="checkbox"/>	¿de dónde las obtiene?.....	
Jugos comerciales	<input type="checkbox"/>	Otros.....	

Peso:.....Altura:.....

Síntomas Generales

¿Usted presenta frecuentemente?

Fatiga	<input type="checkbox"/>	Sí
Náuseas y vómitos frecuentes	<input type="checkbox"/>	
Diarreas frecuentes	<input type="checkbox"/>	
Dolor de cabeza	<input type="checkbox"/>	

Enfermedades crónicas y oncológicas

Problemas hepáticos Sí No Cuál?.....

Problemas cardíacos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cuál?.....
Anemias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hipertensión	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Sí	No	
Hipertiroidismo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hipotiroidismo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Artritis reumatoidea	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Diabetes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
HIV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cáncer	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	que tipo?
Otras enfermedades:.....			

<u>Medicación</u>	Sí	No
Toma algún tipo de medicamento	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cual?.....Y cuánto?.....		
Toma aspirina o aspirineta o aspirina prevent	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cual?.....Y cuánto?.....		

<u>Embarazos</u>	Sí	No	
¿Embarazada?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
que embarazo es: (primero, segundo.....)			
¿Está amamantando?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Su/s embarazo/s fue/ron a término?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
¿Tuvo perdida o aborto?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	¿Cuántos?.....

<u>Hábitos</u>	Sí	No
¿Actualmente fuma?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ocasionalmente incluye al fumador social, cuantos cigarrillos?		
Pocos (5)	<input type="checkbox"/>	
Intermedio (5-10)	<input type="checkbox"/>	
Muchos (mayor de 10)	<input type="checkbox"/>	
¿Tiene automóvil o moto?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
¿El garaje está comunicado con el interior de su hogar?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Anexo IV

Historia clínica

Historia ocular:

	Si No		Si No
Desprendimiento de retina	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Usuario de computador	<input type="radio"/> <input type="radio"/> _____ Hs x día
Cirugía ocular	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Usuario de maquillaje	<input type="radio"/> <input type="radio"/>
Glaucoma	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Usuario LC (<input type="radio"/> <input type="radio"/> confort _____
Fármacos oculares	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Cual? _____	

1. ¿Tiene usted prescriptas gotas para el tratamiento de ojo seco?
 Si No No sabe

2. ¿Alguna vez experimenta alguno de los siguientes síntomas en los ojos?

	Si No
Dolor	<input type="radio"/> <input type="radio"/>
Picazón	<input type="radio"/> <input type="radio"/>
Sequedad	<input type="radio"/> <input type="radio"/>
Sensación de arenilla	<input type="radio"/> <input type="radio"/>
Ardor	<input type="radio"/> <input type="radio"/>

3. ¿Con qué frecuencia sus ojos tienen estos síntomas?
 Nunca A veces A menudo Constantemente

4. Respecto a sus ojos ¿Considera usted que son inusualmente sensibles al humo del cigarrillo, la contaminación, el aire acondicionado, calefacción central?
 Sí No A veces

5. ¿Sus ojos se ponen muy rojos e irritados al nadar en agua tratada con cloro? (piletas)
 Sí No A veces

6. ¿Tiene sus ojos secos e irritados el día después de beber alcohol?
 Sí No A veces

7. ¿Toma usted comprimidos antihistamínicos, colirios antihistamínicos, diuréticos, pastillas para dormir, tranquilizantes, anticonceptivos orales o medicamentos para la úlcera duodenal, problemas digestivos, presión arterial alta, o para otros?
 Sí No

8. ¿Sufre usted de artritis?
 Sí No No sabe

9. ¿Experimenta sequedad de la nariz, la boca, la garganta, el pecho, o en la vagina?
 Nunca A veces A menudo Constantemente

10. ¿Sufre usted de anomalía de la tiroides?
 Sí No No sabe

11. ¿Usted sabe si duerme con los ojos parcialmente abiertos?
 Sí No A veces

12. ¿Tiene irritación ocular cuando usted se despierta de su sueño?
 Sí No A veces

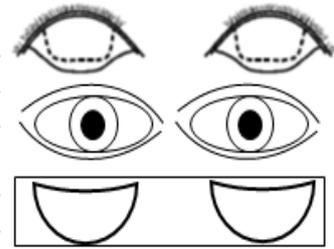
Película Lagrimal:

Schirmer I: OD: _____ OI: _____

Biomicroscopía

OD _____ OI _____
_____ Edema palp. _____
_____ Entropión _____
_____ Ectropión _____
_____ Triquiasis _____
_____ Chalazión _____
_____ Meibomitis _____
_____ Orzuelo _____
_____ Concreciones _____

OD _____ OI _____
_____ Hip. Bulbar _____
_____ Inyección Limbal _____
_____ Neovasc. _____
_____ Pinguecula _____
_____ Pteriguión _____
_____ Hip. Tarsal _____
_____ Papilas _____

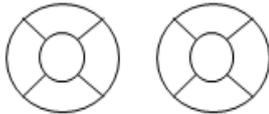


Otros: _____

Patrón: OD: _____ OI: _____ BUTNI: OD: / / s. OI: / / s.

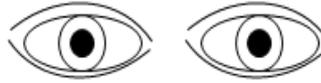
Detritus: OD: _____ OI: _____ DGM: OD: _____ OI: _____

Tinción con fluoresceína
(Tipo/prof./extensión)



OD: / / / OI: / / /

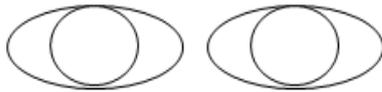
Tinción conjuntival con fluoresceína
(grado/zona)



OD: _____ OI: _____

BUTIN: OD: / / s OI: / / s. Meñisco: OD: _____ OI: _____

Tinción con verde de lisamina
(grado/zona)



OD: _____ OI: _____

Análisis Lágrima:

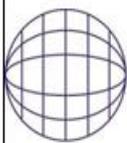
Proteína total OD: _____ µg/µl OI: _____ µg/µl
Lactoferrina OD: _____ µg/µl OI: _____ µg/µl
Albumina OD: _____ µg/µl OI: _____ µg/µl
TSPA OD: _____ µg/µl OI: _____ µg/µl
Lisozima OD: _____ µg/µl OI: _____ µg/µl

Lípidos: OD: _____ OI: _____ Diag: _____

Obs: _____

Anexo V

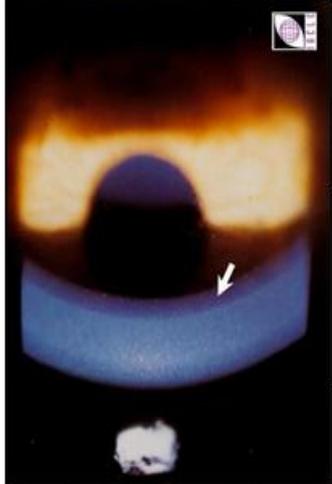
Técnicas en lámpara de hendidura



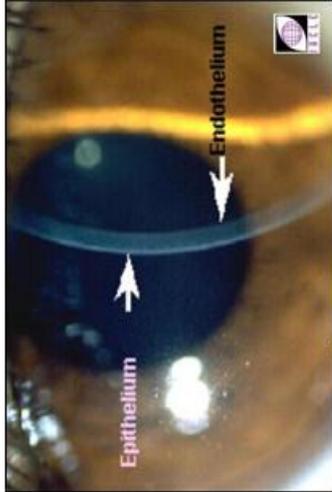
IACLE
Biomicroscopia
Guía FÁCIL
Imágenes



Vista general del segmento anterior (IACLE)

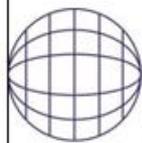


Paralelepípedo enfocado en la córnea (IACLE)



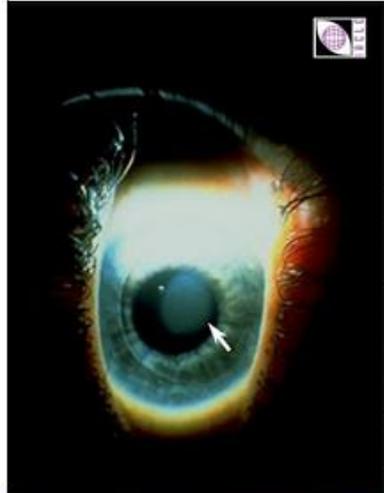
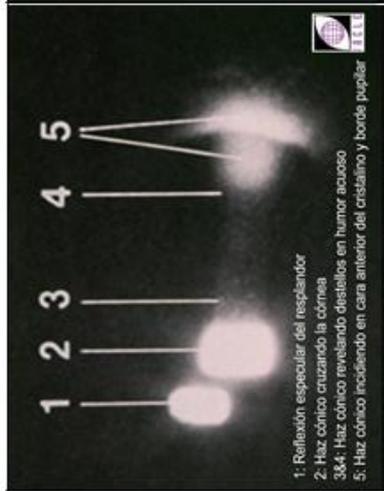
Capas de la córnea (Lowther)

<p>Técnica de Iluminación</p>	<p>DIFUSA</p>	<p>DIRECTA (Paralelepípedo)</p>	<p>DIRECTA (Sección óptica)</p>
<p>Descripción</p>	<p>Haz de luz circular o difuso que es dirigido oblicuamente al segmento anterior. Se utiliza iluminación baja a media, con el uso opcional de un filtro difusor.</p>	<p>El haz luminoso es enfocado en el área a observar. El paralelepípedo, es una hendidura ancha (1 a 3 mm) formando un volumen sólido, enfocado sobre la estructura a ser examinada. Se utiliza una intensidad luminosa baja a media.</p>	<p>El haz luminoso es enfocado en el área a observar. Se utiliza una Sección Óptica i.e. una hendidura delgada (≤ 1 mm), la cual es enfocada en la córnea. Se utiliza intensidad luminosa media a alta.</p>
<p>Magnificación</p>	<p>Baja</p>	<p>Baja a media</p>	<p>Baja a media</p>
<p>Ángulo de Iluminación</p>	<p>45 grados</p>	<p>De 30 a 45 grados</p>	<p>De 30 a 45 grados</p>
<p>Evalúa</p>	<p>Observación general de: - Párpados y pestañas - Conjuntiva y carúncula - Esclera y vasos sanguíneos - Córnea - Iris y pupila</p>	<p>- Córnea: - Nervios corneales, cicatrices, Abrasiones, infiltrados, pliegues y estrías. - Superficie del cristalino. - Evaluación de la adaptación de lentes de contacto.</p>	<p>- Estimar el espesor corneal. - Determinar la profundidad de cuerpos extraños o de opacidades corneales. - Irregularidades corneales. - Película lagrimal con fluoresceína.</p>
<p>Esquema</p>			
<p>Elaborado por: Rolando Rojas y Percy Lazon</p>			

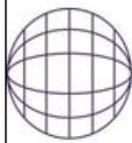


IACLE
Biomicroscopía
Guía FÁCIL

Imágenes

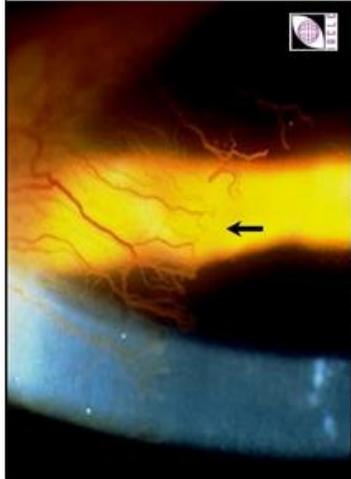


	<p>Cámara anterior transparente (IACLE)</p> <p>HAZ CÓNICO</p> <p>Consiste en un paralelepípedo de baja altura i.e. 2 mm aprox. Esto da como resultado una fuente de luz cuadrada, brillante y pequeña, la cual es enfocada en la cámara anterior (entre la córnea y el cristalino), utilizando una intensidad luminosa alta. Importante: La luz ambiente debe estar completamente disminuida.</p>	<p>Cicatriz corneal (IACLE)</p> <p>INDIRECTA</p> <p>El haz luminoso (paralelepípedo) se hace incidir en una zona adyacente a la zona a observar (zona lesionada/alterada). Se utiliza un paralelepípedo el cual puede ser enfocado sobre la córnea o el cristalino utilizando iluminación baja a media.</p>	<p>Nubosidad corneal central (Caroline)</p> <p>DISPERSIÓN ESCLERAL</p> <p>Consiste en un paralelepípedo enfocado en el limbo corneal, de tal forma que toda la córnea es iluminada, bajo el principio óptico de dispersión de la luz. Se utiliza una intensidad luminosa alta.</p>
<p>Técnica</p>	<p>Alta</p> <p>De 30 a 45 grados</p>	<p>Media a alta</p> <p>De 30 a 45 grados</p>	<p>Baja</p> <p>De 30 a 45 grados</p>
<p>Descripción</p>	<p>Transparencia de la cámara anterior, la cual debe ser totalmente oscura. Si se observan destellos, pigmentos o desechos celulares (fenómeno Tyndall), estamos frente a una respuesta uveal. Normalmente estos hallazgos son signos clínicos de Uveítis.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Vacuolas epiteliales - Erosiones epiteliales - Cicatrices corneales - Patologías del iris - Esfínter pupilar 	<ul style="list-style-type: none"> - Edema epitelial - Cicatrices corneales - Cuerpos extraños
<p>Esquema</p> <p>Elaborado por: Rolando Rojas y Percy Lazo</p>			



IACLE
Biomicroscopía
Guía FÁCIL

Imágenes



Neovascularización corneal (Caroline)

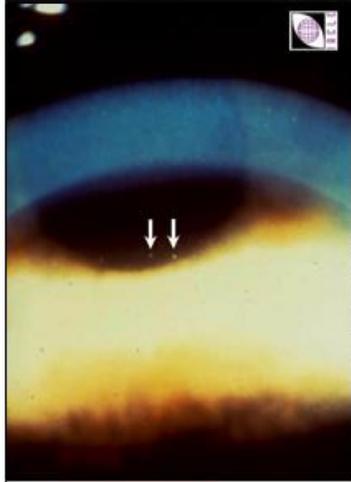
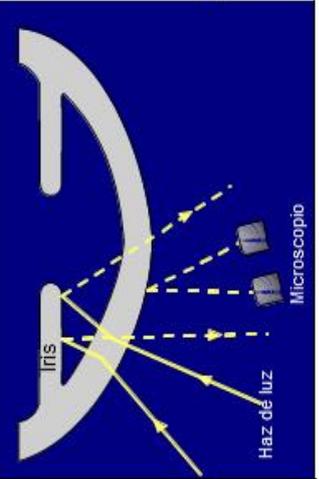
RETRO-ILUMINACIÓN DIRECTA

Se aprovecha la luz que se refleja del iris o retina (luz de fondo) que incide sobre la zona corneal a observar. Se utiliza un paralelepípedo con una intensidad luminosa de media a alta.

Media a alta

60 grados

- Neovascularización corneal
- Cuerpos extraños en córnea
- Depósitos en lentes de contacto



Microquistes epiteliales (Zantos)

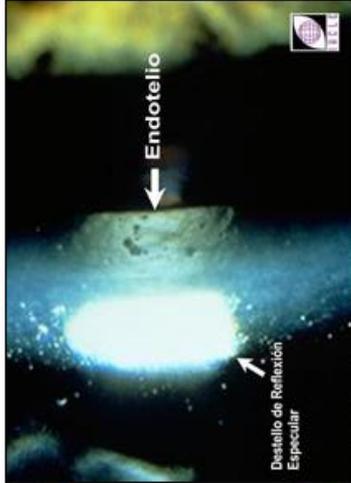
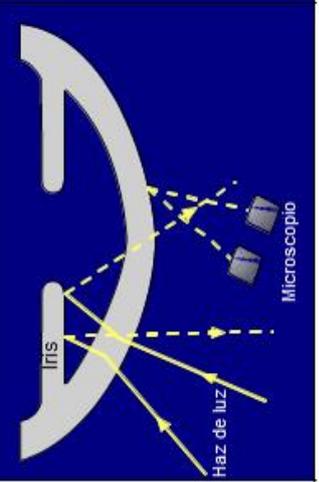
RETRO-ILUMINACIÓN INDIRECTA

La luz que se refleja del iris o retina se hace incidir en un área adyacente a la zona corneal a observar. Se utiliza un paralelepípedo con una intensidad luminosa de media a alta.

Media a alta

Ángulo variable

- Microquistes epiteliales
- Vacuolas epiteliales
- Distrofias corneales
- Opacidades del cristalino
- Depósitos en lentes de contacto



Guaita endotelial (Zantos)

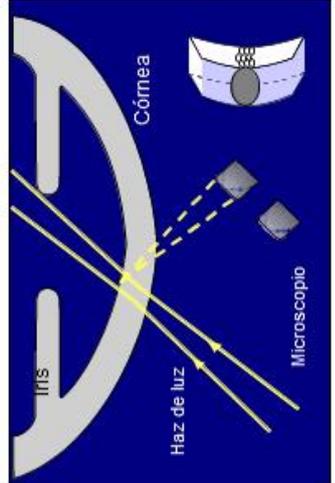
REFLEXIÓN ESPECULAR

Se obtiene cuando el ángulo de incidencia es igual al ángulo de reflexión; de tal manera que el haz reflejado de la córnea pase a través solo de uno de los oculares del microscopio. Se utiliza un paralelepípedo con una intensidad luminosa de media a alta.

Alta

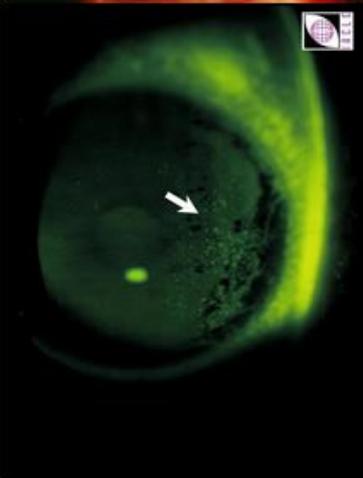
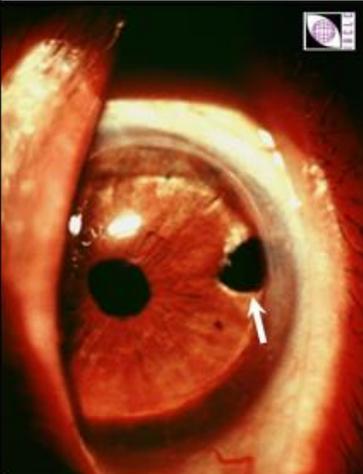
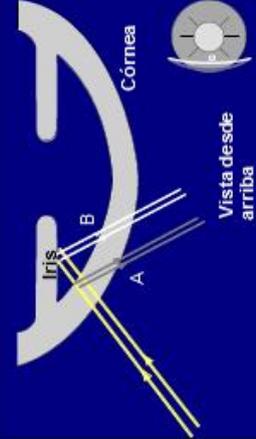
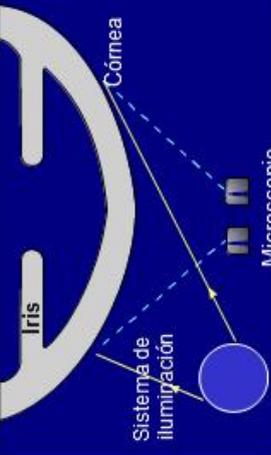
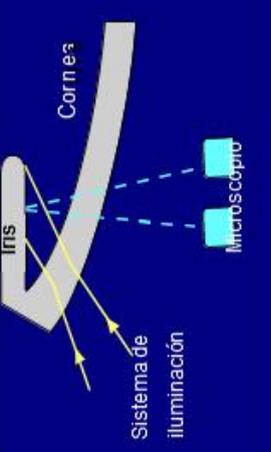
60 grados

- Células del endotelio corneal
- Desechos de la película lagrimal
- Espesor de la capa lipídica de la película lagrimal (patrones de interferencia)



Esquema

Elaborado por:
Rolando Rojas y Percy Lazon

 <p>IACLE Biomicroscopia Guía FÁCIL</p> <p>Imágenes</p>	 <p>— Profundidad de cámara anterior normal (Rojas)</p>	 <p>— Queratitis puntata superficial (IACLE)</p>	 <p>— Coloboma de iris (IACLE)</p>
<p>Técnica de Iluminación</p>	<p>TÉCNICA DE VAN HERICK</p> <p>Consiste en una sección óptica que se enfoca en el limbo de manera que el "corte transversal" del haz de luz de la sección óptica corte la córnea e ilumine el iris. El ancho de la sección corneal es comparado con la distancia entre el iris y la cornea posterior, es decir, el intervalo acuoso.</p>	<p>ILUMINACIÓN FILTRADA</p> <p>Esta técnica utiliza el filtro azul de cobalto más la instilación de fluoresceína. Se puede utilizar en combinación con un filtro Wratten #12 (color amarillo) para mejorar el contraste del fluorograma. La intensidad luminosa es variable.</p>	<p>ILUMINACIÓN TANGENCIAL</p> <p>Es una iluminación oblicua ubicada hacia el canto externo del ojo del paciente y el sistema de observación frente al ojo del examinador, se utiliza un haz de luz difuso con una intensidad luminosa de media a alta.</p>
<p>Descripción</p>	<p>Baja</p>	<p>Baja a Alta</p>	<p>Baja a media</p>
<p>Magnificación</p>	<p>Baja</p>	<p>Ángulo variable</p>	<p>De 70 a 90 grados</p>
<p>Ángulo de Iluminación</p>	<p>De 60 grados</p> <p>El objetivo es determinar que tan cerca se encuentra el iris con relación a la superficie posterior corneal en la zona limbal. Esta técnica es utilizada para estimar la profundidad de la cámara anterior (CA). La relación normal debe ser $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ del espesor de la sección corneal. Igual o menor a $\frac{1}{4}$ estamos frente a una CA moderadamente estrecha.</p>	<p>— Tinción corneal — Tinción conjuntival — Evalúa el tiempo de ruptura de la película lagrimal (BUT) — Evaluación de la adaptación de los lentes de contacto RPG (fluorogramas)</p>	<p>— Tumores de iris — Pigmentación de iris — Estudio del iris (iridología)</p>
<p>Evalúa</p>	 <p>— Vista desde arriba</p>	 <p>— Sistema de iluminación</p> <p>— Microscopio</p>	 <p>— Sistema de iluminación</p> <p>— Microscopio</p>
<p>Esquema</p> <p>Elaborado por: Rolando Rojas y Percy Lazon</p>			

Imágenes obtenidas de International Association of Contact Lens Educators (IACLE) www.iacle.or

Anexo VI

Procedimientos de exploración

Procedimientos de exploración del segmento externo

En el siguiente texto se ordenan los diferentes procedimientos utilizados para la observación subjetiva y objetiva del segmento externo ocular. El orden de realización es concordante con el de aparición, y el mismo fue determinado con el fin de que no existan errores en los valores derivados del orden de las técnicas.

1. Cuestionarios:

- **Ocular Surface Disease Index (OSDI):** *Se le entrega al paciente el siguiente cuestionario para que el voluntario responda mediante una cruz. Las respuestas fueron valoradas según (Schiffman et al. 2000) considerándose Respuestas con valores ≥ 12 como sospecha de ojo seco.*

Conteste a las siguientes preguntas marcando la casilla que mejor represente su respuesta.

¿Ha experimentado alguna de las siguientes alteraciones durante la última semana?

	En todo momento	Casi en todo momento	El 50% del tiempo	Casi en ningún momento	En ningún momento
1. Sensibilidad a la luz.....					
2. Sensación de arenilla en los ojos.....					
3. Dolor de ojos.....					
4. Visión borrosa.....					
5. Mala visión.....					

¿Ha tenido problemas en los ojos que le han limitado o impedido realizar alguna de las siguientes acciones durante la última semana?

	En todo momento	Casi en todo momento	El 50% del tiempo	Casi en ningún momento	En ningún momento	N/A
6. Leer.....						
7. Conducir de noche.....						
8. Trabajar con un ordenador o utilizar un cajero automático.....						
9. Ver la televisión.....						

¿Ha sentido incomodidad en los ojos en alguna de las siguientes situaciones durante la última semana?

	En todo momento	Casi en todo momento	El 50% del tiempo	Casi en ningún momento	En ningún momento	N/A
10. Viento.....						
11. Lugares con baja humedad (muy secos).....						
12. Zonas con aire acondicionado.....						

- **McMonnies (MM):** el presente cuestionario incluye las preguntas detalladas a continuación y que las mismas fueron realizadas por el personal de salud a cargo de la realización de las diferentes técnicas oculares. Las respuestas fueron valoradas según (DEWS 2007b) considerándose respuestas con valores ≥ 12 como sospecha de ojo seco.

-
1. ¿Tiene usted prescriptas gotas para el tratamiento de ojo seco?
 Si No No sabe
 2. ¿Alguna vez experimenta alguno de los siguientes síntomas en los ojos?

	Si	No
Dolor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Picazón	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Sequedad	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Sensación de arenilla	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Ardor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
 3. ¿Con qué frecuencia sus ojos tienen estos síntomas?
 Nunca A veces A menudo Constantemente
 4. Respecto a sus ojos ¿Considera usted que son inusualmente sensibles al humo del cigarrillo, la contaminación, el aire acondicionado, calefacción central?
 Si No A veces
 5. ¿Sus ojos se ponen muy rojos e irritados al nadar en agua tratada con cloro? (piletas)
 Si No A veces
 6. ¿Tiene sus ojos secos e irritados el día después de beber alcohol?
 Si No A veces
 7. ¿Toma usted comprimidos antihistaminicos, colirios antihistaminicos, diuréticos, pastillas para dormir, tranquilizantes, anticonceptivos orales o medicamentos para la úlcera duodenal, problemas digestivos, presión arterial alta, o para otros?
 Si No
 8. ¿Sufre usted de artritis?
 Si No No sabe
 9. ¿Experimenta sequedad de la nariz, la boca, la garganta, el pecho, o en la vagina?
 Nunca A veces A menudo Constantemente
 10. ¿Sufre usted de anomalía de la tiroides?
 Si No No sabe
 11. ¿Usted sabe si duerme con los ojos parcialmente abiertos?
 Si No A veces
 12. ¿Tiene irritación ocular cuando usted se despierta de su sueño?
 Si No A veces
-

2. Procedimiento del Schirmer I:

- a) Se coloca al paciente sentado de manera cómoda en un ambiente con luz tenue;
- b) Con guantes previamente colocados, se doblan los extremos de las tiras de Schirmer;
- c) Se le pide al paciente que mire hacia arriba y se colocan las tiras en el fondo de saco temporal correspondientes al ojo derecho (OD) e izquierdo (OI) de cada paciente;

- d) *Se le pide al paciente que mire al frente, pero que no lo haga hacia los costados o abajo, para que su cornea no entre en contacto con la tira de papel. Además se le aclara que puede parpadear las veces que le sean necesarias;*
- e) *Se dejan las tiras por 5 minutos;*
- f) *Luego se le solicita al paciente que vuelva a mirar hacia arriba y se le retiran las tiras de ambos ojos;*
- g) *Se lee la longitud de humectación de la tira y se la registra en la historia clínica (Hx) según (Vitali et al. 1994);*
- h) *En caso de que el paciente lo necesite, frente a molestias generadas por el test, se le colocan gotas humectantes, posterior a la realización del mismo.*

3. Procedimientos para el análisis del segmento anterior con lámpara de hendidura (LH)

3.1. Valoración sin colorantes

- a) *Calibrar los oculares*
- b) *Adecuar el instrumento para que le resulte cómodo al voluntario y al examinador;*
- c) *Indicar al paciente la posición correcta del mentón y la frente, y pedirle que mire hacia el frente;*
- d) *Alinear las marcas de alineación con el canto externo del ojo del paciente;*
- e) *Encender y desbloquear el instrumento;*
- f) *Comenzando por el OD, abrir totalmente la hendidura e iluminar toda el segmento anterior, en caso de sensibilidad del paciente a la luz colocar el difusor;*
- g) *Colocar el brazo de iluminación con un ángulo de incidencia de 30° del lado temporal respecto a la normal del paciente. Con una iluminación difusa, intensidad media y con un aumento 10X;*
- h) *Pedirle al paciente que mire en la línea media hacia su nariz y observar la conjuntiva bulbar y limbal temporal;*

- i) *Pedirle al paciente que mire hacia arriba y desplazar el instrumento hacia la derecha del examinador mientras se observa la conjuntiva bulbar, limbal y tarsal inferior;*
- j) *Luego se coloca el brazo de iluminación con un ángulo de incidencia de 30° del lado nasal y se le solicita que mire en la línea media hacia su derecha para observar la conjuntiva bulbar y limbal nasal;*
- k) *Finalmente se le pide que mire hacia abajo y se observa la conjuntiva bulbar y limbal superior.*
- l) *Se registran los valores de hiperemia conjuntival y tarsal inferior según la escala de CCLRU (Terry et al. 1993);*
- m) *Repetir el procedimiento con el OI.*

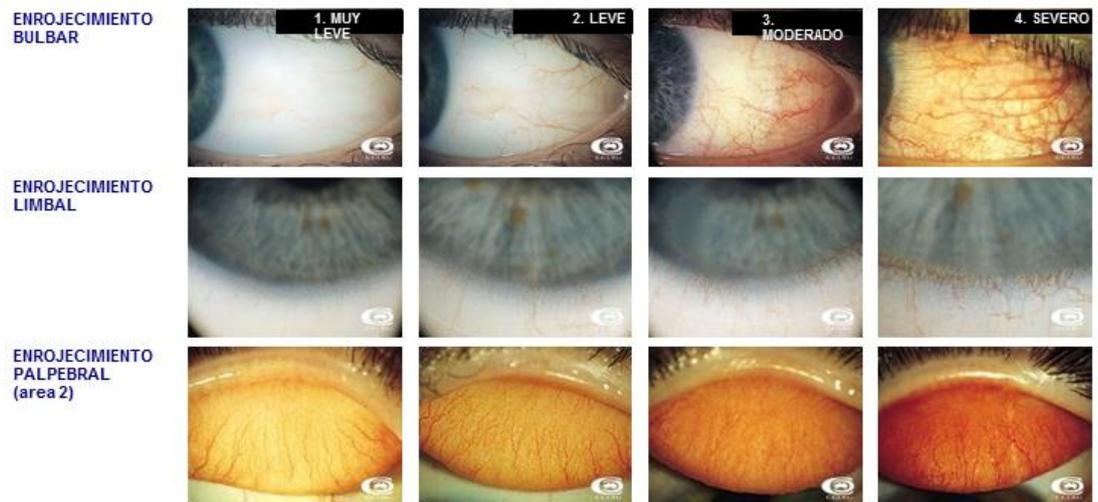


Figura 1: Escala del CCLRU para la hiperemia conjuntival bulbar y tarsal (Terry et al. 1993).

Nota: Aunque el sistema de notación utilizado muestra la hiperemia conjuntival tarsal superior, la misma sirve para valorar la conjuntiva tarsal inferior.

- **Procedimiento para determinación de la Disfunción de las Glándulas de Meibomio (DGM) y de la blefaritis.**
 - a) *Comenzando por el OD, continuar con la iluminación difusa*
 - b) *Pedirle al paciente que mire levemente hacia arriba y observar la blefaritis en el párpado inferior.*

- c) Pedirle al paciente que mire levemente hacia arriba y realizar la expresión digital de las glándulas mediante presión sobre el borde libre del párpado con el dedo pulgar.
- d) Valorar tanto la blefaritis como el tipo de secreción según la escala la escala de (Efron 2000);
- e) Repetir el procedimiento con el OI.

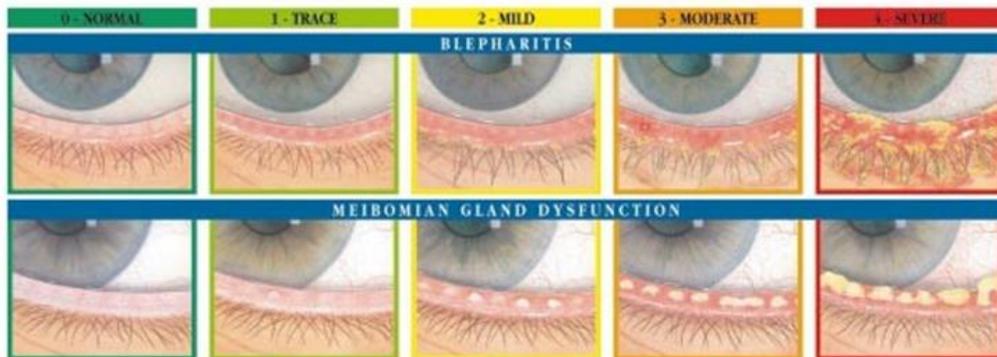


Figura 2: Escala de la disfunción de las glándulas de meibomio, según Nathan Efron (2000).

- **Procedimiento para determinación del patrón lipídico por reflexión especular.**
 - a) Situar la LH frente al OD del paciente.;
 - b) Colocar el brazo de iluminación con un ángulo de incidencia de 20° del lado temporal respecto a la normal del paciente;
 - c) Colocar el brazo de observación (LH), con un ángulo de incidencia de 20°, del lado nasal con respecto de la normal al paciente;
 - d) De esta forma deberá quedar finalmente un ángulo de 40° entre los brazos de iluminación y observación;
 - e) Incrementar el aumento del equipo a 25 X o 40 X;
 - f) Aproximar lentamente el biomicroscopio hacia la córnea hasta enfocar el espejo del sistema de iluminación sobre la capa lagrimal;
 - g) Realizar un paralelepípedo de 2 mm de ancho con la hendidura;
 - h) Desplazar el instrumento de forma tal que se superponga el espejo con la parte anterior del paralelepípedo. En ese momento aparecerá una zona muy brillante que corresponde a la película lagrimal;
 - i) Verificar que en la sección fina del paralelepípedo se visualice el endotelio corneal;

- j) Identificar el patrón lagrimal que se visualiza por interferometría y observar si hay detritus que fluyen en la lágrima, pidiendo al paciente que parpadee las veces que considere necesario para realizar una correcta evaluación;*
- k) Registrar en el patrón lagrimal y la cantidad de detritus encontrada según (Guillon 1998);*
- l) Repetir el procedimiento con el OI.*

Nota: No demorar en la realización de la prueba, puesto que la incidencia de la luz aumenta la evaporación de la lágrima y subestima el valor real.

- **Procedimiento del BUTIN:**

- a) Comenzando por el OD, abrir totalmente la hendidura e iluminar toda la superficie corneal;*
- b) Colocar el filtro azul cobalto, aumentar la intensidad de iluminación y seleccionar una magnificación que permita la observación completa de la córnea (aproximadamente entre 10X a 16X);*
- c) Colocar una gota de solución salina en la tira de fluoresceína (sin tocar el pico de la botella con el fósforo a fin de no contaminarla y colocar un papel debajo del sector de manipulación para no manchar la superficie del instrumento);*
- d) Pedir al paciente que mire hacia arriba y colocar la fluoresceína en el fondo del saco inferior, luego pedirle que parpadee a los efectos de que se distribuya en forma homogénea;*
- e) Hacer foco en la capa lagrimal;*
- f) Pedirle al paciente que detenga el parpadeo y en simultáneo activar el cronometro para cuantificar el tiempo de ruptura lagrimal;*
- g) Explorar visualmente toda la superficie corneal buscando la aparición de puntos secos (manchas oscuras por ausencia de fluoresceína, que se provocan por la ruptura de la capa la capa lagrimal, la cual debía estar estable y homogénea al inicio de la prueba);*
- h) Al observar los puntos o zonas secas/negras, detener el cronometro;*
- i) Registrar el tiempo;*

- j) Pedir al paciente que vuelva a parpadear para que su película lagrimal se distribuya de forma normal y repetir la prueba 2 veces más, registrando cada valor según (Vitali et al. 1994);
- k) Repetir el mismo procedimiento para el OI;
- l) Finalmente sacar el promedio de las medidas y registrar ese valor de referencia para cada ojo con su correspondiente unidad de medida (segundos).

- **Procedimiento de valoración de la tinción corneal con fluoresceína**

- a) Aprovechando la fluoresceína y la luz cobalto utilizada en el procedimiento anterior, visualizar la córnea y la conjuntiva bulbar del OD con un aumento de 16X e intensidad media a alta.
- b) En caso de visualizar puntos o zonas brillantes en la córnea, se puede llevar la LH a 25X para mayor detalle.
- c) Luego realizar una sección óptica para verificar la profundidad de la lesión.
- d) Realizar la notación de la tinción corneal y conjuntival según la escala de CCLRU (Terry et al. 1993).
- e) Repetir el procedimiento con el OI.

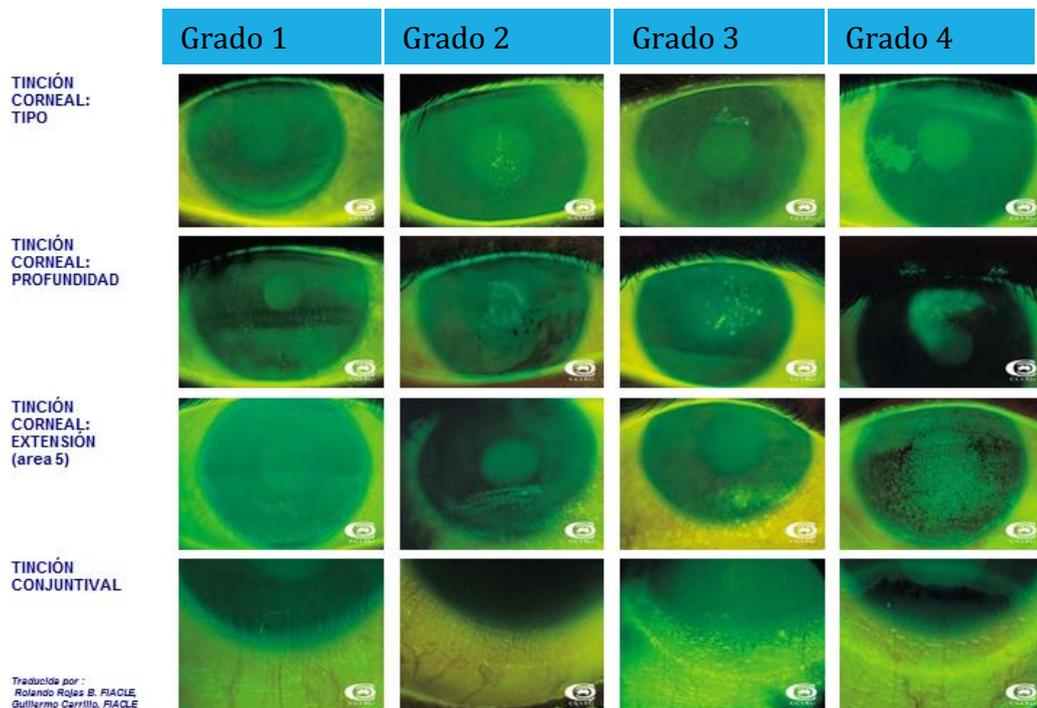


Figura 3: Escala del CCLRU para la tinción corneal y conjuntival con fluoresceína (Terry et al. 1993).

- **Procedimiento de medida del menisco lagrimal.**

- a) Posterior al procedimiento anterior, realizar con la LH un paralelepípedo angosto, con una magnificación de 16X, iluminación media, un ángulo de 0°;
- b) Iluminar el menisco en la zona central del párpado inferior;
- c) Observar la altura del mismo en relación al espesor del borde palpebral y el perfil del mismo a lo largo del párpado inferior;
- d) Registrar que la altura del menisco como fracción: 1/x, donde x representa las veces que el menisco entra en el borde libre del párpado. Así como también el perfil en continuo, ondulado o discontinuo según (Terry 1984; Mainstone et al. 1996);
- e) Repetir el procedimiento con el OI.

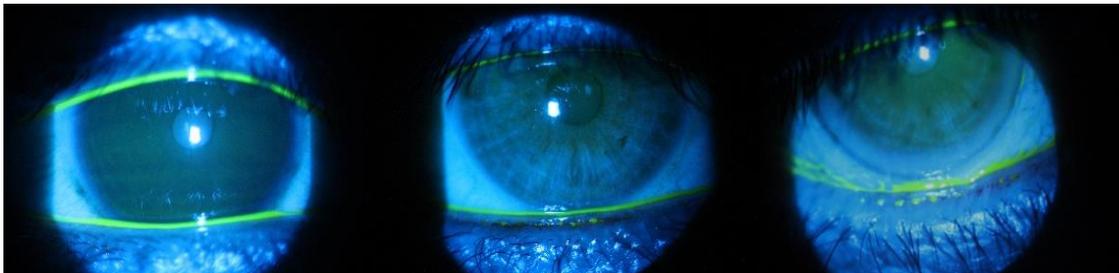


Figura 4: Ejemplos de meniscos lagrimales: a) normal continuo; b) bajo continuo; c) menisco discontinuo.

- **Procedimiento de medida de los pliegues conjuntivales paralelos al párpado (LIPCOF).**

- a) En forma consecutiva, observar los LIPCOF, para ello pedir al paciente que mire en posición primaria de mirada (PPM);
- b) Luego abrir el paralelepípedo de angosto a ancho, con una magnificación de 16X, iluminación media y filtrada azul cobalto con un ángulo de 30°;
- c) Observar si existen pliegues conjuntivales en la zona temporal del OD, los cuales pueden superar o no la altura del menisco lagrimal;
- d) Registrar que los mismos según la clasificación de Höh (1995):
 - Grado 0: sin presencia de pliegues;
 - Grado 1: un solo pliegue en PPM por debajo del meniscos lagrimal;
 - Grado 2: múltiples pliegues hasta la altura del menisco lagrimal;
 - Grado 3: múltiples pliegues más altos que el menisco lagrimal;

e) *Repetir el procedimiento con el OI.*

• ***Procedimiento de valoración de la tinción corneal con verde de lisamina***

a) *Comenzando por el OD, abrir totalmente la hendidura e iluminar toda la superficie corneal;*

b) *Colocar luz sin filtrar, un ángulo de observación de 30°, intensidad de iluminación media y una magnificación entre 10X a 16X;*

c) *Colocar una gota de solución salina en la tira de verde de lisamina (sin tocar el pico de la botella con el fósforo a fin de no contaminarla y colocar un papel debajo del sector de manipulación para no manchar la superficie del instrumento);*

d) *Pedir al paciente que mire hacia arriba y colocar el verde de lisamina en el fondo del saco inferior, luego pedirle que parpadee a los efectos de que se distribuya en forma homogénea;*

e) *Pedirle al paciente que detenga el parpadeo y explorar visualmente toda la superficie de la conjuntiva bulbar temporal y nasal, y la superficie corneal buscando la aparición de puntos verdes;*

f) *En caso de existir zonas teñidas, registrar según la escala de (Norn 1973; Bron et al. 2003):*

- *Grado 1: tinción ausente;*
- *Grado 2: tinción leve;*
- *Grado 3: tinción moderada;*
- *Grado 4: tinción severa;*
- *Grado 5: tinción marcada.*

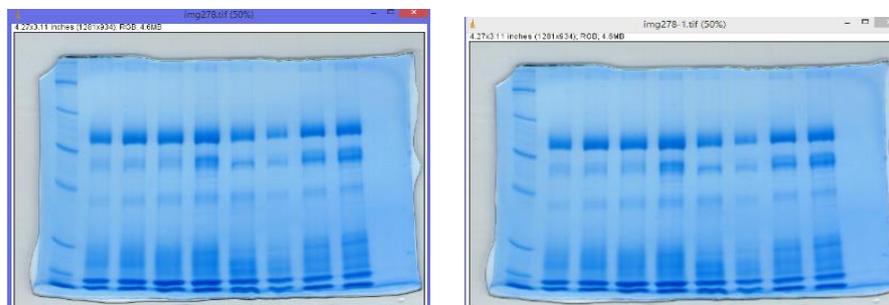
g) *Repetir el mismo procedimiento para el OI.*

Anexo VI

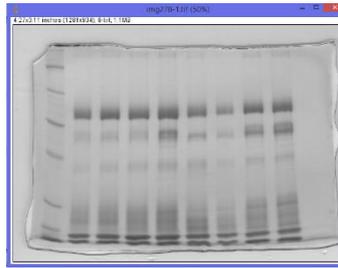
Procesamiento de las imágenes

Las imágenes de los minigeles se procesaron con el software de acceso libre ImageJ (versión 1.38). El mismo se utiliza para el procesamiento de diferentes imágenes científicas multidimensionales, con muchos plugins y macros para realizar una amplia variedad de tareas. En nuestro caso lo utilizamos para estimar las concentraciones relativas de las diferentes proteínas. Para ello definimos un protocolo que se puede visualizar a continuación:

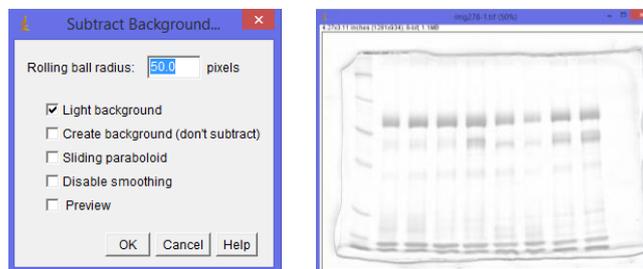
1. Se abre la imagen con extensión .tiff, se la duplica yendo a image/duplicate.



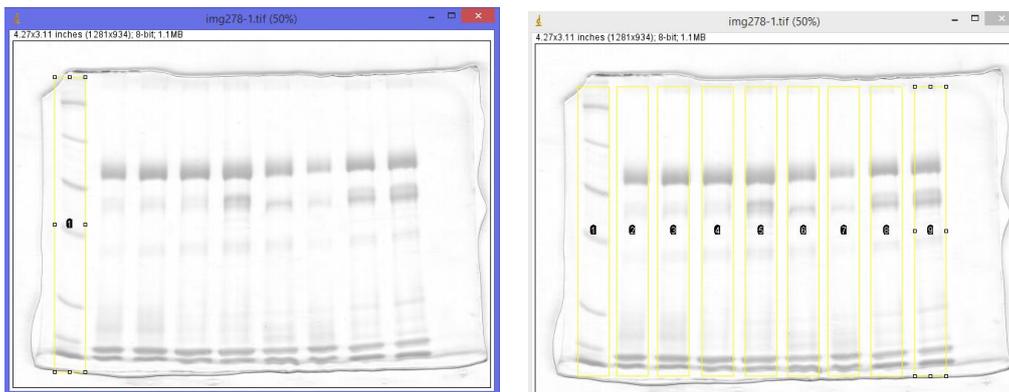
2. Luego se la pasa a 8 bits, en `image/type/8-bits`



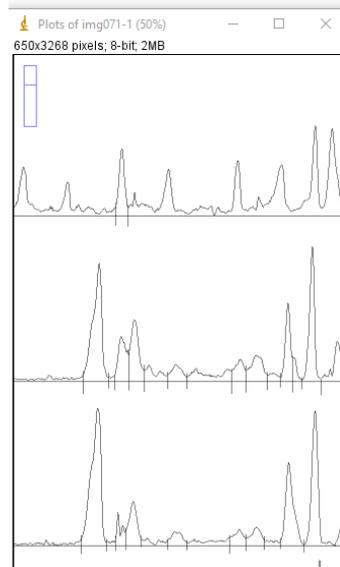
3. Luego para eliminar los errores a la hora de cuantificar, se le sustrae el fondo a todos por igual, con la función `process/subtract background`. Esto permite visualizar mejor los picos eliminándole el ruido.



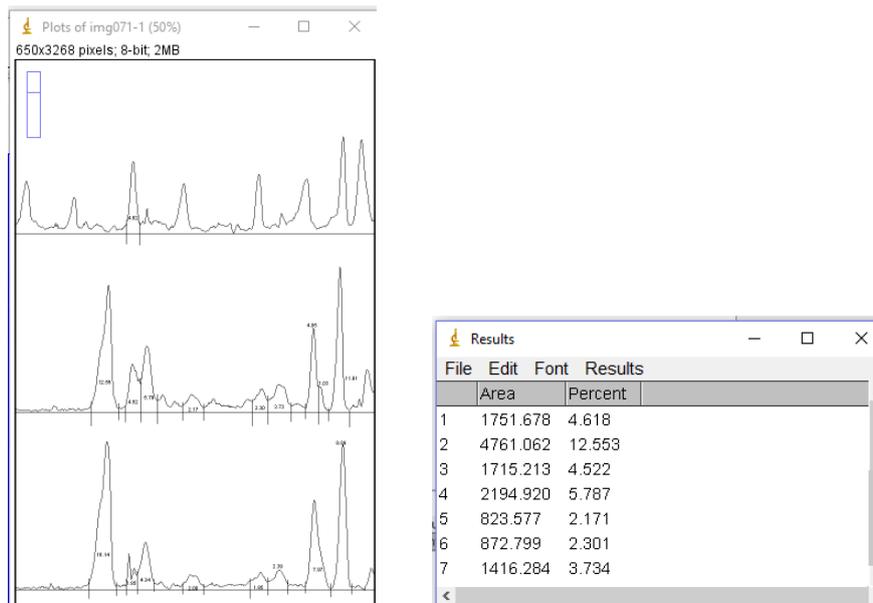
4. Luego con la herramienta de rectángulo se selecciona el patrón de peso molecular como línea 1, posicionando en `analyze/gels/selects first lane` con la herramienta del rectángulo. A continuación se arrastra el area seleccionada y se marcan el resto de las corridas en `analyze/gels/selects next lane`.



5. Luego se va a en *analyze/gels/plot lines* y se obtiene las área de cada curva.



6. Primeramente se toma un pico del patrón de peso molecular para que actúe como referencia para intensidad, ya que como todos los geles tiene el mismo pico, se lo toma a este como intensidad relativa y se descartan errores de tinción y comparación de los distintos geles. Para ello se marca con la herramienta líneas rectas al costado del pico referencia y de cada pico existente en cada corrida y con la herramienta de la varita mágica se las selecciona una por una y el software informa de la intensidad relativa de cada pico y si se va a *analyze/gels/label peaks* se obtiene la intensidad relativa en porcentajes.



7. Luego con los valores de intensidad relativa, se toma el valor del pico 1 como referencia y se obtienen los valores de intensidad relativa al pico 1. De esta forma podemos comparar los resultados de los diferentes geles, pudiendo obtener la concentración de cada una de las bandas, ya que controlamos la concentración de proteínas que sembramos en cada calle.

<i>Gel n° 1</i>					
	X_1	Y_1		X_1	Y_1
I1	2,72	3,50	C1	0,77	1,04
I2	0,98	0,40	C2	0,28	0,12
I3	1,25	0,94	C3	0,36	0,28
I4	0,47	0,43	C4	0,13	0,13
I5	0,50	0,42	C5	0,14	0,13
I6	0,81	0,52	C6	0,23	0,15
I7	1,05	1,73	C7	0,30	0,51
I8	0,22	0,00	C8	0,06	0,00
I9	2,58	2,14	C9	0,73	0,64

Tabla 1. Representación de las intensidades absolutas (*I*) y de las concentraciones (*C*) de cada banda del gel. Las muestras (*X* e *Y*) de un voluntario ejemplo se expresan con el subíndice 1.

Anexo VI

Producción científica y proyectos

Trabajos publicados en congresos Nacionales

1. Título: *“ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN PRETEÍNICA EN LAGRIMAS DE POBLACIONES EXPUESTAS A LA CONTAMINACIÓN AÉREA POR MATERIAL PARTICULADO EN ZONAS URBANAS E INDUSTRIALES”*.
Autores: **M. A. Gutiérrez**, D. Sedan, M. A. Serradell, M. Orte, A. Porta, D. Andrinolo.
Año: **2013**
Publicación: Contaminación ATMOSFERICA E HIDRICA EN Argentina, Tomo II. Contribuciones del IV Congreso Proimca y II congreso Prodeca. PULIAFITO, ALLENDE PANIGATTI (Eds) Pág. 549-556, 05/06/2013. E-Book. ISBN 978-950-42-0150-2.
2. Título: *“INCIDENCIA DEL OJO SECO EN POBLACIONES EXPUESTAS A DIFERENTES CALIDADES DE AIRE”*.
Autores: **M. A. Gutiérrez**, M. E. Ruiz, D. Sedan, A. Porta, D. Andrinolo.
Año: **2015**
Publicación: Contaminación atmosférica e hídrica en argentina, Tomo III. Contribuciones del V Congreso Proimca y III congreso Prodeca. Allende, Puliafito y Panigatti (Eds). Pág. 241-250, 08/2015. E-Book. ISBN 978-950-42-0163-2.
3. Título: *“EVALUACIÓN DEL RIESGO TOXICOLÓGICO DE EVENTUALES EMERGENCIAS QUÍMICAS EN ESCENARIOS SUBURBANOS Y RURALES DEL PARTIDO DE LA PLATA. ETAPA 1.”*.
Autores: Balbi, Karina; Orte, Marcos A.; Elordi, María L.; **Gutiérrez, María de los A.**; Colman Lerner, Jorge E.; Porta, Atilio A.; Sánchez, Érica Y.
Año: 2015

Publicación: Contaminación atmosférica e hídrica en argentina, Tomo III. Contribuciones del V Congreso Proimca y III congreso Prodeca. Allende, Puliafito y Panigatti (Eds). Pág. 113-128, 08/2015. E-Book. ISBN 978-950-42-0163-2.

4. Título: *"ESTUDIO DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS ASOCIADOS AL MATERIAL PARTICULADO Y EN FASE GASEOSA EN LA CIUDAD DE LA PLATA Y ALREDEDORES"*.

Autores: Orte, Marcos; Colman Lerner, J. Esteban; **Gutiérrez, María A.**; Elordi, M. Lucila; Matamoros, Natalia; Reyna Almandos, Jorge; Porta, A. Andrés.

Año: **2015**

Publicación: Contaminación atmosférica e hídrica en argentina, Tomo III. Contribuciones del V Congreso Proimca y III congreso Prodeca. Allende, Puliafito y Panigatti (Eds). Pág. 265-274, 08/2015. E-Book. ISBN 978-950-42-0163-2.

5. Título: *"PARASITOSIS INTESTINALES EN UNA POBLACIÓN ADULTA URBANA"*.

Autores: Gutiérrez, María; Costas Malena; Elordi, Lucila; Tersigni, Carina; Delaplace, Laura; Darío Andrinolo; Porta, Andrés y Leonora Kosubsky.

Año: **2015**

Publicación: Libro de Resúmenes del VII Congreso Argentino de Parasitología. Liliana Semenas, et al (Eds) Pág. 103. ISBN 978-987-44069-1-4.

Trabajos publicados en congresos Internacionales

6. Título: *"CHANGES IN THE COMPOSITION TEAR BECAUSE OF THE AIR POLLUTION BY MATERIAL PARTICLES IN LA PLATA AND AROUND"*.

Autores: **Gutiérrez María**, Sedan Daniela, Serradell María, Delaplace Laura, Porta Atilio, Andrinolo Darío.

Año: **2013**

Publicación: Libro de memorias del IV Congreso Colombiano y Conferencia Internacional de Calidad del Aire y Salud Pública (CASAP IV). JORGE E.PACHON (Eds) Pág. 459-464, 16/08/2013. E-Book. ISBN 978-958-8572-90-1. <http://ingenieria.lasalle.edu.ar>

7. Título: *"AIR POLLUTION AND HEALTH EFFECTS ON CHILDREN. COMPARATIVE STUDY BETWEEN LA PLATA AND BAHIA BLANCA, BUENOS AIRES, ARGENTINA"*.

Autores: Colman Lerner JE.; Morales A.; Aguilar M.; Giuliani D.; Orte M.; **Gutiérrez M.**; Ditondo J.; Doderó V.I.; Massolo L.; Sánchez EY.; Matamoros N.; Porta A.

Año: **2013**

Publicación: Libro de memorias del IV Congreso Colombiano y Conferencia Internacional de Calidad del Aire y Salud Pública (CASAP IV). JORGE

E.PACHON (Eds) Pág. 223-232, 16/08/2013. E-Book. ISBN 978-958-8572-90-1. <http://ingenieria.lasalle.edu.ar>

8. Título: *“EL SÍNDROME METABÓLICO Y SU EXPRESIÓN FRENTE A FACTORES AMBIENTALES”*.

Autores: **Gutiérrez, María**; Carhuamaca Antezana, Luisa; Sánchez, Yanina; Porta, Andrés; Andrinolo, Darío.

Año: **2015**

Publicación: Libro de memorias del V Congreso Colombiano y Conferencia Internacional de Calidad del Aire y Salud Pública (CASAP V). JORGE E.PACHON (Eds) Pág. 223-232, 16/08/2015. E-Book. ISBN 978-958-8572-90-1. <http://ingenieria.lasalle.edu.co>

9. Título: *“LA PELÍCULA LAGRIMAL Y LAS AFECCIONES QUE GENERA LA CONTAMINACIÓN AÉREA”*.

Autor: María de los Ángeles Gutiérrez. Darío Andrinolo, Atilio Andrés Porta (orientadores).

Año: **2013**

Publicación: Libro de resúmenes de las XXI Jornadas de jóvenes investigadores asociación de universidades grupo Montevideo (AUGM). Volumen II.

Ediciones UNNE (Eds) Pág. 919-920. ISBN 978-987-3619-00-7.

Dirección de proyectos

Título del proyecto: “Prevención y promoción de la salud en una población expuesta a contaminación aérea”

Duración: del 04/2015 al 01/2016.

Entidad que acredita y financia: Facultad de Ciencias Exactas – UNLP.

Carácter de participación: Directora.

Título del proyecto “Prevención y promoción de la salud. Una experiencia en una población expuesta a contaminación aérea”

Duración: 2016.

Entidad que acredita: Universidad Nacional de La Plata - UNLP.

Carácter de participación: Directora.