



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA
VETERINÁRIA

AVALIAÇÃO DA SUPERFÍCIE OCULAR DE CÃES

Aline Stephanie Silva Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Ismar Silva Santana

BRASÍLIA – DF

FEVEREIRO/2023



ALINE STEPHANIE SILVA CARVALHO

AVALIAÇÃO DA SUPERFÍCIE OCULAR DE CÃES

Trabalho de conclusão de curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Ismar Silva Santana

BRASÍLIA – DF

FEVEREIRO/2023

SS828a STEPHANIE SILVA CARVALHO, ALINE
AVALIAÇÃO DA SUPERFÍCIE OCULAR DE CÃES / ALINE STEPHANIE
SILVA CARVALHO; orientador MARCELO ISMAR SILVA SANTANA. --
Brasília, 2023.
58 p.

Monografia (Graduação - MEDICINA VETERINÁRIA) --
Universidade de Brasília, 2023.

1. Oftalmologia Veterinária. 2. Superfície ocular. 3.
Filme Lacrimal. 4. Cão. I. ISMAR SILVA SANTANA, MARCELO,
orient. II. Título.

Cessão de Direitos

Autor: Aline Stephanie Silva Carvalho

Título: Avaliação da superfície ocular de cães

Ano: 2023

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Aline Stephanie Silva Carvalho

Aline Stephanie Silva Carvalho

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: CARVALHO, Aline Stephanie Silva

Título: AVALIAÇÃO DA SUPERFÍCIE OCULAR DE CÃES

Trabalho de conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Aprovado em 03/02/2023

Banca Examinadora

Prof. Dr. Marcelo Ismar Santana

Instituição: FAV/UnB

Julgamento: APROVADO

Assinatura: _____



Prof^a. Dr^a. Paula Diniz Galera

Instituição: FAV/UnB

Julgamento: APROVADO

Assinatura: _____



Dr. Mário Sérgio Falcão

Instituição: FAV/UnB

Julgamento: APROVADO

Assinatura: _____



MSc. USC. Mário Falcão
Médico Veterinário
CRMV 1572

DEDICATÓRIA

À minha querida cadela, Catusha (*in memoriam*), que me viu crescer e entrar na faculdade de Medicina Veterinária. Meu primeiro amor em forma de cachorro. Continuo sempre com você no coração. Sinto muito sua falta. Aos meus queridos ratos twister, Haroldo (*in memoriam*) e Teodoro (*in memoriam*). Vocês me fazem muita falta todos os dias. E, por fim, aos meus queridíssimos cachorros Yoshi e Pingo e minha calopsita Faísca. O amor incondicional que sinto por todos vocês faz a Veterinária fazer mais sentido do que nunca e me dá propósito todos os dias.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais. Sem eles, nada disso seria possível. Muito obrigada por sempre colocar minha educação em primeiro lugar, por todo apoio e suporte.

À professora Paula Diniz Galera, minha grande inspiração profissional e acadêmica, que me apresentou o mundo da oftalmologia veterinária e fez eu me apaixonar por ele. Muito obrigada por ter acreditado em mim e por toda a paciência, oportunidades e aprendizado.

À professora Simone Perecmanis, que fez eu me apaixonar pela pesquisa científica e me deu minha primeira oportunidade. Serei pra sempre grata.

À minha irmã de outra mãe, Vitória Milanez. Muito obrigada por tudo. Seria impossível elencar aqui tudo que sou grata a você. Minha parceira de incontáveis anos e melhor amiga.

Aos meus amigos do peito, Thiago Araújo e Brendha Mendes. Sem vocês, a graduação não teria sido tão feliz. Muito obrigada por todo o apoio, amor e parceria de todos esses anos.

Ao meu parceiro João Vitor, cujo apoio incondicional me trouxe até aqui. Muito obrigada por todo o amor, carinho, aprendizado e suporte. Obrigada por sempre acreditar no meu potencial e ser o meu maior motivador.

À toda a equipe do Centro Veterinário da Visão. Em especial aos veterinários Mário Falcão, Layla Cruz e Paulo Sampaio. Serei eternamente grata por toda a paciência, aprendizado e afeto que recebi. Muito obrigada por acreditarem em mim e me ajudarem a navegar durante esse período tão importante da minha vida. Vocês me inspiram continuamente.

A todos os membros do Grupo de Estudos De Oftalmologia Veterinária da Universidade de Brasília. Vocês me introduziram ao estudo da oftalmologia e por isso serei sempre grata. Um agradecimento em especial à Rosélia Araújo, Laura Reis, Rômulo Vitelli e Rafaela Tozetti. Muito obrigada por todo o aprendizado.

À toda equipe do Hospital Veterinário da Universidade de Brasília para Animais de Pequeno Porte. Aos preceptores da Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais (Ingrid Baraldi e Rômulo Vitelli), às residentes (Maylane Tavares, Jeanne Paolini, Camila Marques e Lara Cury) e à Auricélia e Tábata. Todos foram importantíssimos para o meu aprendizado e crescimento como graduanda.

Aos professores que sempre fizeram meus olhos brilharem durante a graduação e me inspiram imensamente, em especial Paula Galera, Marcelo Ismar, Mário Falcão, Simone Peregmanis, Jair Costa, Christine Martins, Rita Campebell, Gláucia Bueno, Giane Paludo, Ricardo Miyasaka.

“Se você procurar pela perfeição, nunca estará contente.”

Liev Tolstói, *Anna Kariênina*

SUMÁRIO

RESUMO.....	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. AVALIAÇÃO DA SUPERFÍCIE OCULAR.....	3
2.1. Avaliação Quantitativa.....	3
2.1.1. Teste da lágrima de Schirmer	4
2.1.2. Teste do Fio Vermelho Fenol	8
2.1.3. Meniscometria	8
2.1.4. Tira Endodôntica de Papel Absorvente	10
2.2. Avaliação Qualitativa	12
2.2.1. Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal	12
2.2.2. Citologia e Biópsia de Células Caliciformes	13
2.2.3. Corantes Vitais	15
2.2.4. Clearance da lágrima	21
2.2.5. Teste de Cristalização da Lágrima	23
2.2.6. Meibometria.....	26
2.2.7. Meibografia.....	28
2.2.8. Interferometria	30
2.2.9. Eletroforese – Bioquímica da Lágrima.....	30
3. CONCLUSÕES	32
4. REFERÊNCIAS.....	33

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Realização do Teste da Lágrima de Schirmer 1	5
FIGURA 2 – Teste da Lágrima de Schirmer 1 com estimulação nasolacrimal	7
FIGURA 3 – Teste do Fio Vermelho Fenol.....	8
FIGURA 4 – Meniscometria.....	10
FIGURA 5 – Teste com Tira Endodôntica de Papel Absorvente	11
FIGURA 6 – Fluoresceína em fita estéril com uma gota de solução salina.....	16
FIGURA 7 – Teste de Jones positivo em cão.....	19
FIGURA 8 – Lissamina verde em fita estéril com uma gota de solução salina	20
FIGURA 9 – Impregnação por Rosa Bengala na SO de um cão.....	21
FIGURA 10 – Escala Rolando de graduação dos padrões de cristalização do filme lacrimal.....	24
FIGURA 11 – Escala Masmali de graduação dos padrões de cristalização do filme lacrimal.....	25
FIGURA 12 – Teste de cristalização lacrimal à microscopia de luz, em dois cães braquicefálicos com valores de TLS dentro da normalidade	26
FIGURA 13 – Equipamento OSA-VET	29

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores de referência dos testes quantitativos	12
---	----

LISTA DE ABREVIações

BUT – Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal (*Break-Up Time*)

CCS – Ceratoconjuntivite Seca

DOS – Doença do Olho Seco

FL – Filme lacrimal

FLPC – Filme lacrimal pré-corneano

GM – Glândulas de Meibômio

LIV – Luz Infravermelha

Min – Minuto

mL – Mililitro

mm – Milímetro

mm/15 s – Milímetros por 15 segundos

mm/min – Milímetro por minuto

mm/s – Milímetro por segundo

MU – *Meibometry Units* ou Unidades de Meibometria

OSA-VET – Analisador de Superfície Ocular (*Ocular Surface Analyzer*)

PAS – Ácido periódico-Schiff

PT – Proteína

S – Segundo

SDS-PAGE – Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecilsulfato de sódio

SMT – Meniscometria

SO – Superfície ocular

TCL – Teste de Cristalização da Lágrima

TEPA – Tira Endodôntica de Papel Absorvente

TFVF – Teste do Fio Vermelho Fenol

TLS – Teste da Lágrima de Schirmer

TLS-1 com ENL – Teste da Lágrima de Schirmer 1 com estimulação nasolacrimal

TLS-m – Teste da Lágrima de Schirmer Modificado

UFL – Unidade Funcional Lacrimal

μl – Microlitro

μm – Micrômetro

RESUMO

A superfície ocular (SO) dos cães é um campo amplo e de extrema importância, até mesmo para o desenvolvimento de pesquisas translacionais para os seres humanos. A forma de avaliação do filme lacrimal (FL) dos cães se baseia em métodos quantitativos e qualitativos. O objetivo do presente trabalho, cujas informações foram obtidas por meio de revisão de literatura, é apresentar os métodos de avaliação do FL, seus valores de referência e como interpretá-los. Quantitativamente, apenas a porção aquosa da camada mucoaquosa é avaliada, por meio do Teste da Lágrima de Schirmer 1 (TLS-1) que também avalia a lágrima reflexa, enquanto o TLS-2 que avalia apenas a porção basal. Além disso, existem métodos quantitativos adicionais como Meniscometria (SMT), além do Teste da Fita Vermelho Fenol (TFVF) e Tira endodôntica de papel absorvente (TEPA). Já acerca da avaliação qualitativa, a camada lipídica pode ser avaliada por meio da Interferometria e Meibometria, enquanto a Meibografia avalia a morfologia das glândulas de Meibômio. São exames que, associados, auxiliam no diagnóstico e acompanhamento de Doença do Olho Seco (DOS) causada por deficiência lipídica. Os corantes vitais são de extrema importância para a avaliação da SO: Rosa Bengala e Lissamina Verde são úteis para avaliar erosão e disfunção da SO, além das informações cedidas pela fluoresceína acerca da integridade da córnea, patência do ducto nasolacrimal, avaliação da estabilidade do FL (BUT) e extravasamento do humor aquoso (HA) pela córnea. Já a composição bioquímica e qualidade do FL pode ser avaliada por meio do Teste de Cristalização Lacrimal (TCL) e suas escalas de padronização. Atualmente, pesquisas científicas estão sendo desenvolvidas acerca da proteômica lacrimal de cães e sua associação com patologias. Portanto, não é possível avaliar o FL como um todo com apenas um exame, já que o FL em si é um meio extremamente dinâmico e complexo, e durante processos patológicos toda a dinâmica é desbalanceada. A grande diversidade de exames é um reflexo da grande diversidade de informações que podemos obter do FL.

Palavras-chave: oftalmologia veterinária, superfície ocular, filme lacrimal, cão

ABSTRACT

Dog's ocular surface (OS) is a vast and important field, even for the development of translational research for human beings. The way to evaluate tear film (TF) of dogs is based in quantitative and qualitative methods. The objective of this research, whose information was acquired through a literature review, is to present the FL evaluation methods, their reference values and how to interpret them. Quantitatively, only the aqueous portion of the mucoaqueous layer is evaluated by the Schirmer Tear Test 1 (STT-1) that also assesses reflex tearing, while the STT-2 evaluates only basal tearing. Furthermore, there are additional quantitative methods, like the Strip Meniscometry Test (SMT), Phenol Red Thread Test (PRTT) and Endodontic Paper Point Test (EPPT). Regarding the qualitative evaluation, the lipidic layer can be assessed by Interferometry and Meibometry, while Meibography evaluates the morphology of the Meibomian glands. These are exams that, together, help in the diagnosis and monitoring of Dry Eye Disease (DED) caused by lipid deficiency. Vital stains are extremely important for the evaluation of the OS: Rose Bengal and Lissamine Green are useful for the assessment of erosion and dysfunction of the OS, in addition to information provided by fluorescein about corneal integrity, patency of the nasolacrimal duct, assessment of TF stability (BUT) and aqueous humor (AH) extravasation through the cornea. The biochemical composition and quality of the TF can be evaluated using the Tear Ferning Test (TFT), and its grading scales. Currently, scientific research is being developed on tear proteomics of dogs and its association with pathologies. Thus, it is clear that it is not possible to assess the TF as a whole with just one exam, since the TF itself is an extremely dynamic and complex environment, and during pathological processes all dynamics are unbalanced. The great diversity of exams is a reflection of the great diversity of information that we can obtain from TF.

Keywords: veterinary ophthalmology, ocular surface, tear film, dog

1. INTRODUÇÃO

A superfície ocular (SO) é composta por diversas estruturas que funcionam em um perfeito equilíbrio para a manutenção saudável de todos os seus componentes, desde as pálpebras, conjuntiva, sistema lacrimal, membrana nictitante e a córnea (MEEKINS; RANKIN; SAMUELSON, 2021).

A fissura palpebral é composta pelas pálpebras superior e inferior – sendo que a superior possui maior mobilidade nos cães. Além de produzirem componentes lacrimais, também realizam o ato de piscar que remove partículas, conferem ao bulbo ocular e mantêm o filme lacrimal pré-corneano (FLPC) na espessura adequada (HENDRIX; THOMASY; GUM, 2021; MEEKINS; RANKIN; SAMUELSON, 2021). As glândulas de Meibômio (GM), localizadas na região do tarso palpebral, são estruturas responsáveis pela produção da porção lipídica da lágrima (meibum), a membrana nictitante (ou terceira pálpebra), e as células calciformes conjuntivais são responsáveis pela produção de mucina do filme lacrimal (FL) (HENDRIX; THOMASY; GUM, 2021). Além da presença na porção interna da pálpebra, a conjuntiva também é encontrada no bulbo sendo denominada conjuntiva bulbar, na membrana nictitante e no saco conjuntival (MEEKINS; RANKIN; SAMUELSON, 2021).

O componente aquoso da camada mucoaquosa do FL é secretado pela glândula da membrana nictitante ou da terceira pálpebra (com a produção de cerca de 35%) (GELATT et al., 1975; HELPER et al., 1974; HENDRIX; THOMASY; GUM, 2021; SAITO et al., 2001) e pela glândula lacrimal, que é localizada na porção dorsolateral da órbita (GELATT et al., 1975; MEEKINS; RANKIN; SAMUELSON, 2021). As secreções mucoaquosa e lipídica compõem o FL (HENDRIX; THOMASY; GUM, 2021), que é direcionado até as punctas lacrimais localizadas na margem medial das pálpebras superior e inferior, por ação mecânica,. A partir da puncta, a lágrima alcança o saco lacrimal, ducto nasolacrimal, que continua até a cavidade nasal na região próxima à abertura da narina (MEEKINS; RANKIN; SAMUELSON, 2021).

A camada lipídica é a mais externa e, possui a função de estabilizar o FL e evitar a evaporação precoce (EFTIMOV et al., 2017; HENDRIX; THOMASY;

GUM, 2021). A porção mucosa da camada mucoaquosa previne a aderência de bactérias, ancora a porção aquosa no epitélio da córnea, lubrifica a córnea e a conjuntiva (DAVIDSON; KUONEN, 2004; LEONARD et al., 2016; GIULIANO, 2021). Já a porção aquosa da camada mucoaquosa, considerado o componente quantitativo da lágrima (HENDRIX; THOMASY; GUM, 2021), é responsável por nutrir a córnea por meio do fornecimento de glicose, oxigênio e outros eletrólitos, além de lubrificar e remover metabólitos da SO (GIULIANO, 2021).

A córnea é o principal meio de refração ocular, dada a sua transparência (HENDRIX; THOMASY; GUM, 2021). As camadas que a compõem são o epitélio, o estroma, a membrana de Descemet e o endotélio. Ela se encontra em um estado de deturgescência, definido como uma desidratação da estrutura, permitindo assim que a mesma mantenha seu grau de transparência. Das suas estruturas, apenas o estroma é uma camada hidrofílica, portanto alterações no mecanismo de deturgescência podem causar a hidratação do estroma, com consequente edema e opacidade corneana (HASSELL; BIRK, 2010; MEEKINS; RANKIN; SAMUELSON, 2021).

A saúde da SO é diretamente dependente do perfeito equilíbrio da dinâmica do FL, que é regulado pela Unidade Funcional Lacrimal (UFL). A UFL é composta pela SO – córnea, conjuntiva, células caliciformes – e toda sua inervação, e pelas glândulas envolvidas na produção do FL (DE PAIVA; PFLUGFELDER, 2004; STERN et al., 2004; GARASZCZUK et al., 2018). A integridade da UFL pode ser avaliada pela mensuração do *turnover* e *clearance* lacrimal (NELSON, 1995; DE PAIVA; PFLUGFELDER, 2004).

A taxa de *turnover* lacrimal é uma medida temporal que indica a taxa de renovação do FL na SO, levando em consideração inúmeros fatores como a secreção das glândulas que compõem a UFL, drenagem, evaporação e a própria permeabilidade dos tecidos (NELSON, 1995; DE PAIVA; PFLUGFELDER, 2004; GARASZCZUK et al., 2018). Levando em consideração que pesquisas estabeleceram que o volume lacrimal em cães adultos saudáveis é de 65.3 μL , a taxa de *turnover* lacrimal basal é de 12.2%/min e a reflexa de 50.0%/min (BROADWATER et al., 2010). Já a taxa de *clearance* lacrimal também avalia o FL sob a SO, entretanto com a adição de um marcador exógeno adicionado pelo

examinador, como um corante, e posterior avaliação de quanto tempo leva para esse componente exógeno desaparecer do FL (GARASZCZUK et al., 2018).

A doença do olho seco (DOS) é apenas uma dentre as doenças que podem afetar a SO dos cães. A DOS afeta o FL tanto por evaporação excessiva quanto por produção deficiente de lágrima (NELSON et al., 2017). A patogênese da doença é complexa e pode envolver tanto as glândulas lacrimal e de Meibômio, quanto fatores hormonais e neuronais (CRAIG et al., 2017; SEBBAG; MOCHEL, 2020). É necessário ter em mente que é uma doença que pode envolver mais de uma estrutura anatômica ou via fisiológica, sendo de suma importância que o clínico entenda os princípios básicos que envolvem a SO, seus aspectos anátomofisiológicos, para então ter um bom entendimento dos testes empregados na avaliação do FL, bem como sua interpretação.

A Ceratoconjuntivite seca (CCS) é uma doença comum em cães e tradicionalmente causada pela deficiência do componente aquoso do FL. A doença em si é resultado de uma destruição imunomediada do tecido lacrimal, havendo similaridades com a Síndrome de Sjögren em humanos. O cão é considerado um modelo espontâneo de CCS, tanto para elucidar os mecanismos patológicos da afecção quanto para o desenvolvimento de novas terapias para ambas as espécies (QUIMBY et al., 1979; KASWAN; MARTIN; CHAPMAN, 1984; SEBBAG et al., 2017). Dessa forma, o objetivo deste trabalho é elucidar os testes e técnicas usadas para analisar o FL e aferir a saúde ocular do paciente, informações aplicáveis à boa resolução desta afecção tão importante na oftalmologia.

2. AVALIAÇÃO DA SUPERFÍCIE OCULAR

2.1. Avaliação quantitativa

A avaliação quantitativa da produção lacrimal é essencial para avaliar a saúde da SO (BOLZANNI et al., 2020). As características individuais dos cães devem ser levadas em consideração ao quantificar a produção lacrimal, sendo

observado na literatura uma correlação entre o peso corporal e a idade na produção lacrimal: o volume lacrimal aumenta conforme o peso do animal aumenta, assim como conforme o animal fica mais velho, o volume lacrimal vai diminuindo (BROADWATER et al., 2010; SEBBAG et al., 2019).

Os testes quantitativos que avaliam o componente aquoso do FL são o Teste da Lágrima de Schirmer (TLS), Teste do Fio Vermelho Fenol (TFVF), Meniscometria (SMT) e Tira endodôntica de papel absorvente (TEPA).

2.1.1. Teste da lágrima de Schirmer (TLS)

O Teste da Lágrima de Schirmer (TLS), desenvolvido por Otto Schirmer no início do século vinte, é considerado o teste padrão ouro para avaliação do componente aquoso do FL (SCHIRMER, 1903). É realizado mediante a inserção de uma fita absorvente dobrada no fórnice conjuntival lateral inferior por 1 minuto, com resultados gerados de acordo com o grau de absorção pela fita em mm/min (MAGGIO, 2019; BOLZANNI et al., 2020). O TLS tipo 1 (TLS-1) reflete tanto a produção basal de lágrimas quanto a reflexa, e o TLS tipo 2 (TLS-2) avalia apenas a produção basal (JORDAN; BAUM, 1980; WILLCOX et al., 2017), uma vez que instila colírio anestésico para dessensibilizar a córnea previamente à sua execução e só 10 minutos após a fita é posicionada no fórnice conjuntival (FAGHIHI; RAJAEI, 2022; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021; SEBBAG et al., 2019).



FIGURA 1 – Realização do Teste da Lágrima de Schirmer 1. Fonte: Imagem cedida gentilmente pelo serviço de Oftalmologia Veterinária da Universidade de Brasília.

No TLS-1 os valores normais em cães são entre 15 a 25 mm/min (MAGGS, 2017a), variando entre 18.64 ± 4.47 mm/min até 23.90 ± 5.12 mm/min em cães adultos normais (FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). Valores entre 14 e 11 mm/min são sugestivos de CCS subclínica, < 10 mm/min é sugestivo de CCS moderada, enquanto que valores ≤ 5 mm/min são indicativos de CCS severa (GIULIANO, 2021). O TLS-1 é o mais utilizado na rotina clínica. Oriá et al. observou que não há diferença estatisticamente significativa entre machos e fêmeas (ORÍÁ et al., 2018a), entretanto Broadwater et al. observaram o contrário: machos tendem a ter valores superiores de TLS-1 em relação às fêmeas, e especula-se que o motivo seja pelo maior peso corporal dos machos (BROADWATER et al., 2010).

É esperado que cães jovens alcancem os valores de referência de TLS-1 entre 9-10 semanas de idade (BROADWATER et al., 2010). Além disso, Sebbag et al. observaram que os valores do TLS-1 são afetados pela idade, peso e gênero, e os valores tendem a aumentar 0.15 mm/min a cada 1 dia a mais na idade do animal e 0.84 mm/min a cada 1 kg de peso corporal a mais

(BROADWATER et al., 2010). Os valores de TLS-1 tendem a diminuir em animais mais velhos (BROADWATER et al., 2010), sendo que a prevalência da CCS é maior em animais mais velhos, sendo mais predispostos tanto machos quanto fêmeas castrados (KASWAN; SALISBURY; LOTHROP, 1991; BROADWATER et al., 2010).

O TLS-2 mede apenas a produção lacrimal basal e seus valores são inferiores ao do TLS-1, já que há a redução da sensibilidade da córnea e secreção das glândulas lacrimais nictitante e orbital, além do bloqueio do ramo aferente da via reflexa (MAGGS, 2017a). Os valores médios descritos para cães adultos variam entre 6.2 ± 3.1 mm/min (GELATT et al., 1975; HAMOR et al., 2000), 9.52 ± 4.55 mm/min (SAITO; KOTANI, 2001) e 11.6 ± 6.1 mm/min (HAMOR et al., 2000; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). Peso e gênero significativamente afetam os valores do TLS-2, sendo que os valores aumentam cerca de 0.57 mm/min a cada 1 kg de peso corporal a mais (BROADWATER et al., 2010). Os valores de TLS-2 em machos se mostraram superiores aos de fêmeas, assim como foi demonstrado com o TLS-1 (BROADWATER et al., 2010). O TLS-2 não é usado de forma rotineira na rotina clínica por afetar parâmetros como o movimento e posição do bulbo ocular, diâmetro pupilar, visão, reflexos, fissura palpebral, grau de umidade, entre outros (MAGGS, 2017a).

Uma variação do TLS é o TLS modificado (TLS-m), descrito para uso em olhos de neonatos em cães (DA SILVA et al., 2013). É utilizada uma fita do TLS que cortada ao meio com uma lâmina de bisturi, com o auxílio de uma régua. Entretanto, mesmo com o máximo de cuidado na realização do procedimento, o erro humano pode afetar os resultados. Cães neonatos apresentam valores de 13.6 ± 3.07 mm/min (DA SILVA et al., 2013).

Outro método descrito é o TLS-1 com estimulação nasolacrimal (TLS-1 com ENL), consistindo na colocação das fitas de Schirmer no fórnice conjuntival inferior em ambos os olhos e em seguida posicionar, sem encostar nas narinas, uma bola de algodão embebida em álcool 70% durante 1 minuto (BOLZANNI et al., 2020). Essa variação do TLS serve para avaliar a via reflexa de secreção lacrimal, por meio da estimulação da mucosa nasal (BOLZANNI, 2020). Sua importância se dá principalmente em casos de DOS grave, em que há danos na

inervação sensorial da córnea, resultando em diminuição na produção lacrimal, tanto em humanos quanto em cães (MÜLLER et al., 2003; STEVENSON; CHAUHAN; DANA, 2012; KOSSLER et al., 2015; FRIEDMAN et al., 2016; LABETOULLE et al., 2019; BOLZANNI, 2020). Dessa forma, possibilita a avaliação da estimulação do nervo aferente trigeminal por meio da quantificação da secreção lacrimal (BOLZANNI, 2020). Os valores médios do TLS-1 com ENL são de 25.1 ± 4.9 (14.0-35.0), sendo que animais não braquicefálicos demonstraram valores superiores aos de braquicefálicos, sendo 27.1 ± 5.4 mm/min e 23.2 ± 3.6 mm/min, respectivamente (BOLZANNI et al., 2020), sugerindo diferenças na intensidade da inervação da córnea nas diferentes conformações cranioencefálicas. Tal observação foi feita por Barrett et al. (1991), indicando que cães braquicefálicos de fato possuem menor sensibilidade corneana quando comparado com cães mesocefálicos, por meio da técnica de estesiometria, utilizando o equipamento estesiômetro de Cochet-Bonnet (BARRETT et al., 1991; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021).



FIGURA 2 – Teste da Lágrima de Schirmer 1 com estimulação nasolacrimal.

Fonte: BOLZANNI et al., 2020.

Apesar do TLS ser comumente usado na rotina oftálmica, a fita pode facilmente se deslocar do fórnice conjuntival antes de 1 minuto ter sido atingido (tempo requerido para avaliação), além de também causar desconforto em alguns animais – presumidamente animais que possuem bulbos oculares menores

(TROST; SKALICKY; NELL, 2007; LIMA et al., 2015; LIMÓN; VÁSQUEZ; CZAPLEWSKI, 2019). Nestes casos, a fita não deve ser reposicionada e o teste deve ser repetido em outro momento.

2.1.2. Teste do Fio Vermelho Fenol (TFVF)

O teste do fio vermelho fenol (TFVF) mensura a produção lacrimal basal e possui maior tolerância dado seu menor tamanho, quando comparado com a fita do TLS, mostrando utilidade em casos de filhotes ou microftalmia. O fio é mantido no fórnice conjuntival inferior por apenas 15 segundos (MAGGS, 2017a). A coloração amarela do fio se torna vermelha quando em contato com o FL, e a umidificação do fio é medida com o auxílio de uma régua (MAGGS, 2017a; BOLZANNI et al., 2020). Valores de referência estimados para cães são de 34 mm/15 segundos e seus resultados foram correlacionados com o TLS (MAGGS, 2017a; MIYASAKA et al., 2019). Apesar de esse método de quantificação do componente aquoso da lágrima ser mais fácil do que os outros, não ganhou popularidade entre os oftalmologistas veterinários (MAGGS, 2017a; LEONARD et al., 2019).



FIGURA 3 – Teste do Fio Vermelho Fenol. Fonte: BOLZANNI et al., 2020.

2.1.3. Meniscometria (SMT)

O Teste da Fita de Meniscometria (SMT) foi introduzido na oftalmologia humana cerca de uma década atrás (DOGRU et al., 2006). É uma ferramenta rápida e minimamente invasiva de quantificar a produção lacrimal, com absorção da lágrima por ação capilar (MIYASAKA et al., 2019; BOLZANNI et al., 2020). A fita deve ser posicionada no menisco lacrimal sem tocar nenhuma estrutura adjacente por 5 segundos. É necessário utilizar apenas uma lâmpada de fenda para auxiliar no teste. O valor é lido a partir da porção da fita que foi corada de azul e indica o quanto de líquido foi absorvido em mm/5 segundos (MIYASAKA et al., 2019). Em cães saudáveis, os valores se referência são de 9.66 ± 2.15 mm/5s, sendo que valores abaixo de 5 mm/s podem ser indicativos de um volume de menisco diminuído (MAGGIO, 2019; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021).

O menisco lacrimal, que foi positivamente correlacionado com a taxa de secreção lacrimal, é responsável por cerca de 75-90% de todo o volume lacrimal em humanos (HOLLY, 1985), havendo ainda uma taxa mínima de lágrimas reflexas (SALEH et al., 2006; MIYASAKA et al., 2019). O SMT apresenta alta sensibilidade, cujos valores mostram uma crescente precisão com o TLS à medida que aumenta a severidade da deficiência lacrimal (MIYASAKA et al., 2019)

Treinamento e experiência são encorajados para realizar o SMT, levando em consideração que a estimulação do lacrimejamento reflexo é feita se houver toque de áreas adjacentes, como a córnea, com a fita (IBRAHIM et al., 2011; MIYASAKA et al., 2019). Quando o toque ocorre, o resultado deve ser descartado e pode ser repetidos apenas após o intervalo de *turnover* lacrimal. (MIYASAKA et al., 2019).

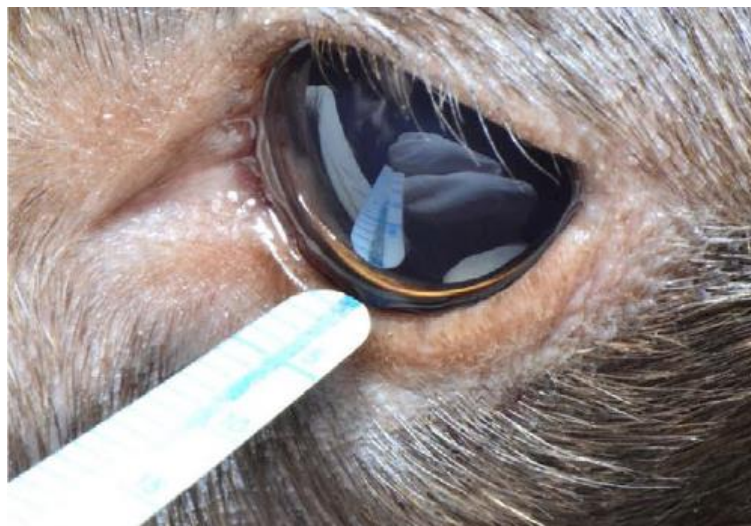


FIGURA 4 – Meniscometria. BOLZANNI et al., 2020.

2.1.4. Tira endodôntica de papel absorvente (TEPA)

O uso de tiras endodônticas absorventes padronizadas foi proposto para mensurar a produção lacrimal, sendo um material comumente utilizado na odontologia. A produção das tiras envolve o uso de cânhamo de Manila (*Musa textillis*) ou a planta Abacá, dando origem à um material altamente absorvente e estéril com comprimento padrão de 28 mm, com a ponta variando entre 0.15 até 0.80 mm (WIGGS; LOBPRISE, 1997; LANGE; LIMA; MONTIANI-FERREIRA, 2012). O teste em questão é simples, consistindo apenas na inserção da fita no fórnice conjuntival inferior e o mantendo por 15 segundos, e medição da porção molhada com uma régua, dessa forma quantificando a produção lacrimal. Dessa forma, considerando pequenos mamíferos – incluindo cães e especificamente raças pequenas –, o teste demonstra um excelente potencial de aplicabilidade (LANGE; LIMA; MONTIANI-FERREIRA, 2012). Cães com produção lacrimal considerada dentro da normalidade possuem resultados de 16.6 ± 2.7 mm/15 segundos para braquicefálicos e 17.5 ± 2.9 mm/15 segundos para os não braquicefálicos, demonstrando uma diferença não significativa entre a conformação facial e os valores obtidos (BOLZANNI et al., 2020). Além disso, é indicado na literatura que o presente teste não causa desconforto nos pacientes (LIMA et al., 2015).



FIGURA 5 – Teste com Tira Endodôntica de Papel Absorvente. BOLZANNI et al., 2020.

Os testes lacrimais, como o TLS, o teste da Tira endodôntica de papel absorvente (TEPA) e o TFVF podem estimular o lacrimejamento reflexo, proporcionando valores inferiores em cães braquicefálicos quando comparado com os não braquicefálicos, e uma hipótese do motivo para esta ocorrência são as diferenças anatômicas entre os dois tipos de conformação facial, principalmente a menor sensibilidade da córnea e menor quantidade de piscagens dos braquicefálicos (KAFARNIK; FRITSCHÉ; REESE, 2008; MAGGIO, 2019; BOLZANNI et al., 2020). Estudos realizados em cães e gatos afirmam que animais braquicefálicos de fato possuem menor sensibilidade corneana em comparação com animais mesocefálicos ou até mesmo dolicocefálicos (BARRETT et al., 1991; BLOCKER; VAN DER WOERDT, 2001), afirmação corroborada por Bolzanni e colaboradores, cujo estudo demonstrou que cães braquicefálicos possuem sensibilidade corneana de $1.8 \pm 0,5$ cm, em comparação com o resultado de sensibilidade de $3,4 \pm 0.8$ cm obtido por cães não braquicefálicos (BOLZANNI et al., 2020). Apesar da causa da baixa sensibilidade em raças braquicefálicas ser desconhecida, a microscopia confocal comprovou que esses animais têm densidade normal de fibras nervosas da córnea do plexo nervoso sub-epitelial e sub-basal em comparação com cães mesocefálicos, sendo que a diferença de densidade entre os braquicefálicos e os mesocefálicos não foi estatisticamente significativa (KAFARNIK; FRITSCHÉ; REESE, 2008). Dessa forma, fica claro que são necessários mais estudos para esclarecer as diferenças definitivas entre cães com diferentes conformações faciais, além de um maior

número de animais analisados. Por fim, o TEPA demonstrou baixa confiabilidade (correlação teste-reteste) em relação ao TLS-2 exclusivamente em cães braquicefálicos (BOLZANNI et al., 2020).

TABELA 1 – Valores de referência dos testes quantitativos

Teste	Valores de referência em cães saudáveis	Autores
TLS-1	15-25 mm/min	MAGGS, 2017a
TLS-2	Entre 6.2 ± 3.1 mm/min e 11.6 ± 6.1 mm/min	; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021
TLS-m	13.6 ± 3.07 mm/min	DA SILVA et al., 2013
TLS-1 com ENL	25.1 ± 4.9 mm/min	BOLZANNI et al., 2020
TFVF	34 mm/15s	MAGGS, 2017a
SMT	9.66 ± 2.15 mm/5s	FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021
TEPA	Entre 16.6 ± 2.7 mm/15 s e 17.5 ± 2.9 mm/15 s	BOLZANNI et al., 2020

2.2. Avaliação qualitativa

2.2.1. Tempo de ruptura do filme lacrimal (ou *Break Up Time* – BUT)

O Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal (ou *break up time* – BUT) avalia a estabilidade do FL por meio da função das mucinas pré-oculares (LAMBERTS, 1983; LEMP, 1973; MOORE et al., 1987), uma vez que a deficiência de mucinas acelera o tempo de ruptura lacrimal (BEGLEY et al., 2006). Também é útil na avaliação evaporativa (WILLCOX et al., 2017). É realizado administrando-se uma gota de fluoresceína (0.125%) na SO, seguida do fechamento manual das pálpebras e observação da difusão do corante pela superfície com o auxílio de uma fonte de luz com filtro azul cobalto. O intervalo de tempo entre a administração da gota da fluoresceína seguida de uma piscada completa e a visualização do primeiro “ponto seco” – indicativo da quebra da homogeneidade do corante na superfície devido à instabilidade no FL – em segundos, refere-se ao resultado do BUT (LEMP; HAMILL, 1973; KIM, 2000; MAGGIO, 2019). A formação desses “pontos secos” se deve à retração do FLPC causada pela difusão da porção lipídica da lágrima até a porção mucoaquosa, evidenciando

uma deficiência na quantidade de mucinas, tornando a região hidrofóbica (KIM, 2000). Valores de referência em cães normais são descritos na literatura em torno de 21.53 ± 7.42 segundos (SAITO; KOTANI, 2001).

Estudos recentes observaram significativa correlação entre a conformação cranioencefálica com os valores de BUT, se mostrando inferiores em raças braquicefálicas (FAGHIHI; RAJAEI, 2022). Por fim, a importância da realização do BUT foi demonstrada em cães da raça West Highland White Terrier, nos quais os valores de BUT se mostraram inferiores em animais afetados pela CCS (LEONARD et al., 2019).

2.2.2. Citologia e biópsia de células calciformes

A biópsia das células calciformes da conjuntiva ocular é descrita como um método eficiente para caracterizar e diagnosticar processos patológicos envolvendo a SO, investigar a saúde do FL, sendo indicada principalmente quando o BUT apresenta alterações (BOLZAN et al., 2005; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). As células podem ser obtidas por técnicas de esfoliação, abrasão, por aspiração e citologia por impressão (BOLZAN et al., 2005; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). A citologia é um método rápido e útil tanto para o diagnóstico quanto para o acompanhamento e manejo de afecções oculares (TRUMEL; DOUET; GRANAT, 2020). À microscopia de luz as células calciformes são identificadas por sua forma oval, com núcleo periférico e citoplasma corado de rosa – por conta da coloração ácido periódico-Schiff (PAS) nos grânulos secretórios. Além das células calciformes, podem ser identificados leucócitos, células epiteliais (BOLZAN et al., 2005), além de bactérias e fungos (FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021).

O método de citologia por impressão foi introduzido por Egbert e colaboradores em 1977, sendo classificado como um procedimento não invasivo e que não causa desconforto, útil no diagnóstico de afecções superficiais da conjuntiva e consiste na colocação de uma fita de filtro Millipore, com o auxílio de uma pinça Halstead, na área conjuntival pretendida, seguida de pressão na fita por cerca de 5 segundos e sua retirada em movimento de descascar (EGBERT;

LAUBER; MAURICE, 1977; BOLZAN et al., 2005; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). O método permite a visualização da secreção das células caliciformes na microscopia, possibilitando a estimativa de sua distribuição na conjuntiva ocular. Além disso, o procedimento permite a retirada de algumas células junto com o filtro, permitindo a visualização das próprias células caliciformes (EGBERT; LAUBER; MAURICE, 1977). As amostras epiteliais, quando obtidas com o auxílio do material de filtro, podem ser colocadas em placas de Petri com etanol 95% por cerca de 10 minutos, entretanto se a coloração não for realizada imediatamente, a mesma deve ser armazenada na placa de Petri a uma temperatura de 4°C. O passo seguinte é o enxague da amostra em água destilada por 5 minutos com o objetivo de a hidratar para que a coloração possa ser feita posteriormente (NELSON; HAVENER; CAMERON, 1983). O método de coloração consiste em utilizar o PAS e hematoxilina, seguida da análise da amostra em uma lâmina de vidro (NELSON; HAVENER; CAMERON, 1983). Em relação ao tamanho dos poros dos filtros já utilizados com esse objetivo, os tamanhos relatados na literatura foram na faixa de 0.025 µm (NELSON; HAVENER; CAMERON, 1983), 0.10 µm (HALLER-SCHÖBER et al., 2006), 0.20 µm (ÖZGENÇİL et al., 2017) e 0.45 µm (BOLZAN et al., 2005).

A coleta de material com *swab* é outra técnica de citologia citada na literatura, indicada para casos em que é necessária menor manipulação da córnea como em casos de úlceras profundas (FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). A técnica é não-traumática, entretanto coleta pouco material para proporcionar um diagnóstico preciso (FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). Outra opção para a coleta de uma maior quantidade de material para análise é por meio da espátula de Kimura que, apesar de causar maior dano à conjuntiva do paciente, é a técnica padrão na medicina veterinária (FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). Por fim, a técnica que utiliza citoescovas também demonstrou excelentes resultados, como a obtenção de camadas mais profundas de células, maior quantidade de material coletado e manutenção da morfologia das células (FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021).

Já a biópsia conjuntival utiliza tesoura de tenotomia pequena e a pinça Bishop-Harmon (FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). O procedimento pode ser

realizado apenas com a utilização de colírio anestésico e o auxílio de um swab embebido no colírio (MAGGS, 2017b; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). A área da conjuntiva a ser analisada deve ser pinçada levemente para evitar artefatos, o fragmento cortado com a tesoura e então repousado sobre um pedaço de papel, afim de evitar que o mesmo enrole ou conservada em formalina 10% (MAGGS, 2017b; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). Múltiplos fragmentos podem ser obtidos do mesmo olho. Então, a amostra deve seguir processamento histológico padrão (FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021).

2.2.3. Corantes vitais

Corantes vitais coram células e tecidos sem causar toxicidade (LAWRENCE, 2016), a exemplo da fluoresceína e da lissamina verde. A avaliação do grau da impregnação após o uso dos corantes vitais na SO auxilia na classificação da gravidade da CCS, sendo extremamente útil no monitoramento da resposta terapêutica (BRON; EVANS; SMITH, 2003).

A fluoresceína é comumente utilizada para a avaliação do BUT e para marcar possíveis defeitos na superfície corneana, enquanto a lissamina verde e rosa bengala são utilizados para corar a córnea e as células conjuntivais que estão desvitalizadas, mortas ou possuem uma camada alterada de mucinas (NORN, 1973; BEGLEY et al., 2019).

A fluoresceína como corante foi inicialmente utilizada por Pflüger (1882) em córneas de coelhos, sendo posteriormente aplicada clinicamente por outros pesquisadores ainda no século XIX (PFLÜGER, 1882; FEENSTRA; TSENG, 1992). Utilizada inicialmente como uma solução, a frequente contaminação das preparações por *Pseudomonas aeruginosa* tornou necessária a elaboração de uma nova forma de preparação para o corante, sendo assim desenvolvida a fita estéril impregnada com fluoresceína de uso único por Kimura (1951), o método mais seguro para a utilização do corante em questão (KIMURA, 1951; HOLLAND, 1964).

A técnica de uso recomendada por Holland em humanos, podendo ser replicado em cães, consiste em instilar uma única gota de cloreto de sódio estéril

ou anestésico, de acordo com a necessidade do paciente, na ponta da fita, fazendo com que seja proporcionada umidade suficiente para que o contato da fita com a SO não cause desconforto ao paciente (HOLLAND, 1964). Outros autores descrevem métodos diferentes, como a lavagem da SO com soro estéril algum tempo após a aplicação da fita úmida na SO para possibilitar a retirada do excesso (KIKKAWA, 1972). Em humanos, empregam-se 5 gotas de solução salina para lavagem do corante na SO (NORN, 1964).



FIGURA 6 – Fluoresceína em fita estéril com uma gota de solução salina. Fonte: Imagem cedida gentilmente pelo serviço de Oftalmologia Veterinária da Universidade de Brasília.

O uso da fluoresceína na rotina clínica se baseia na avaliação da estabilidade do FL (BUT), na avaliação da integridade da córnea, como o teste da fluoresceína pontilhada (BRON et al., 2015) e teste da fluoresceína para diagnóstico da úlcera de córnea (FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021), avaliação da patência do ducto nasolacrimal pelo teste de Jones e o extravasamento de humor aquoso, denominado teste de Seidel (HOLLAND, 1964).

Na pesquisa por alterações na integridade da superfície da córnea, a fluoresceína é o teste padrão ouro. A superfície íntegra da córnea, composta por um epitélio com junções de oclusão que impedem a passagem de moléculas hidrofílicas, além das membranas plasmáticas e glicocálice, sendo considerada uma barreira aos corantes vitais solúveis em água (BRON et al., 2015).

Entretanto, se houver falha na integridade epitelial da córnea, a fluoresceína se torna apta a penetrar até o estroma subjacente ao epitélio, sendo evidenciada pela impregnação fluoresceína positiva da região de forma difusa indicando uma úlcera (CAMPBELL; BOYD, 1950), ou sendo classificada como descemetocelose se apenas o estroma das laterais foi corado, mas o centro, mais profundo, não foi corado, indicando que a membrana de Descemet foi exposta (STARTUP, 1984). A extensão da lesão pode atingir até mesmo a câmara anterior se houver perfuração em casos de defeitos que atingem todas as camadas da córnea (STARTUP, 1984).

A fluoresceína como corante também pode ajudar a evidenciar áreas de impregnação ponteadas, evidenciando pequenos acúmulos de fluoresceína sob a superfície da córnea, sendo causada pela descamação das células epiteliais ocasionada pelo cisalhamento das pálpebras e o bulbo ocular durante a piscagem, em humanos (LEMP; MATHERS, 1989; REN; WILSON, 1996; BRON et al., 2015).

Recentemente, foi descrito um escore de grau de impregnação ponteadas em cães, para fins diagnósticos e para quantificar a gravidade da alteração na SO (BRON et al., 2015). Administra-se 1 μ L de solução de fluoresceína no fórnice conjuntival palpebral inferior, corando a córnea e também a conjuntiva palpebral superior, devendo-se posteriormente graduar visualmente os pequenos pontos observados na superfície baseado na área e densidade da impregnação (SAITO et al., 2021). Os resultados se mostraram superiores em cães com deficiência do componente aquoso do FL, sendo dessa forma útil para avaliar a deficiência aquosa da lágrima e uma ferramenta para o diagnóstico da CCS em cães. Além disso, curiosamente, foram observados altos graus de impregnação em alguns cães que não possuíam alteração quantitativa da lágrima, sugerindo que poderia haver danos na SO mesmo em animais com valores normais de TLS (SAITO et al., 2021).

Em casos de perfuração ou de não oclusão cirúrgica completa da córnea, será evidenciado o extravasamento de humor aquoso que, em contato com a fluoresceína adquire coloração verde,, sendo denominado Teste de Seidel (ROMANCHUK, 1982).

A avaliação da patência do ducto nasolacrimal, ou Teste de Jones, é indicada na investigação causal da epífora (JONES, 1961). Constitui-se de método prático e facilmente realizado ambulatorialmente, sem necessitar de anestesia, como seria o caso de procedimentos mais complexos como a dacriocistorrinografia. Ao instilar a fluoresceína sobre a SO, é esperado que a mesma seja drenada pelo ducto nasolacrimal, sendo visibilizada nas narinas com o auxílio de fonte de luz com filtro azul cobalto (JONES, 1961; GRAHN; SANDMEYER, 2007; BINDER; HERRING, 2010; GELATT; GELATT; PLUMMER, 2011). A técnica pode ser realizada tanto com a fita estéril quanto com a solução de fluoresceína, sendo a solução mais rapidamente drenada em cães (BINDER; HERRING, 2010). O corante também pode ser observado na cavidade oral por conta das aberturas acessórias acima da raiz dos dentes superiores (GELATT; GELATT; PLUMMER, 2011). Os valores de referência de normalidade para cães saudáveis são na faixa de 30 segundos até 15 minutos (MARTIN; PICKETT; SPIESS, 2005; BINDER; HERRING, 2010). As diferenças referem-se à conformação do trajeto do ducto nasolacrimal, ocorrência frequente em animais braquicefálicos, sendo que estudos indicam que as variáveis do teste são a conformação cefálica, comprimento do focinho, idade e *status* reprodutivo (BINDER; HERRING, 2010; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021). Entretanto, Binder e Herring observaram que o teste não é clinicamente útil em cães braquicefálicos para avaliação da patência do ducto nasolacrimal (BINDER; HERRING, 2010). É teorizado pelos pesquisadores que o motivo disso e de diversos cães braquicefálicos apresentarem Teste de Jones negativo mesmo após 30 minutos (BINDER; HERRING, 2010) se deve à diversos fatores, como o fato de o ducto ser menor e tortuoso, ao fato de que a fluoresceína pode acabar adentrando a nasofaringe e, dessa forma, não chegando até as narinas (GELATT; GELATT; PLUMMER, 2011) e a oclusão da puncta causada por entrópico medial, alteração comumente observada em cães braquicefálicos (GRAHN; SANDMEYER, 2007; BINDER; HERRING, 2010).

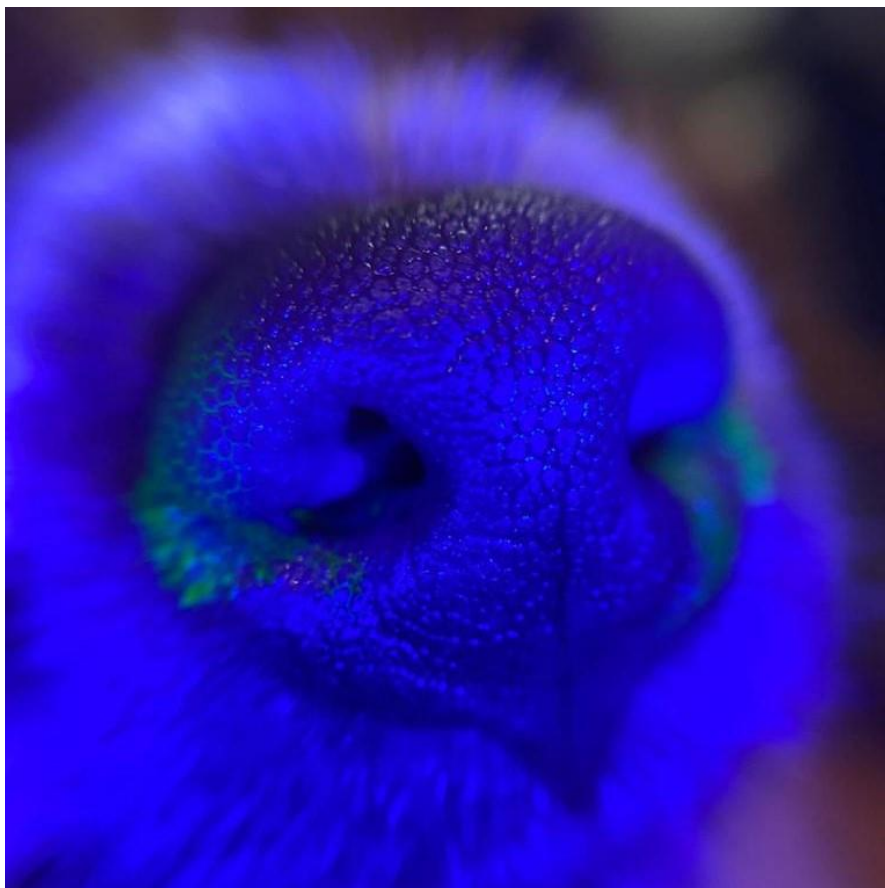


FIGURA 7 – Teste de Jones positivo em cão. Fonte: Imagem cedida gentilmente pelo Dr. Mário Falcão.

Os corantes rosa bengala e lissamina verde possuem aplicabilidade bastante similar na rotina clínica. Coram o epitélio da SO em situações de erosão, disfunção, com células degeneradas ou mortas (NORN, 1973), sendo que ambos possuem a função de ressaltar áreas desprovidas de glicocálice e mucina na SO, se mostrando de grande utilidade na avaliação da estabilidade do FL de cães (MAGGIO, 2019). Entretanto, o rosa bengala não é considerado um corante vital de acordo com alguns autores, pois também cora células vivas, ao contrário da fluoresceína e lissamina verde que coram apenas células mortas ou danificadas (MAGGIO, 2019). Além disso, rosa bengala é um corante classificado como tóxico e irritante para a SO (FEENSTRA; TSENG, 1992; MAGGIO, 2019), causando sensação de ardência no paciente, além de ser fotoativado pela radiação ultravioleta da luz solar, dessa forma piorando essa sensação. Por esse motivo,

é recomendada a irrigação da SO após instilar o corante (KIM; FOULKS, 1999; BRON; EVANS; SMITH, 2003). Embora a lissamina verde seja um corante orgânico (SMITH; HOLT; AGUIRRE, 2020) e bem tolerado pelos animais, o uso do rosa bengala ainda se sobressai na rotina clínica veterinária em relação à lissamina (MAGGIO, 2019). As fitas impregnadas de corante devem ser umidificadas, de forma similar à fluoresceína (BRON; EVANS; SMITH, 2003).



FIGURA 8 – Lissamina verde em fita estéril com uma gota de solução salina.
Fonte: Imagem cedida gentilmente pelo serviço de Oftalmologia Veterinária da Universidade de Brasília.

O escore de impregnação ocular por lissamina verde (*Ocular Staining Score*, OSS) foi adaptado para cães por Smith e colaboradores, graduando de 0 a 3 a impregnação com base na intensidade, sendo que altos graus de impregnação podem ser associados com sinais mais graves de DOS, valores menores de TLS e menor tempo de BUT. O grau 0 se refere à pouca/nenhuma impregnação, 1 é impregnação leve, 2 é impregnação moderada e, por fim, 3 é classificado como impregnação difusa (SMITH; HOLT; AGUIRRE, 2020). Já outro grupo de pesquisadores graduou o grau de impregnação do corante rosa bengala de 0 a 5, sendo que o grau 0 é classificado como ausência de impregnação na SO, grau 1 é a ocorrência de < 20% da SO com impregnação, grau 2 20-40% de impregnação, grau 3 40-60% de impregnação, grau 4 60-80% de impregnação e,

por fim, grau 5 é classificado como > 80% da SO com impregnação por rosa bengala (DL; GRIFFITHS, 2017).

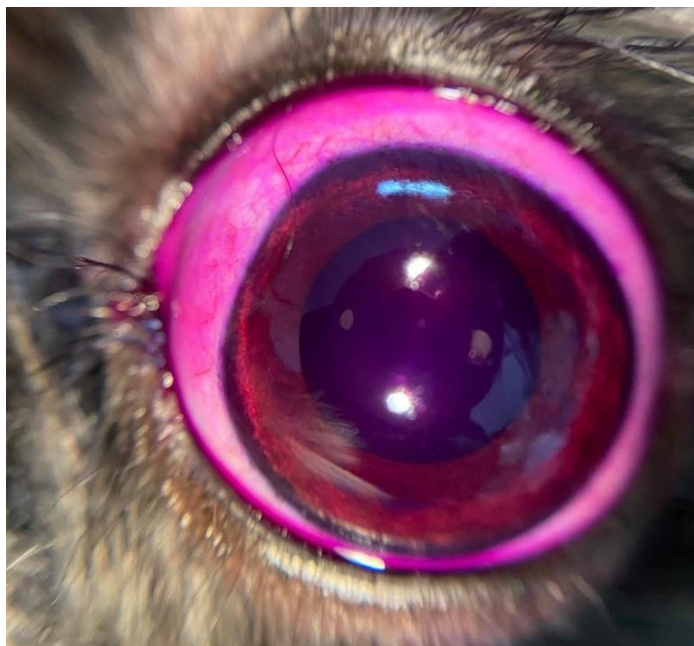


FIGURA 9 – Impregnação por Rosa Bengala na SO de um cão. Fonte: Imagem cedida gentilmente pelo Dr. Mário Falcão.

Na literatura humana existem relatos sobre a utilização de uma mistura de corantes para a avaliação da SO, principalmente de fluoresceína e rosa bengala, afim de otimizar o tempo, com métodos que envolvem desde instilar uma gota de cada corante e em seguida retirar o excesso com 5 gotas de solução salina até a preparação de soluções com ambos os corantes misturados previamente, com a diluição de 1:1 sendo relatada (NORN, 1964; DOUGHTY, 2014). Na medicina veterinária, a prática não foi padronizada, entretanto já foi descrita com a utilização dos mesmos corantes, com o método consistindo em colocar a porção impregnada da fita de fluoresceína dentro de uma seringa de 1 mL e realizar a aspiração de 100 μ L de solução de rosa bengala 1%, com a mistura sendo utilizada na SO dos pacientes, para facilitar a visualização de impregnações ponteadas na SO (SAITO; UMEDA; WAKAIKI, 2013).

2.2.4. Clearance da lágrima

A mensuração do *clearance* lacrimal foi descrita inicialmente em camundongos e em humanos, observando-se uma maior correlação entre o *clearance* e a gravidade da DOS (MACRI; PFLUGFELDER, 2000; DURSUN et al., 2002; DE PAIVA; PFLUGFELDER, 2004). Baixas taxas de *clearance* afetam a SO diretamente, ocasionando sinais como irritação ocular no homem (DE PAIVA; PFLUGFELDER, 2004).

Um *clearance* lacrimal baixo faz com que haja o acúmulo tanto de fatores citotóxicos quanto citocinas pró-inflamatórias e enzimas proteolíticas, que acabam por desencadear uma cascata inflamatória na própria SO (AFONSO et al., 1999a, 1999b; SOLOMON et al., 2001; DE PAIVA; PFLUGFELDER, 2004). Dessa forma, a literatura considera que a avaliação do *clearance* lacrimal é uma mensuração indireta do grau de inflamação da SO em humanos (DE PAIVA; PFLUGFELDER, 2004).

O *clearance* lacrimal pode ser avaliado por meio do fluorofotômetro – equipamento de alto custo, que avalia de forma altamente sensível as concentrações de fluoresceína na lágrima (VAN BEST; DEL CASTILLO BENITEZ; COULANGEON, 1995). Um método mais simples foi descrito, com monitoração fotográfica das fitas de TLS, sob luz com filtro amarelo e dentro de uma caixa iluminada com luz azul, para acompanhar o desaparecimento da fluoresceína na lágrima (XU; TSUBOTA, 1995; ORIÁ et al., 2018b). Resumidamente, realiza-se o TLS-1 em ambos os olhos e, após 10 minutos, instilar uma gota do anestésico cloridrato de proximetacaína 0.5%, remover o excesso com um swab estéril e realizar o TLS-2. Após um intervalo de 10 minutos, uma pipeta é usada para instilar a solução de fluoresceína 0.5%, com o excesso sendo removido novamente com *swab* estéril. A colocação das fitas de Schirmer se dava em intervalos de 10 minutos, durante 10 segundos no fórnice conjuntival, até atingir a marca de 100 minutos e, posteriormente, na marca de 24h, 48h e 72h. Imediatamente após a remoção do fórnice conjuntival as fitas são fotografadas em ambiente controlado, como descrito anteriormente (ORIÁ et al., 2018b). A técnica obteve bons resultados, se mostrando como uma possível ferramenta diagnóstica para investigação de obstrução do ducto nasolacrimal e deficiência aquosa do FL em cães (ORIÁ et al., 2018b). Seus valores preditivos são maiores do que os de

TLS para irritação ocular, além de ter sido observada uma melhor correlação com a disfunção da GM e menor sensação corneconjuntival (AFONSO et al., 1999a; MACRI; PFLUGFELDER, 2000; ORIÁ et al., 2018b).

2.2.5. Teste de cristalização da lágrima (TCL)

O TCL, ou ferning test, avalia o padrão de cristalização formado pela lágrima após a secagem em uma lâmina de vidro. Os diferentes padrões formados torna o teste útil na avaliação da composição bioquímica e a qualidade FL, sendo considerado de baixo custo e fácil execução (MASMALI; PURSLOW; MURPHY, 2014; ORIÁ et al., 2018a; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021).

O nome “*ferning*” refere-se à folha da planta *Pteridium aquilinum*, popularmente chama de “samambaia” (*fern*), já que a cristalização da lágrima se assemelha ao desenho de uma folha de samambaia. O teste consiste na coleta do fluido lacrimal utilizando uma micropipeta, um microcapilar ou até mesmo uma fita de TLS (ORIÁ et al., 2018a) e secagem do material em uma lâmina de vidro utilizada para microscopia (MASMALI; PURSLOW; MURPHY, 2014; SILVA et al., 2016). Como resultado, será possível ver na microscopia de luz a formação de um padrão de cristalização descrito como “*tear fern*” (MASMALI; PURSLOW; MURPHY, 2014). Após a secagem e análise microscópica, o teste identifica mudanças na qualidade lacrimal que o exame clínico não evidencia (MASMALI; PURSLOW; MURPHY, 2014).

As duas escalas de graduação dos padrões de cristalização do FL mais utilizadas são as desenvolvidas por Rolando e Masmali (ROLANDO, 1984; MASMALI; MURPHY; PURSLOW, 2014). A primeira, desenvolvida por Rolando, gradua os padrões de I a IV. Os padrões I e II são indicativos de olhos dentro do padrão de normalidade, enquanto os padrões III e IV indicam desordens no FL (ROLANDO, 1984). Já a segunda escala, foi desenvolvida posteriormente por Masmali et al. (MASMALI; MURPHY; PURSLOW, 2014) para preencher algumas limitações metodológicas da escala de Rolando, sendo os padrões de 0 e 1 são considerados normais, enquanto os de graus 2, 3 e 4 são considerados fora da normalidade.

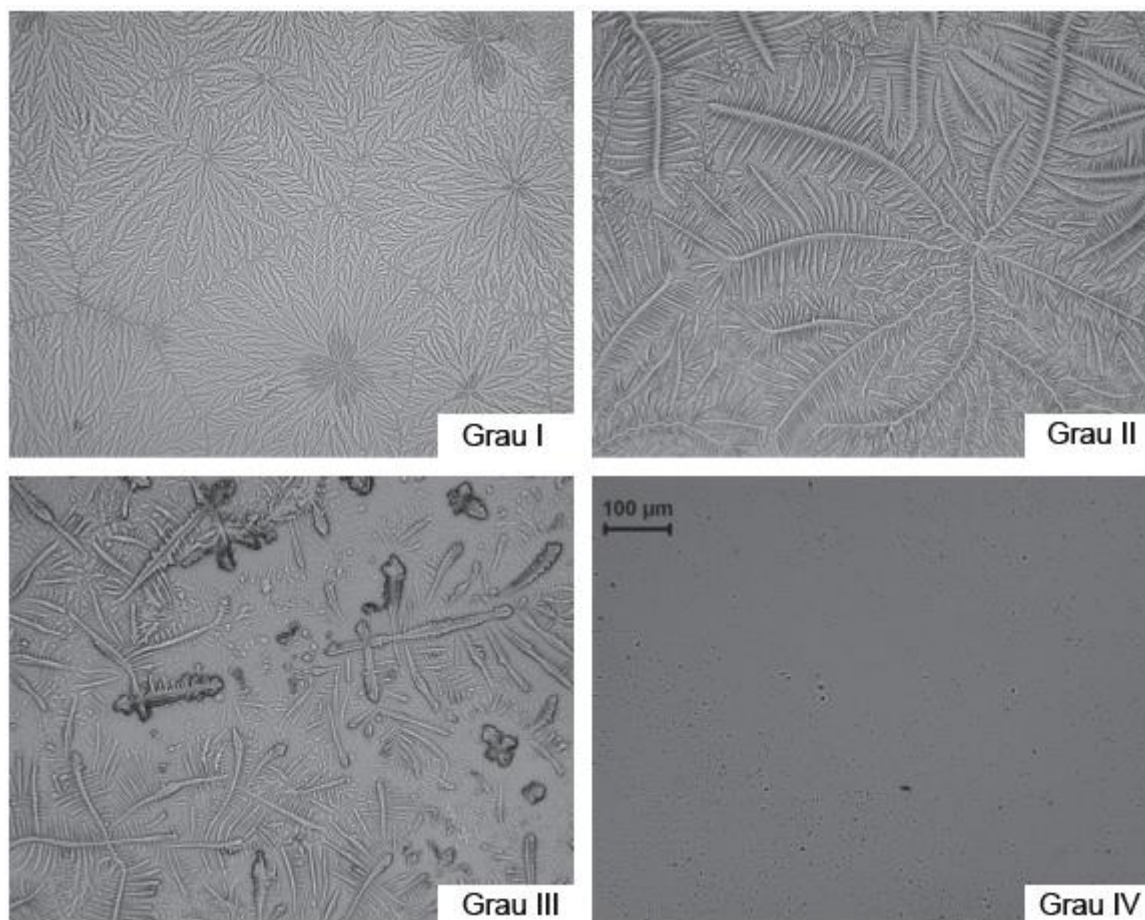


FIGURA 10 – Escala Rolando de graduação dos padrões de cristalização do filme lacrimal. Adaptado de (MASMALI; PURSLOW; MURPHY, 2014)

Na medicina veterinária alguns pesquisadores vêm utilizando as escalas de Rolando e Masmali para classificar os padrões de cristalização em cavalos (SILVA et al., 2016) e em cães (WILLIAMS; HEWITT, 2017; ORIÁ et al., 2018a), entre outras espécies. No estudo desenvolvido por Silva et al (2016), foi utilizado o método STEPanizer para minimizar a subjetividade ao avaliar os padrões de cristalização. Ele consiste em utilizar o programa STEPanizer (STEPanizer stereology tool, version 1.0 Oracle Corporation, Redwood Shores, CA, EUA) para analisar estereologicamente as imagens microscópicas obtidas dos padrões de cristalização, e foi observada significativa relação entre a análise do programa e a escala Rolando, sendo assim uma forma menos subjetiva de classificar os padrões (SILVA et al., 2016).

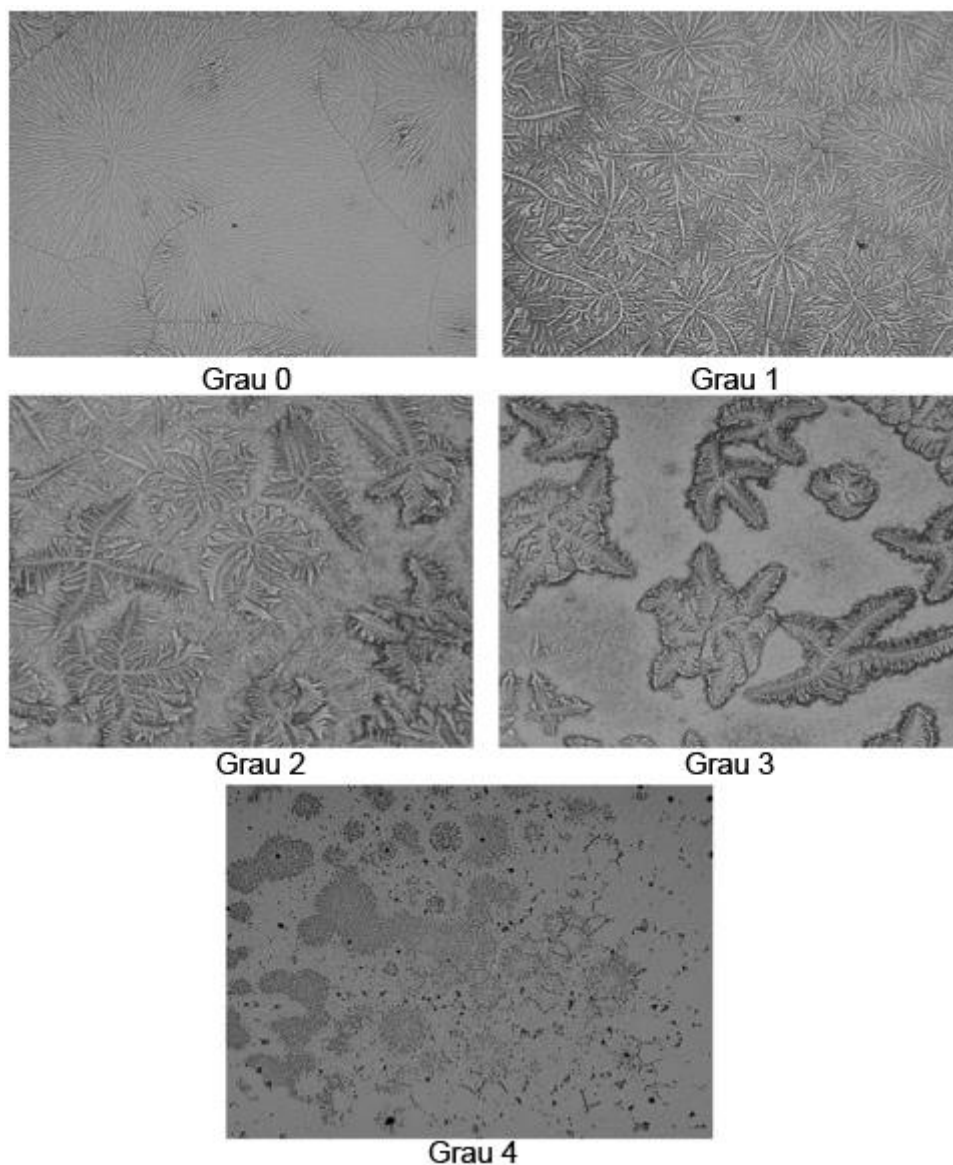


FIGURA 11 – Escala Masmali de graduação dos padrões de cristalização do filme lacrimal. Adaptado de (MASMALI; MURPHY; PURSLOW, 2014)

O TCL comparando cães saudáveis com animais portadores de CCS, segundo a escala de Rolando, evidenciou em todos os animais com CCS os padrões de cristalização tipo III e IV, comparativamente a 78% do tipo padrões tipo I e II em cães normais, demonstrando ser ferramenta útil no diagnóstico da afecção em cães (WILLIAMS; HEWITT, 2017). O desenvolvimento de uma escala espécie-específica pode ser uma forma de melhorar a classificação dos padrões (VELOSO et al., 2020).

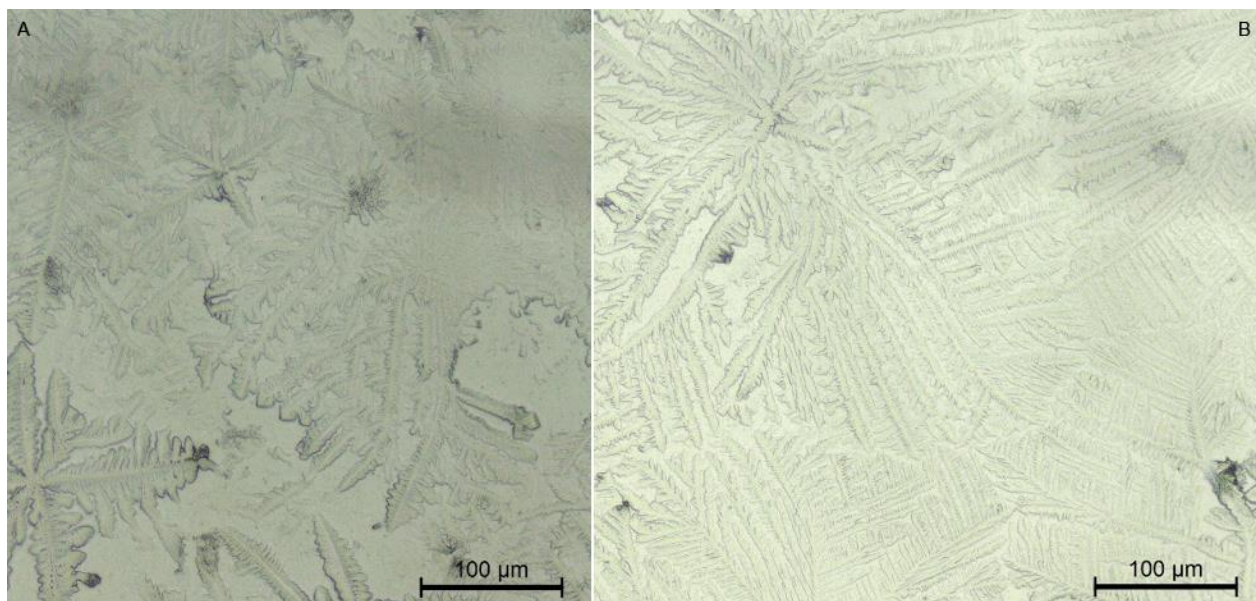


FIGURA 12 – Teste de cristalização lacrimal à microscopia de luz, em dois cães braquicefálicos com valores de TLS dentro da normalidade, evidenciando os diferentes padrões exibidos (A: grau III, B: grau II, segundo Masmali; Murphy; Purslow, 2014). Fonte: autoria própria.

2.2.6. Meibometria

A meibometria é uma técnica minimamente invasiva utilizada para mensurar, por meio de fotometria, os níveis de lipídios do FL. Os lipídeos secretados pelas GM entre as piscadas, sendo denominadas meibum. A técnica utiliza um equipamento chamado Meibômetro (*Meibometer*) (OFRI et al., 2007; WISE; SOBEL; ALLEN, 2012) e consiste na aplicação de uma fita plástica translúcida na margem palpebral inferior enquanto previne-se o animal de piscar por 5 segundos quando se utiliza o equipamento *Meibometer*® MB550 (Courage-Khazaka electronic GmbH, 50829, Colônia, Alemanha) (YOKOI et al., 1999; OFRI et al., 2007; BENZ; TICHY; NELL, 2008), ou 2 segundos quando se utiliza o *Meibometer*® MB 560 (Courage + Khazaka electronic GmbH, Colônia, Alemanha) (SEBBAG; KASS; MAGGS, 2015; LEONARD et al., 2019).

Após o posicionamento da fita em contato com o FL pelo período recomendado pelo fabricante do equipamento, a mesma deve ser deixada para secar ao ar por cerca de meia hora para que haja evaporação do componente

aquoso (OFRI et al., 2007). Assim, a porção lipídica pode ser quantificada pelo fotômetro. O princípio da técnica se baseia na mensuração do fotômetro da mudança na transmitância óptica que foi induzida pelo contato da fita com o meibum, e seu resultado é exibido em Unidades de Meibometria – MU (ou *Meibometry Units*) (OFRI et al., 2007). Valores médios de normalidade em cães são entre 179 ± 60 MU (OFRI et al., 2007) e 211 ± 48 MU no olho direito e 205 ± 41 MU no olho esquerdo (BENZ; TICHY; NELL, 2008; FEATHERSTONE; HEINRICH, 2021).

A importância da mensuração da camada lipídica se baseia na função da camada, que previne a evaporação do componente aquoso (OFRI et al., 2007), pois camadas lipídicas mais finas tendem a causar instabilidade do FL, ocorrência importante de ser avaliada ao examinar pacientes com sintomas sugestivos de DOS (CRAIG; TOMLINSON, 1997; ISREB et al., 2003; OLSON; KORB; GREINER, 2003).

Cães tendem a ter níveis de lipídios elevados no FL, comparativamente ao homem, o que pode explicar o porquê cães tendem a piscar 13.7 vezes por minuto e o homem, 17 piscadas por minuto (HARMER; WILLIAMS, 2003; BENTIVOGLIO et al., 2006; OFRI et al., 2007). Pode-se supor que quantidades maiores de secreção pelas GM resultam em uma camada lipídica mais espessa por toda a SO, fazendo com que as taxas de evaporação da camada aquosa sejam menores resultando em uma taxa de piscagem mais lenta (OFRI et al., 2007). O Schnauzer Miniatura, raça predisposta à CCS, possui níveis inferiores de lipídios na lágrima, sugerindo que a causa da alta prevalência de CCS na raça seja decorrente da maior evaporação do FL (OFRI et al., 2007). Entretanto, a meibometria especificamente não foi considerada clinicamente relevante na rotina veterinária por ser um teste que apresenta baixa repetibilidade (LEIVA; GIMÉNEZ, 2017). Ademais, é importante ter em mente que em casos de meibomite, a consistência do meibum pode sofrer alterações, como obstrução da abertura das glândulas, alterações na coloração e ressecamento do meibum, que deveria ter consistência mais fluida, além de possíveis complicações como calázios, que podem piorar a disfunção do FL e causar irritação na SO (GIULIANO, 2021).

2.2.7. Meibografia

A meibografia, inicialmente descrita por Tapie, é uma técnica de imagem não-invasiva utilizada para a visualização *in-vivo* da morfologia das GM (TAPIE, 1977). As duas técnicas descritas são a meibografia de contato e de não-contato (JESTER et al., 1982; WISE; SOBEL; ALLEN, 2012).

A técnica de meibografia de contato consiste na trans iluminação da pálpebra evertida pelo examinador, permitindo a visualização da superfície conjuntival da pálpebra e das GM (WISE; SOBEL; ALLEN, 2012). Há a necessidade de um examinador experiente para a realização do exame, porque o mesmo é feito com o contato direto de uma probe com a conjuntiva palpebral, e isso pode gerar desconforto no paciente, além de ser uma técnica que pode demorar algum tempo para ser realizada por conta da necessidade de obtenção de múltiplas imagens para que haja a formação de uma imagem panorâmica da pálpebra (MATHERS; DALEY; VERDICK, 1994; YOKOI et al., 2007; WISE; SOBEL; ALLEN, 2012).

Outra técnica descrita na literatura é a meibografia de não-contato, desenvolvida para humanos, apresentando a solução para a técnica de contato pelo uso de luz infravermelha (LIV) e biomicroscópio de lâmpada de fenda com filtro de LIV, dispensando a necessidade de uma probe em contato direto com a pálpebra, dessa forma minimizando o desconforto e tornando o exame mais rápido e prático (ARITA et al., 2008), sendo também uma boa opção para cães (VIÑAS et al., 2019).



FIGURA 13 – Equipamento OSA-VET®, SBM Sistemi, Torino, Itália. Fonte: Imagem cedida gentilmente pelo Dr. Mário Falcão.

A técnica, por eversão palpebral, permite a observação da abertura das GM e, se realizada em pálpebras que não possuam a conjuntiva pigmentada, também possibilita a avaliação da morfologia glandular (VIÑAS et al., 2019). É uma tecnologia que possibilita a detecção de anormalidades glandulares como encurtamento, perda total, dilatações císticas, oclusão da abertura das glândulas e até mesmo retroposicionamento (KITAMURA et al., 2019). Estudos mostram que o exame pode ser realizado tanto na pálpebra superior quanto na inferior, já que foi evidenciada correlação entre as duas quando há perda glandular (SCHAUMBERG et al., 2011; VIÑAS et al., 2019), apesar de que para realizar a eversão da pálpebra inferior, uma pressão maior é exigida (KITAMURA et al., 2019). O exame pode ser realizado por equipamentos como o TOPCON® BG-4M (Topcon Cooperation, Tóquio, Japão), e por dispositivos portáteis como MeiboPen® (Japan Focus Company Ltd., Tóquio, Japão) e o analisador de superfície ocular (OSA-VET®, SBM Sistemi, Torino, Itália), este último desenvolvido especificamente para uso veterinário e que também realiza outras

análises, como a interferometria, que será discutida posteriormente (KITAMURA et al., 2019; VIÑAS et al., 2019).

Atualmente, a tecnologia da meibografia não é tão difundida no atendimento clínico veterinário, e até o momento da realização deste trabalho, não foram realizados estudos graduando imagens de meibografia em pacientes veterinários (KITAMURA et al., 2019).

2.2.8. Interferometria

A interferometria é um exame não invasivo de análise da camada lipídica do FL (MCDONALD, 1968; ARITA et al., 2016) por meio de padrões de interferência que avaliam informações acerca da cinética, espessura – que juntamente com a composição da camada influenciam a cinética –, padrões em malha, homogeneidade e qualidade da camada lipídica do paciente (GOTO; TSENG, 2003; REMESEIRO et al., 2014; ARITA et al., 2015, 2016; VIÑAS et al., 2019).

A técnica é especialmente útil no diagnóstico de disfunção das GM e alterações da DOS (AMANO et al., 2010; ARITA et al., 2016). Uma camada lipídica mais delgada é correlacionada com uma maior taxa de evaporação do componente aquoso do FL (OFRI et al., 2007). Dessa forma, acrescenta informações valiosas na avaliação da SO, sendo que atualmente já existem aparelhos no mercado voltados especificamente para os pacientes veterinários, como o OSA-VET® (VIÑAS et al., 2019).

2.2.9. Eletroforese – Bioquímica da lagrima

A compreensão acerca da composição bioquímica do FL tem se mostrado bastante útil tanto na medicina humana quanto na veterinária, fornecendo informações sobre o diagnóstico, tratamento, prognóstico e prevenção de afecções da SO (CHIVA, 2011; WINIARCZYK et al., 2015). Em humanos, alterações na composição do FL podem ocorrer em diversas patologias, tanto sistêmicas quanto locais, sendo o mesmo observado nos cães, em patologias

como diabetes mellitus, neoplasias, entre outros (DE FREITAS CAMPOS et al., 2008; WINIARCZYK et al., 2015). Dessa forma, a análise da composição bioquímica do FL, utilizando proteínas (PT) como marcadores, é um campo promissor a ser explorado na medicina veterinária, além de sua suma importância na pesquisa translacional em humanos, justificada pela similaridade na composição do FL das duas espécies (WINIARCZYK et al., 2015).

As PT presentes em uma amostra são frequentemente separadas pelo método de eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) com dodecilsulfato de sódio (SDS), denominado SDS-PAGE, que é uma técnica na qual o uso combinado do tampão e do gel permite que as PT sejam separadas de acordo com seu peso molecular, sendo bastante útil para mensurar o tamanho proteico. As moléculas vão do anodo ao catodo junto com um marcador de massa molecular para que seja possível identificar e comparar os tamanhos proteicos. Após a distribuição das PT, outras técnicas podem ser utilizadas para identificar grupos proteicos específicos, como por exemplo a técnica *western blot*, ou para caracterizar as PT presentes em uma amostra biológica individual, como a técnica de espectrometria de massa (WALKER, 2010).

Um estudo analisou a expressão proteica no filme lacrimal de humanos com blefarite – inflamação palpebral – e de voluntários saudáveis, demonstrando também a utilidade da eletroforese. Quando os pacientes foram comparados entre si, observou-se diminuição na quantidade de proteínas (*downregulation*) em casos de blefarite. Dessa forma, é plausível que outras patologias oculares possam ter mudanças significativas nos padrões de PT, e a eletroforese pode ser uma ferramenta útil em seu diagnóstico (KOO et al., 2005).

Já na oftalmologia veterinária, a eletroforese demonstrou resultados satisfatórios na análise proteômica da lágrima de cães com diversas patologias, como a diabetes mellitus (WINIARCZYK et al., 2015) e o câncer (DE FREITAS CAMPOS et al., 2008). Análises das PT da lágrima de cães podem potencialmente servir como uma nova ferramenta diagnóstica para alguns tipos de câncer, como o adenocarcinoma da glândula mamária e o linfoma multicêntrico, sendo que PT como a albumina e a actina apresentaram concentrações mais elevadas em animais acometidos (DE FREITAS CAMPOS et

al., 2008). O aumento na concentração de actina pode decorrer de metástase, enquanto que a elevação de albumina é frequentemente um sinal de inflamação (GIGANTI; FRIEDERICH, 2003; DE FREITAS CAMPOS et al., 2008). Entretanto, quando o aumento nos níveis de albumina é associado com um aumento em outros tipos proteicos, pode ser um sinal de câncer (DE FREITAS CAMPOS et al., 2008). Já acerca da diabetes mellitus em cães, foi evidenciada diminuição na quantidade de proteínas, como o Hormônio Concentrador de Melanina (MCH) e pré-lamina A/C, além do aumento da PT Inibidor de sinalização de quinase SRC 1 (SRCIN1) (WINIARCZYK et al., 2015). Sendo assim, a eletroforese tem se mostrado como um campo promissor para o diagnóstico e manejo das patologias nos cães (WINIARCZYK et al., 2015).

3. CONCLUSÃO

Os avanços nas medicinas veterinária e humana possibilitam diagnósticos mais precisos das afecções oculares nas diferentes espécies. A espécie canina é um modelo animal de extrema importância para o desenvolvimento de novas tecnologias, além de descobertas científicas, cujo benefício pode ser aplicado tanto em humanos quanto nos próprios animais por meio da pesquisa translacional (SEBBAG; MOCHÉL, 2020). Dessa forma, entender a SO do cão e como avaliá-la é essencial para o desenvolvimento de novas pesquisas e possibilitar o diagnóstico rotineiro dos pacientes na rotina clínica.

Acerca dos métodos qualitativos, percebe-se que ainda não existe uma padronização exata da técnica para o uso dos corantes vitais durante a avaliação do paciente, com técnicas diferentes sendo sugeridas por cada autor. Por esse motivo, são necessários estudos para o desenvolvimento de um método padrão para a utilização com fluoresceína, rosa bengala e lissamina verde. Além disso, é necessário investigar a utilização da mistura de corantes na SO dos cães, método comum na prática humana, também sendo necessária sua padronização. Além disso, também é necessário padronizar uma técnica para a realização do teste da cristalização da lágrima e estabelecer um escore para a classificação dos padrões em cães.

Fica claro que não é possível avaliar o FL como um todo com apenas um exame, já que o FL em si é um meio extremamente dinâmico e complexo, e durante processos patológicos toda a dinâmica é desbalanceada. A grande diversidade de exames é um reflexo da grande diversidade de informações que podemos obter do FL.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, A. A. et al. Correlation of tear fluorescein clearance and schirmer test scores with ocular irritation symptoms¹¹The authors have no commercial interests in any aspect of this article. **Ophthalmology**, v. 106, n. 4, p. 803–810, 1 abr. 1999a.

AFONSO, A. A. et al. Tear Fluid Gelatinase B Activity Correlates with IL-1 α Concentration and Fluorescein Clearance in Ocular Rosacea. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 40, n. 11, p. 2506–2512, 1 out. 1999b.

AMANO, S. et al. Definition and diagnostic criteria for meibomian gland dysfunction. **あたらしい眼科**, v. 27, n. 5, p. 627–631, 2010.

ARITA, R. et al. Noncontact Infrared Meibography to Document Age-Related Changes of the Meibomian Glands in a Normal Population. **Ophthalmology**, v. 115, n. 5, p. 911–915, 1 maio 2008.

ARITA, R. et al. Increased Tear Fluid Production as a Compensatory Response to Meibomian Gland Loss: A Multicenter Cross-sectional Study. **Ophthalmology**, v. 122, n. 5, p. 925–933, 1 maio 2015.

ARITA, R. et al. Tear Interferometric Patterns Reflect Clinical Tear Dynamics in Dry Eye Patients. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 57, n. 8, p. 3928–3934, 29 jul. 2016.

BARRETT, P. M. et al. Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs. **Prog Vet Comp Ophthalmol**, v. 1, n. 4, p. 245–254, 1991.

BEGLEY, C. et al. Review and analysis of grading scales for ocular surface staining. **The Ocular Surface**, v. 17, n. 2, p. 208–220, 1 abr. 2019.

BEGLEY, C. G. et al. Tear Breakup Dynamics: A Technique for Quantifying Tear Film Instability. **Optometry and Vision Science**, v. 83, n. 1, p. 15, jan. 2006.

BENTIVOGLIO, A. R. et al. Analysis of blink rate in patients with blepharospasm. **Movement Disorders**, v. 21, n. 8, p. 1225–1229, 2006.

BENZ, P.; TICHY, A.; NELL, B. Review of the measuring precision of the new Meibometer® MB550 through repeated measurements in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 11, n. 6, p. 368–374, 2008.

BINDER, D. R.; HERRING, I. P. Evaluation of nasolacrimal fluorescein transit time in ophthalmically normal dogs and nonbrachycephalic cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 71, n. 5, p. 570–574, 1 maio 2010.

BLOCKER, T.; VAN DER WOERDT, A. A comparison of corneal sensitivity between brachycephalic and Domestic Short-haired cats. **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n. 2, p. 127–130, 2001.

BOLZAN, A. A. et al. Conjunctival impression cytology in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 6, p. 401–405, 2005.

BOLZANNI, H. et al. Aqueous tear assessment in dogs: Impact of cephalic conformation, inter-test correlations, and test-retest repeatability. **Veterinary Ophthalmology**, v. 23, n. 3, p. 534–543, 2020.

BOLZANNI, H. Avaliações de estímulo nasolacrimal, métodos quantitativos de lágrima e repetibilidade teste-reteste em cães braquicefálicos e não braquicefálicos. p. 80–80, 2020.

BROADWATER, J. J. et al. Tear production in normal juvenile dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 13, n. 5, p. 321–325, 2010.

BRON, A. J. et al. Clinical staining of the ocular surface: Mechanisms and interpretations. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 44, p. 36–61, 1 jan. 2015.

BRON, A. J.; EVANS, V. E.; SMITH, J. A. Grading Of Corneal and Conjunctival Staining in the Context of Other Dry Eye Tests. **Cornea**, v. 22, n. 7, p. 640, out. 2003.

CAMPBELL, F. W.; BOYD, T. A. S. The Use of Sodium Fluorescein in Assessing the Rate of Healing in Corneal Ulcers. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 34, n. 9, p. 545–549, set. 1950.

CHIVA, A. Electrophoresis of tear proteins as a new diagnostic tool for two high risk groups for dry eye: computer users and contact lens wearers. **Journal of Medicine and Life**, v. 4, n. 3, p. 228–233, 15 ago. 2011.

CRAIG, J. P. et al. TFOS DEWS II Report Executive Summary. **The Ocular Surface**, v. 15, n. 4, p. 802–812, 1 out. 2017.

CRAIG, J. P.; TOMLINSON, A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. **Optometry and vision science**, v. 74, n. 1, p. 8–13, 1 jan. 1997.

DA SILVA, E. G. et al. Tear production in canine neonates – evaluation using a modified Schirmer tear test. **Veterinary Ophthalmology**, v. 16, n. 3, p. 175–179, 2013.

DAVIDSON, H. J.; KUONEN, V. J. The tear film and ocular mucins. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 2, p. 71–77, 2004.

DE FREITAS CAMPOS, C. et al. Proteomic analysis of dog tears for potential cancer markers. **Research in Veterinary Science**, v. 85, n. 2, p. 349–352, 1 out. 2008.

DE PAIVA, C. S.; PFLUGFELDER, S. C. Tear clearance implications for ocular surface health. **Experimental Eye Research**, Special issue in honour of David Maurice. v. 78, n. 3, p. 395–397, 1 mar. 2004.

DL, W.; GRIFFITHS, A. Ocular surface Rose Bengal staining in normal dogs and dogs with Keratoconjunctivitis Sicca: Preliminary findings. **Insights in Veterinary Science**, v. 1, n. 1, p. 042–046, 2017.

DOGRU, M. et al. Strip Meniscometry: A New and Simple Method of Tear Meniscus Evaluation. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 47, n. 5, p. 1895–1901, 1 maio 2006.

DOUGHTY, M. J. Fluorescence characteristics of sodium fluorescein–rose bengal ophthalmic solution mixtures. **Contact Lens and Anterior Eye**, v. 37, n. 5, p. 358–362, 1 out. 2014.

DURSUN, D. et al. A Mouse Model of Keratoconjunctivitis Sicca. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 43, n. 3, p. 632–638, 1 mar. 2002.

EFTIMOV, P. et al. Surface properties and exponential stress relaxations of mammalian meibum films. **European Biophysics Journal**, v. 46, n. 2, p. 129–140, 1 mar. 2017.

EGBERT, P. R.; LAUBER, S.; MAURICE, D. M. A simple conjunctival biopsy. **American journal of ophthalmology**, v. 84, n. 6, p. 798–801, 1 dez. 1977.

FAGHIHI, H.; RAJAEI, S. MEHDI. Tear film breakup time and Schirmer tear test in normal dogs: Effects of age, sex, reproductive status, skull type, and nasolacrimal duct patency. **Veterinary Ophthalmology**, v. n/a, n. n/a, 2022.

FEATHERSTONE, H. J.; HEINRICH, C. L. Ophthalmic Examination and Diagnostics. Em: **Veterinary Ophthalmology**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2021. p. 564–661.

FEENSTRA, R. P. G.; TSENG, S. C. G. What Is Actually Stained by Rose Bengal? **Archives of Ophthalmology**, v. 110, n. 7, p. 984–993, 1 jul. 1992.

FRIEDMAN, N. J. et al. A nonrandomized, open-label study to evaluate the effect of nasal stimulation on tear production in subjects with dry eye disease. **Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)**, v. 10, p. 795–804, 4 maio 2016.

GARASZCZUK, I. K. et al. The tear turnover and tear clearance tests – a review. **Expert Review of Medical Devices**, v. 15, n. 3, p. 219–229, 4 mar. 2018.

GELATT, K. N. et al. Evaluation of tear formation in the dog, using a modification of the Schirmer tear test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 166, n. 4, p. 368–370, 1 fev. 1975.

GELATT, K. N.; GELATT, J. P.; PLUMMER, C. Surgery of nasolacrimal apparatus and tear systems. Em: **Veterinary Ophthalmic Surgery**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2011. p. 141–156.

GIGANTI, A.; FRIEDERICH, E. The actin cytoskeleton as a therapeutic target: state of the art and future directions. **Progress in cell cycle research**, v. 5, p. 511–525, 1 jan. 2003.

GIULIANO, E. A. Diseases and Surgery of the Canine Lacrimal Secretory System. Em: **Veterinary Ophthalmology**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2021. p. 1008–1044.

GOTO, E.; TSENG, S. C. G. Differentiation of Lipid Tear Deficiency Dry Eye by Kinetic Analysis of Tear Interference Images. **Archives of Ophthalmology**, v. 121, n. 2, p. 173–180, 1 fev. 2003.

GRAHN, B. H.; SANDMEYER, L. S. Diseases and surgery of the canine nasolacrimal system. **Veterinary ophthalmology**, v. 2, p. 618–632, 2007.

HALLER-SCHOBBER, E.-M. et al. Evaluating an impression cytology grading system (IC score) in patients with dry eye syndrome. **Eye**, v. 20, n. 8, p. 927–933, ago. 2006.

HAMOR, R. E. et al. Evaluation of results for Schirmer tear tests conducted with and without application of a topical anesthetic in clinically normal dogs of 5 breeds. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 11, p. 1422–1425, 1 nov. 2000.

HARMER, E. J.; WILLIAMS, D. L. **Blink rate and corneal sensitivity in the dog: preliminary findings**. Proceedings of the Annual Meeting of the British Association, European College, European Society and International Society of Veterinary Ophthalmology, Cambridge, Great Britain. **Anais...**2003.

HASSELL, J. R.; BIRK, D. E. The molecular basis of corneal transparency. **Experimental Eye Research**, v. 91, n. 3, p. 326–335, 1 set. 2010.

HELPER, L. C. et al. Surgical induction of keratoconjunctivitis sicca in the dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 1974.

HENDRIX, D. V. H.; THOMASY, S. M.; GUM, G. G. Physiology of the Eye. Em: **Veterinary Ophthalmology**. [s.l.: s.n.].

HOLLAND, M. C. Fluorescein Staining of the Cornea. **JAMA**, v. 188, n. 1, p. 81, 6 abr. 1964.

HOLLY, F. J. Physical chemistry of the normal and disordered tear film. **Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom**, v. 104 (Pt 4), p. 374–380, 1 jan. 1985.

IBRAHIM, O. M. A. et al. The Efficacy, Sensitivity, and Specificity of Strip Meniscometry in Conjunction with Tear Function Tests in the Assessment of Tear Meniscus. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 52, n. 5, p. 2194–2198, 5 abr. 2011.

ISREB, M. A. et al. Correlation of lipid layer thickness measurements with fluorescein tear film break-up time and Schirmer's test. **Eye**, v. 17, n. 1, p. 79–83, jan. 2003.

JESTER, J. V. et al. In vivo biomicroscopy and photography of meibomian glands in a rabbit model of meibomian gland dysfunction. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 22, n. 5, p. 660–667, 1 maio 1982.

JONES, L. T. An Anatomical Approach to Problems of the Eyelids and Lacrimal Apparatus. **Archives of Ophthalmology**, v. 66, n. 1, p. 111–124, 1 jul. 1961.

JORDAN, A.; BAUM, J. Basic Tear Flow: Does It Exist? **Ophthalmology**, v. 87, n. 9, p. 920–930, 1 set. 1980.

KAFARNIK, C.; FRITSCHKE, J.; REESE, S. Corneal innervation in mesocephalic and brachycephalic dogs and cats: assessment using in vivo confocal microscopy. **Veterinary Ophthalmology**, v. 11, n. 6, p. 363–367, 2008.

KASWAN, R. L.; MARTIN, C. L.; CHAPMAN, W. J. Keratoconjunctivitis sicca: histopathologic study of nictitating membrane and lacrimal glands from 28 dogs. **American journal of veterinary research**, v. 45, n. 1, p. 112–118, 1 jan. 1984.

KASWAN, R. L.; SALISBURY, M. A.; LOTHROP, C. D. Interaction of age and gender on occurrence of canine keratoconjunctivitis sicca. **Prog Vet Comp Ophthalmol**, v. 1, n. 2, p. 93–97, 1991.

KIKKAWA, Y. Normal corneal staining with fluorescein. **Experimental Eye Research**, v. 14, n. 1, p. 13–20, 1 jul. 1972.

KIM, J. The use of vital dyes in corneal disease. **Current Opinion in Ophthalmology**, v. 11, n. 4, p. 241, ago. 2000.

KIM, J.; FOULKS, G. N. Evaluation of the effect of lissamine green and rose bengal on human corneal epithelial cells. **Cornea**, v. 18, n. 3, p. 328–332, 1 maio 1999.

KIMURA, S. J. Fluorescein paper. A simple means of insuring the use of sterile fluorescein. **American journal of ophthalmology**, v. 34, n. 3, p. 446–447, 1951.

KITAMURA, Y. et al. Assessment of meibomian gland morphology by noncontact infrared meibography in Shih Tzu dogs with or without keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v. 22, n. 6, p. 744–750, 2019.

KOO, B.-S. et al. Comparative Analysis of the Tear Protein Expression in Blepharitis Patients Using Two-Dimensional Electrophoresis. **Journal of Proteome Research**, v. 4, n. 3, p. 719–724, 1 jun. 2005.

KOSSLER, A. L. et al. Neurostimulation of the Lacrimal Nerve for Enhanced Tear Production. **Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery**, v. 31, n. 2, p. 145, abr. 2015.

LABETOULLE, M. et al. Role of corneal nerves in ocular surface homeostasis and disease. **Acta Ophthalmologica**, v. 97, n. 2, p. 137–145, 2019.

LAMBERTS, D. W. Dry Eye and Tear Deficiency. **International Ophthalmology Clinics**, v. 23, n. 1, p. 123, Spring 1983.

LANGE, R. R.; LIMA, L.; MONTIANI-FERREIRA, F. Measurement of tear production in black-tufted marmosets (*Callithrix penicillata*) using three different methods: modified Schirmer's I, phenol red thread and standardized endodontic absorbent paper points. **Veterinary Ophthalmology**, v. 15, n. 6, p. 376–382, 2012.

LAWRENCE, E. **Henderson's dictionary of biology**. [s.l.] Pearson education, 2016.

LEIVA, M.; GIMÉNEZ, T. P. Diseases of the Lacrimal System. Em: **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology E-Book**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2017. p. 186–212.

LEMP, M. A. Breakup of the Tear Film. **International Ophthalmology Clinics**, v. 13, n. 1, p. 97, Spring 1973.

LEMP, M. A.; HAMILL, J. R., Jr. Factors Affecting Tear Film Breakup in Normal Eyes. **Archives of Ophthalmology**, v. 89, n. 2, p. 103–105, 1 fev. 1973.

LEMP, M. A.; MATHERS, W. D. Corneal epithelial cell movement in humans. **Eye**, v. 3, n. 4, p. 438–445, jul. 1989.

LEONARD, B. C. et al. Species variation and spatial differences in mucin expression from corneal epithelial cells. **Experimental Eye Research**, v. 152, p. 43–48, 1 nov. 2016.

LEONARD, B. C. et al. Comprehensive Clinical, Diagnostic, and Advanced Imaging Characterization of the Ocular Surface in Spontaneous Aqueous Deficient Dry Eye Disease in Dogs. **Cornea**, v. 38, n. 12, p. 1568–1575, dez. 2019.

LIMA, L. et al. Evaluation of standardized endodontic paper point tear test in New Zealand white rabbits and comparison between corneal sensitivity followed tear tests. **Veterinary Ophthalmology**, v. 18, n. s1, p. 119–124, 2015.

LIMÓN, D.; VÁSQUEZ, C.; CZAPLEWSKI, R. Measurement of Tear Production Using Schirmer Tear Test and Standardized Endodontic Absorbent Paper Points

in Ferrets (*Mustela Putorius Furo*). **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 29, p. 10–14, 1 abr. 2019.

MACRI, A.; PFLUGFELDER, S. Correlation of the Schirmer 1 and Fluorescein Clearance Tests With the Severity of Corneal Epithelial and Eyelid Disease. **Archives of Ophthalmology**, v. 118, n. 12, p. 1632–1638, 1 dez. 2000.

MAGGIO, F. Ocular surface disease in dogs part 2: diagnosis and treatment. **Companion Animal**, v. 24, n. 6, p. 319–328, 2 jun. 2019.

MAGGS, D. The Ophthalmic Examination and Diagnostic Testing. Em: **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology E-Book**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2017a. p. 18–55.

MAGGS, D. Diseases of the Conjunctiva. Em: **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2017b. p. 158–177.

MARTIN, C. L.; PICKETT, J. P.; SPIESS, B. M. **Ophthalmic disease in veterinary medicine**. [s.l.] Manson London, 2005.

MASMALI, A. M.; MURPHY, P. J.; PURSLOW, C. Development of a new grading scale for tear ferning. **Contact Lens and Anterior Eye**, v. 37, n. 3, p. 178–184, 1 jun. 2014.

MASMALI, A. M.; PURSLOW, C.; MURPHY, P. J. The tear ferning test: a simple clinical technique to evaluate the ocular tear film. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 97, n. 5, p. 399–406, 1 set. 2014.

MATHERS, W. D.; DALEY, T.; VERDICK, R. Video Imaging of the Meibomian Gland. **Archives of Ophthalmology**, v. 112, n. 4, p. 448–449, 1 abr. 1994.

MCDONALD, J. E. Surface phenomena of tear films. **Transactions of the American Ophthalmological Society**, v. 66, p. 905–939, 1968.

MEEKINS, J. M.; RANKIN, A. J.; SAMUELSON, D. A. Ophthalmic Anatomy. Em: **Veterinary Ophthalmology**. [s.l.: s.n.]. p. 41–123.

MIYASAKA, K. et al. A novel strip meniscometry method for measuring aqueous tear volume in dogs: Clinical correlations with the Schirmer tear and phenol red thread tests. **Veterinary Ophthalmology**, v. 22, n. 6, p. 864–871, 2019.

MOORE, C. P. et al. Density and distribution of canine conjunctival goblet cells. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 28, n. 12, p. 1925–1932, 1 dez. 1987.

MÜLLER, L. J. et al. Corneal nerves: structure, contents and function. **Experimental Eye Research**, v. 76, n. 5, p. 521–542, 1 maio 2003.

NELSON, J. D. Simultaneous evaluation of tear turnover and corneal epithelial permeability by fluorophotometry in normal subjects and patients with

keratoconjunctivitis sicca (KCS). **Transactions of the American Ophthalmological Society**, v. 93, p. 709–753, 1995.

NELSON, J. D. et al. TFOS DEWS II Introduction. **The Ocular Surface**, v. 15, n. 3, p. 269–275, jul. 2017.

NELSON, J. D.; HAVENER, V. R.; CAMERON, J. D. Cellulose Acetate Impressions of the Ocular Surface: Dry Eye States. **Archives of Ophthalmology**, v. 101, n. 12, p. 1869–1872, 1 dez. 1983.

NORN, M. S. Fluorescein Vital Staining of the Cornea and Conjunctiva*. **Acta Ophthalmologica**, v. 42, n. 5–6, p. 1038–1045, 1964.

NORN, M. S. Lissamine Green. **Acta Ophthalmologica**, v. 51, n. 4, p. 483–491, 1973.

OFRI, R. et al. Canine meibometry: Establishing baseline values for meibomian gland secretions in dogs. **The Veterinary Journal**, v. 174, n. 3, p. 536–540, 1 nov. 2007.

OLSON, M. C.; KORB, D. R.; GREINER, J. V. Increase in Tear Film Lipid Layer Thickness Following Treatment with Warm Compresses in Patients with Meibomian Gland Dysfunction. **Eye & Contact Lens**, v. 29, n. 2, p. 96, abr. 2003.

ORIÁ, A. P. et al. Tear ferning test in healthy dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 21, n. 4, p. 391–398, 2018a.

ORIÁ, A. P. et al. Photography-based method for assessing fluorescein clearance test in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 269, 3 set. 2018b.

ÖZGENÇİL, F. E. et al. Corneal impression cytology for the diagnosis of limbal stem cell deficiency in a dog. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 23, n. 3, p. 507–511, 2017.

PFLÜGER, E. **Zur Ernährung der cornea**. [s.l.: s.n.].

QUIMBY, F. W. et al. A disorder of dogs resembling Sjögren's syndrome. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 12, n. 4, p. 471–476, 1 abr. 1979.

REMESEIRO, B. et al. A Methodology for Improving Tear Film Lipid Layer Classification. **IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics**, v. 18, n. 4, p. 1485–1493, jul. 2014.

REN, H.; WILSON, G. Apoptosis in the corneal epithelium. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 37, n. 6, p. 1017–1025, 1 maio 1996.

ROLANDO, M. Tear mucus ferning test in normal and keratoconjunctivitis sicca eyes. **Chibret Int J Ophthalmol**, v. 2, n. 4, p. 32–41, 1984.

ROMANCHUK, K. G. Fluorescein. Physicochemical factors affecting its fluorescence. **Survey of Ophthalmology**, v. 26, n. 5, p. 269–283, 1 mar. 1982.

SAITO, A. et al. The effect of third eyelid gland removal on the ocular surface of dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n. 1, p. 13–18, 2001.

SAITO, A. et al. Punctate fluorescein staining scores in dogs with or without aqueous tear deficiency. **Veterinary Ophthalmology**, v. 24, n. 1, p. 28–36, 2021.

SAITO, A.; KOTANI, T. Estimation of lacrimal level and testing methods on normal beagles. **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n. 1, p. 7–11, 2001.

SAITO, A.; UMEDA, Y.; WAKAIKI, S. A. **10-year clinical experience with a rapid, quantitative ocular double staining technique**. Annual Meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists, Portland (OR). **Anais...**2013.

SALEH, T. A. et al. Phenol red thread test vs Schirmer's test: a comparative study. **Eye**, v. 20, n. 8, p. 913–915, ago. 2006.

SCHAUMBERG, D. A. et al. The International Workshop on Meibomian Gland Dysfunction: Report of the Subcommittee on the Epidemiology of, and Associated Risk Factors for, MGD. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 52, n. 4, p. 1994–2005, 30 mar. 2011.

SCHIRMER, O. Studien zur Physiologie und Pathologie der Tränenabsonderung und Tränenabfuhr. **Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie**, v. 56, n. 2, p. 197–291, 1 jun. 1903.

SEBBAG, L. et al. Assessment of tear film osmolarity using the TearLab™ osmometer in normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v. 20, n. 4, p. 357–364, 2017.

SEBBAG, L. et al. Fluorophotometric Assessment of Tear Volume and Turnover Rate in Healthy Dogs and Cats. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 35, n. 9, p. 497–502, nov. 2019.

SEBBAG, L.; KASS, P. H.; MAGGS, D. J. Reference values, intertest correlations, and test-retest repeatability of selected tear film tests in healthy cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 246, n. 4, p. 426–435, 15 fev. 2015.

SEBBAG, L.; MOCHEL, J. P. An eye on the dog as the scientist's best friend for translational research in ophthalmology: Focus on the ocular surface. **Medicinal Research Reviews**, v. 40, n. 6, p. 2566–2604, 2020.

SILVA, L. R. et al. Tear ferning test in horses and its correlation with ocular surface evaluation. **Veterinary Ophthalmology**, v. 19, n. 2, p. 117–123, 2016.

SMITH, S. M.; HOLT, E.; AGUIRRE, G. D. Conjunctival staining with lissamine green as a predictor of tear film deficiency in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 23, n. 4, p. 624–631, 2020.

SOLOMON, A. et al. Pro- and Anti-inflammatory Forms of Interleukin-1 in the Tear Fluid and Conjunctiva of Patients with Dry-Eye Disease. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 42, n. 10, p. 2283–2292, 1 set. 2001.

STARTUP, F. G. Corneal ulceration in the dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 25, n. 12, p. 737–752, 1984.

STERN, M. E. et al. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. **Experimental Eye Research**, Special issue in honour of David Maurice. v. 78, n. 3, p. 409–416, 1 mar. 2004.

STEVENSON, W.; CHAUHAN, S. K.; DANA, R. Dry Eye Disease: An Immune-Mediated Ocular Surface Disorder. **Archives of Ophthalmology**, v. 130, n. 1, p. 90–100, 1 jan. 2012.

TAPIE, R. ETUDE BIOMICROSCOPIQUE DES GLANDES DE MEIBOMIUS. 1977.

TROST, K.; SKALICKY, M.; NELL, B. Schirmer tear test, phenol red thread tear test, eye blink frequency and corneal sensitivity in the guinea pig. **Veterinary Ophthalmology**, v. 10, n. 3, p. 143–146, 2007.

TRUMEL, C.; DOUET, J.-Y.; GRANAT, F. Ocular Cytology of the Dog. Em: **Veterinary Cytology**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2020. p. 188–204.

VAN BEST, J. A.; DEL CASTILLO BENITEZ, J. M.; COULANGEON, L.-M. Measurement of basal tear turnover using a standardized protocol. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 233, n. 1, p. 1–7, 1 jan. 1995.

VELOSO, J. F. et al. The use of tear ferning test in cats for evaluation of ocular surface. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 62, n. 1, p. 23, 26 maio 2020.

VIÑAS, M. et al. Meibomian gland dysfunction (MGD), as diagnosed by non-contact infrared Meibography, in dogs with ocular surface disorders (OSD): a retrospective study. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, p. 443, 5 dez. 2019.

WALKER, J. Electrophoretic techniques. Em: **Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology**. [s.l.] Cambridge University Press, 2010. p. 399–432.

WIGGS, R. B.; LOBPRISE, H. B. Basic endodontic therapy. **Veterinary Dentistry. Principles & Practice**. Lippincott-Raven. Philadelphia, USA, p. 280–324, 1997.

WILLCOX, M. D. P. et al. TFOS DEWS II Tear Film Report. **The Ocular Surface**, TFOS International Dry Eye WorkShop (DEWS II). v. 15, n. 3, p. 366–403, 1 jul. 2017.

WILLIAMS, D.; HEWITT, H. Tear ferning in normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Open Veterinary Journal**, v. 7, n. 3, p. 268–272, 17 set. 2017.

WINIARCZYK, M. et al. Dog Tear Film Proteome In-Depth Analysis. **PLOS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0144242, 23 dez. 2015.

WISE, R. J.; SOBEL, R. K.; ALLEN, R. C. Meibography: A review of techniques and technologies. **Saudi Journal of Ophthalmology**, v. 26, n. 4, p. 349–356, 1 out. 2012.

XU, K. P.; TSUBOTA, K. Correlation of tear clearance rate and fluorophotometric assessment of tear turnover. **British Journal of Ophthalmology**, v. 79, n. 11, p. 1042–1045, 1 nov. 1995.

YOKOI, N. et al. Assessment of Meibomian Gland Function in Dry Eye Using Meibometry. **Archives of Ophthalmology**, v. 117, n. 6, p. 723–729, 1 jun. 1999.

YOKOI, N. et al. A Newly Developed Video-Meibography System Featuring a Newly Designed Probe. **Japanese Journal of Ophthalmology**, v. 51, n. 1, p. 53–56, 1 jan. 2007.