

Coloração da Superfície Ocular por Rosa Bengala e o Diagnóstico do Olho Seco

Rose Bengal Staining of the Ocular Surface and the Diagnosis of Dry Eye

ISABELLA BEZERRA WANDERLEY DE QUEIROGA¹
MARGARETH DE FÁTIMA FORMIGA MELO DINIZ²

RESUMO

Desde 1933, quando em um trabalho pioneiro Sjögren descreveu a coloração da zona exposta interpalpebral por rosa bengala como um sinal característico da deficiência lacrimal, sugerindo que eram coradas células mortas ou desvitalizadas, a positividade desse padrão de impregnação pelo corante vem sendo utilizada como um critério diagnóstico para o olho seco. *Material e Métodos:* A solução de rosa bengala é instilada no saco conjuntival inferior. Depois de 15 segundos, a conjuntiva é examinada utilizando-se iluminação através de um filtro verde. Admite-se que o corante demonstre dano à superfície ocular ao impregnar-se em células mortas e degeneradas. A intensidade de coloração da zona interpalpebral é quantificada em graus que variam de 1 a 3. *Aplicação:* A utilização da coloração da superfície ocular por rosa bengala como critério diagnóstico para o olho seco requer um melhor estudo dos possíveis padrões que a impregnação por esse corante pode assumir face à diversidade de causas dessa condição clínica, o que só é possível a partir de uma padronização da técnica do exame e da utilização de método de avaliação que considere a superfície ocular em sua totalidade, e não apenas a zona interpalpebral.

DESCRIPTORIOS

Rosa Bengala. Ceratoconjuntivite seca. Diagnóstico.

SUMMARY

Since the pioneering study published in 1933 in which Sjögren described rose bengal staining of the exposed interpalpebral zone of the eye as being a characteristic sign of tear deficiency and speculated that the stained cells consisted of dead or devitalized cells, positivity for this staining pattern has been used as a criterion for the diagnosis of dry eye. *Material and Methods:* Rose bengal solution is instilled into the lower conjunctiva sac. After 15 seconds, the conjunctiva is examined by light passed through a green filter. Rose bengal stain is assumed to demonstrate ocular surface damage by being taken up into dead and degenerate cells. The intensity of staining of the interpalpebral zone is quantified into grades ranging from 1 to 3. *Application:* The use of rose bengal staining of the ocular surface as a diagnostic criterion for dry eye requires further investigation into the possible staining patterns that may result from use of this dye in view of the different etiologies responsible for this clinical condition. Further investigation is only possible following standardization of the techniques used in the test and implementation of an evaluation system that takes into consideration not only the interpalpebral zone, but the entire ocular surface.

DESCRIPTORS

Rose Bengal. Keratoconjunctivitis sicca. Diagnosis.

1 ¹Médica oftalmologista do Centro de Referência Oftalmológica (CEROF). Hospital Universitário Lauro Wanderley. Universidade Federal da Paraíba
2 - UFPB - João Pessoa - Paraíba - Brasil.

² Professora Doutora do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (Farmacologia) da UFPB - João Pessoa (PB) - Brasil.

O rosa bengala (4,5,6,7-tetracloro-2',4',5',7'-tetraiodofluoresceína – Figura 1) é um corante largamente empregado na clínica diária e em pesquisas oftalmológicas para evidenciar lesão da superfície ocular. Data de 1919 o primeiro relato de sua utilização para esse fim, quando Kleefeld o empregou para corar uma úlcera de córnea (FEENSTRA; TSENG, 1992).

Rose bengal (4,5,6,7-tetrachloro-2',4',5',7'-tetraiodofluorescein – Figure 1) is a dye widely used clinically and in ophthalmological research to identify lesions on the ocular surface. The first report on its use for this purpose was published in 1919 when Kleefeld used this dye to identify a corneal ulcer (FEENSTRA; TSENG, 1992).

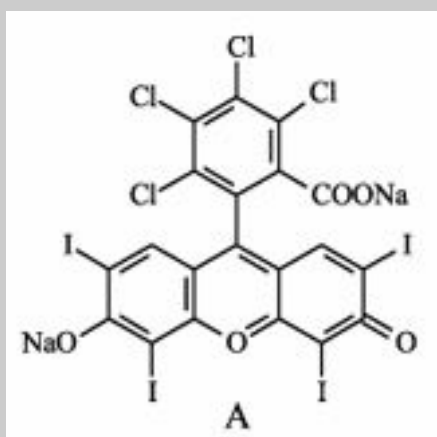


Figura 1 - Estrutura química do rosa bengala.

Fonte: PERUSSI, 2007.

Figure 1 - Rose bengal chemical structure (PERUSSI, 2007).

A partir de 1933, com a descrição de Sjögren de um padrão típico de coloração da superfície ocular por rosa bengala na ceratoconjuntivite seca, o corante tornou-se popular para o diagnóstico dessa entidade clínica (SJÖGREN, 1933). Este autor, àquela época, e PASSMORE e KING (1955), subseqüentemente, especularam que o rosa bengala coraria células epiteliais descamadas.

Alguns anos depois, NORN (1962) estabeleceu o conhecimento convencional que se tem de que o rosa bengala não cora células normais, saudáveis, e sim, células mortas, degeneradas, além de muco. Com base nesse conceito, o rosa bengala foi incorporado aos padrões internacionais de diagnóstico do olho seco, e a positividade de coloração da zona exposta interpalpebral pelo corante passou a ser considerada um critério global para o diagnóstico dessa entidade clínica (BRON, 2001; LEMP, 1995; PFLUGFELDER *et al.*, 2000).

MÉTODOS

O rosa bengala é disponível comercialmente em solução a 1%, que deve ser instilada no saco conjuntival inferior, com o olho voltado para cima. Alternativamente, podem ser utilizadas tiras oftálmicas de papel im-

Following Sjögren's description in 1933 of a typical staining pattern on the ocular surface by rose bengal in keratoconjunctivitis sicca, use of the dye for the diagnosis of this clinical condition became more common (SJÖGREN, 1933). This author, at that time, and later, PASSMORE and KING (1955) speculated that rose bengal worked by staining deciduous epithelial cells.

Some years later, NORN (1962) established the currently accepted theory that rose bengal does not stain normal, healthy cells but, rather, dead and degenerated cells and mucus. Based on this concept, rose bengal staining became accepted as one of the international diagnostic criteria for dry eyes, and positivity for staining of the exposed interpalpebral area by rose bengal began to be considered a global criterion for the diagnosis of this clinical condition (BRON, 2001; LEMP, 1995; PFLUGFELDER *et al.*, 2000).

METHODS

Rose bengal is commercially available as a 1% solution, which is instilled into the lower conjunctiva sac with the eye looking upward. Alternatively, rose bengal-impregnated ophthalmic paper strips may be

pregnadas com o corante, aplicando-se, primeiramente, solução salina à tira, e então, tocando-se a conjuntiva palpebral inferior com a tira umedecida. É preferível que a instilação seja precedida por anestesia tópica, para que seja minimizado o ardor. Deve-se tomar cuidado para que seja removido o excesso do corante das margens palpebrais, fechando-se os olhos e limpando-as com gaze, para que se evite a coloração inadvertida da pele das mesmas. Depois de 15 segundos, a conjuntiva é examinada por iluminação através de um filtro verde. Admite-se que o corante demonstre dano à superfície ocular ao ser captado por células mortas e degeneradas. A quantidade de coloração observada é dependente da dose de corante utilizada (BRON, 2001).

Com o objetivo de padronizar o estudo da coloração por rosa bengala no olho seco, alguns sistemas de avaliação foram propostos. O sistema de van BIJSTERVELD (1965) foi o primeiro deles e ainda hoje é o mais empregado. Propõe a divisão da zona interpalpebral em três áreas – conjuntiva bulbar nasal, temporal e córnea – e a quantificação da intensidade da coloração em graus de 1 a 3, com intervalos de 0,5 grau. Considera que seja um resultado de anormalidade, ou seja, positivo para olho seco, a soma dos escores de intensidade das três regiões, de pelo menos um dos olhos, igual ou maior que 3,5.

LEMP (1995) propôs a utilização de diagrama dividindo a zona interpalpebral em seis regiões, com uma graduação sistematizada para a coloração, variando de 0 a 3, segundo escala de intensidade apresentada em forma de pontilhados (Figura 2). O resultado seria dado em forma de um “grau total”. Mais tarde, foi proposto o sistema “Oxford”, em graus de 0 a 6, correspondentes aos principais padrões de coloração da zona interpalpebral no olho seco, ilustrados em painéis, variando de A a E, conforme a Figura 3 (BRON *et al.*, 2003).

used by first applying saline solution to the strip and then touching the wetting strip to the inferior palpebral conjunctiva. Instillation is best preceded by topical anesthesia to limit stinging, and care should be taken to remove excess dye from the lid margins on eye closure with a tissue to avoid unsightly staining of the lid skin. After 15 seconds, the conjunctiva is examined by light passed through a green filter. Rose bengal stain is assumed to demonstrate ocular surface damage by being taken up into dead and degenerate cells. The amount of staining seen is dose-dependent (BRON, 2001).

With the objective of standardizing the use of rose bengal staining for the diagnosis of dry eye, some evaluation systems have been proposed. The system proposed by van BIJSTERVELD (1965) was the first of these and remains the most used evaluation method to this date. This author proposed dividing the interpalpebral zone into three areas (the nasal and temporal bulbar conjunctiva and the cornea) and quantifying the intensity of staining into grades ranging from 1 to 3, subdivided into intervals of 0.5. When the sum of the grades of intensity for the three regions is ≥ 3.5 in at least one of the eyes, it is considered to be indicative of abnormality, i.e. positive for dry eye.

LEMP (1995) proposed the use of a diagram dividing the interpalpebral area into six regions with a system for grading the staining that ranged from 0 to 3 according to an intensity scale presented in the form of punctate dots (Figure 2). The result was given as a total score. Later, the Oxford Scheme was proposed, which consisted of grades from 0 to 6 corresponding to the principal interpalpebral zone staining patterns in dry eye, reproduced in a series of panels labeled A to E to grade the degree of staining seen in the patient, according to Figure 3 (BRON *et al.*, 2003).

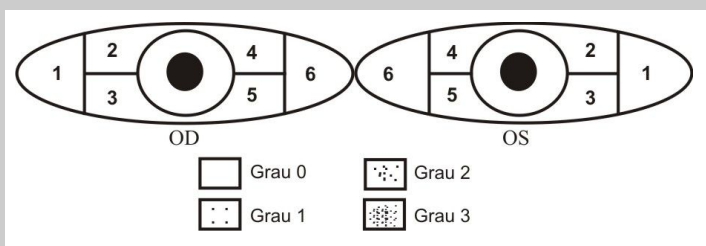


Figura 2 - Diagrama da divisão da superfície conjuntival em seis áreas com uma graduação da coloração por rosa bengala. Uma escala quantitativa de 0 a 3 é usada para cada área da conjuntiva para cada olho. A soma dos pontos atribuídos para cada área é feita para cada olho. Adaptado de LEMP (1995).

Figure 2 - Diagram of the division of the conjunctival surface into six areas with a grading of rose bengal staining. A quantitative scale of 0 to 3 is used for each area of the conjunctiva of each eye. A summation of the points assigned to each area is made for each eye (LEMP, 1995).




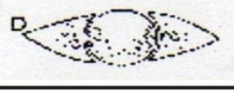

Painel / Panel	Grau / Grade	Critério / Criteria	Contagem dos pontos / Dot Count	Log	Descritor verbal
	0	Igual ou menor que o painel A Equal to or less panel A	1	0	Ausente Absent
	I	Igual ou menor que o painel A; maior que o painel B	10	1.0	Mínimo Minimal
	II	Igual ou menor que o painel C; maior que o painel B	32	1.5	Leve Mild
	III	Igual ou menor que o painel D; maior que o painel C	100	2.0	Moderado Moderate
	IV	Igual ou menor que o painel E; maior que o painel D	3'6	2.5	Marcante Marked
>E	V	Maior que o painel E Great than panel E	>31G	>2.G	Severo Severe

Figura 3 - Esquema "Oxford" para registro da coloração da superfície ocular por rosa bengala. Adaptado de BRON *et al.* (2003).

Figure 3 - Oxford scheme for grading of ocular surface rose bengal staining (BRON *et al.*, 2003).

APLICAÇÃO NO DIAGNÓSTICO DO OLHO SECO

Estabelecer a especificidade e a sensibilidade da coloração por rosa bengala no diagnóstico do olho seco não é tarefa fácil. Tampouco o é a determinação de seu poder de discriminar os vários tipos dessa doença. As dificuldades começam com o fato de a própria coloração pelo corante ser um critério diagnóstico da doença e passam pela constatação de que a coloração considerada como padrão diagnóstico é apenas a de um dos tipos da entidade clínica – aquele por deficiência da produção lacrimal presente na síndrome descrita por Sjögren.

São dois os tipos principais de olho seco atualmente reconhecidos: por deficiência de produção lacrimal e por deficiência lipídica ou evaporativo (BRON, 2001; LEMP, 1995; PFLUGFELDER *et al.*, 2000).

Cada um desses tipos possuem, ainda, subtipos. Assim, por exemplo, na deficiência de produção lacrimal, têm-se os subtipos Sjögren e não-Sjögren; no tipo evaporativo, tem-se a disfunção das glândulas de meibomius (DGM) de natureza inflamatória ou trófica.

APPLICATION IN DRY EYE DIAGNOSIS

To establish the specificity and sensitivity of rose bengal staining for the diagnosis of dry eye is not an easy task; neither is defining its capacity to distinguish between the various forms of this disease. The difficulties begin with the fact that the staining, in itself, constitutes a diagnostic criterion of dry eye disease; however, it is important to remember that it refers to only one form of the clinical condition, the tear deficient form that is present in the syndrome described by Sjögren.

Two principal forms of this condition are currently recognized: the tear-deficient form resulting from a deficiency of aqueous tear secretion and the evaporative form, in which the cause is excessive evaporation that results from lipid tear deficiency (BRON, 2001; LEMP, 1995; PFLUGFELDER *et al.*, 2000).

Both of these types are composed of subtypes. For example, aqueous tear deficiency (ATD) is subclassified into Sjögren and non-Sjögren syndrome, while the evaporative form may consist of inflammatory or noninflammatory atrophic meibomian gland

Há, ainda, dentre os subtipos evaporativos, o das desordens da superfície ocular e o das desordens da abertura palpebral (LEMP, 1995). Apesar de toda essa diversidade clínica associada ao olho seco, ainda não se tem conhecimento a respeito da possível multiplicidade de padrões de coloração da superfície ocular a ela relacionada.

Analisando um grupo de pacientes divididos em subgrupos de acordo com a presença de DGM e Síndrome de Sjögren (SS), deficiência lacrimal aquosa não-Sjögren, MGD-ATD, SS-ATD e SS-ATD-MGD) (MGD - disfunção das glândulas meibomianas; e ATD - deficiência lacrimal aquosa), o rosa bengala foi capaz de discriminar entre pacientes SS e não-SS, mas não entre os subgrupos (HORWATH-WINTER J, 2003).

LEE e TSENG (1997), estudando uma série de 78 pacientes com deficiência lacrimal lipídica por DGM de natureza não inflamatória, observaram que a coloração por rosa bengala era negativa na maior parte dos pacientes e, quando positiva, ocorria predominantemente na área não-exposta da superfície ocular.

As características usadas para distinguir condições clínicas e sua severidade, a partir de um padrão de coloração obtido de sistemas de avaliação como o de van BIJSTVELD (1965), incluem a localização e a forma da área corada. Todavia, uma vez que tais sistemas conferem igual importância a todas as regiões estudadas, a despeito do grau de exposição, são mais frequentemente utilizados através do registro de uma "soma de escores", sendo perdidas, assim, pistas diagnósticas propiciadas pelo padrão da coloração (KHAN-LIM ; BERRY, 2004).

Em uma tentativa de proporcionar maior abrangência ao estudo da coloração da superfície ocular por rosa bengala, além de padronizá-lo de forma a tornar possível uma rápida análise por computador, LAROCHE e CAMPBELL (1988) propuseram diagrama em que toda a superfície ocular é considerada, sendo dividida em 16 regiões. Além de ser avaliada a intensidade da coloração, em graus variando de 0 a 3, também é observada a extensão da área corada, em percentual, variando em graus de 0 a 4 (Figura.4).

Se a coloração da zona interpalpebral por rosa bengala como critério global para o diagnóstico do olho seco suscita discussões, a falta de padronização no método de utilização do corante também merece alguma reflexão.

Sabe-se que a coloração por rosa bengala é influenciada pela quantidade de corante administrada (volume e concentração), havendo um aumento da impregnação quando múltiplas gotas são usadas ou quando é empregada solução mais concentrada que 1% (SNYDER; PAUGH, 1988).

dysfunction (MGD). The general category of excessive tear evaporation may be divided into subtypes consisting of ocular surface disease and eye lid disorders (LEMP, 1995). Despite the wide clinical diversity in dry eye conditions, nothing is yet known with respect to the possible multiplicity of related staining patterns of the ocular surface in this disease.

Analyzing a group of patients divided into subgroups according to the presence of MGD and Sjögren's syndrome (SS) [MGD, non-Sjögren ATD, MGD-ATD, SS-ATD and SS-ATD-MGD] (MGD: meibomian gland dysfunction; e ATD: aqueous tear deficiency), rose bengal was able to differentiate between SS and non-SS patients but not between subgroups (HORWATH-WINTER *et al.*, 2003).

In a series of 78 patients with lipid tear deficiency resulting from non-inflammatory MGD, LEE and TSENG (1997) found that rose bengal staining was negative in the majority of patients and, when positive, occurred predominantly in the unexposed area of the ocular surface.

The characteristics used to differentiate clinical conditions and their severity, based on a staining pattern obtained with an evaluation system such as that of van BIJSTVELD(1965), include the location and shape of the stained area. However, since these systems confer equal importance to all the regions studied irrespective of the degree of exposure, they are more often used by recording the sum of all the scores; hence the diagnostic clues provided by the staining pattern are lost (KHAN-LIM; BERRY, 2004).

In an attempt to increase the scope of research into rose bengal staining of the ocular surface and to standardize the technique in such a way as to permit rapid, computerized analysis to be performed, LAROCHE and CAMPBELL (1988) proposed a diagram in which the entire ocular surface, divided into 16 quadrants, is taken into consideration. In addition to grading staining intensity from 0 to 3, the extent of the stained area is observed as a percentage and graded from 0 to 4 (Figure 4).

If rose bengal staining of the interpalpebral zone as a global criterion for the diagnosis of dry eye remains a subject of debate, the lack of standardization in the methodology applied in the use of this dye also deserves further attention.

Rose bengal staining is known to be affected by the quantity of dye applied (both volume and concentration), an increase in impregnation occurring when multiple drops are used or when a concentration greater than 1% of the solution is used (SNYDER; PAUGH, 1998).

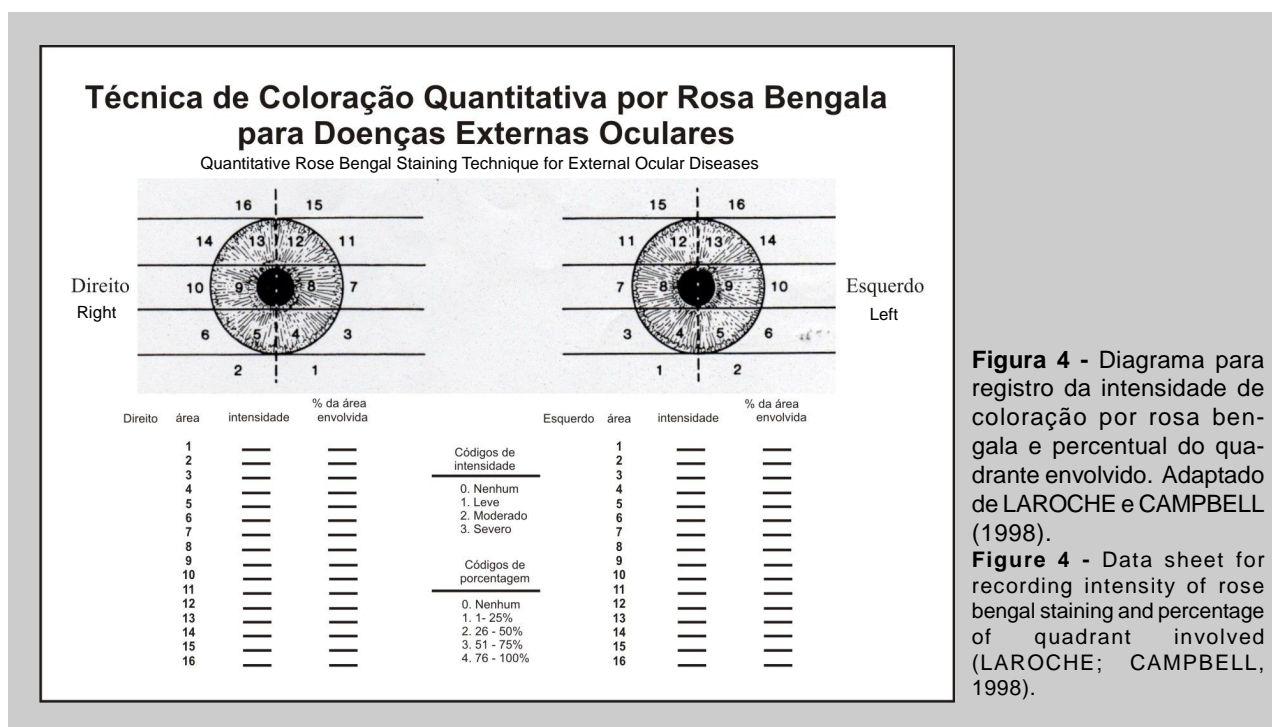


Figura 4 - Diagrama para registro da intensidade de coloração por rosa bengala e percentual do quadrante envolvido. Adaptado de LAROCHE e CAMPBELL (1998).

Figure 4 - Data sheet for recording intensity of rose bengal staining and percentage of quadrant involved (LAROCHE; CAMPBELL, 1998).

Para a coloração da superfície ocular, o rosa bengala pode ser utilizado em solução a 1% ou a partir de tiras de papel impregnadas com o corante e umedecidas em solução salina. Contudo, o nível de sensibilidade para a detecção de positividade de coloração é provavelmente diferente com os dois métodos, porquanto, com o último deles, as concentrações obtidas são sempre menores que 1% e variam com o tempo de diluição. Assim, em um paciente com olho seco “marginal”, a tira pode produzir um resultado negativo enquanto uma pequena quantidade da solução, mais concentrada, pode produzir resultados positivos (SNYDER; PAUGH, 1988).

Vê-se, dessa maneira, que é necessário padronizar o método empregado, de modo que se tenha uma maior reprodutibilidade dos resultados obtidos, que, só assim, tornam-se passíveis de comparação. De um lado, tem-se a possibilidade de uma maior reprodutibilidade com a solução pronta, mas com um maior desconforto para o paciente – a quantidade do corante é sempre maior que a obtida com a tira impregnada e produz sensação de ardor com maior frequência. De outro, tem-se um maior conforto com a tira, mas uma maior variabilidade das concentrações obtidas.

Em uma tentativa de resolver o impasse, SNYDER e PAUGH (1988) propuseram a utilização da solução em quantidade menor (5 a 10ml) que a obtida com uma gota

To stain the ocular surface, rose bengal may be used as a 1% solution or as strips of paper impregnated with the dye and moistened in saline solution. Nevertheless, the level of sensitivity for the detection of staining positivity probably varies between the two methods, since the concentrations obtained with the latter are always below 1% and vary according to the dilution time. Therefore, in a patient with marginal dry eye, the strip may yield a negative result, whereas a small quantity of the more concentrated solution may render positive results (SNYDER; PAUGH, 1998).

The need to standardize the methodology used in order to achieve greater reproducibility of the results obtained and render them comparable is, therefore, obvious. On the one hand, a ready solution would increase the reproducibility of results; however, discomfort to the patient would be greater, since the amount of dye used would always be greater than that obtained with the impregnated paper strip and would therefore increase the likelihood of the patient experiencing a burning sensation. On the other hand, the paper strips are more comfortable, but there is greater variability in the concentrations obtained with this technique.

In an attempt to resolve this dilemma, SNYDER and PAUGH (1998) proposed the use of a smaller quantity (5-10 ml) of solution compared to that obtained

da solução comercial (40 ml) ou a diluição da tira impregnada com um volume fixo de 100 ml (o maior volume líquido que a tira comporta) e durante um intervalo de 15 segundos. Contudo, na literatura que aborda o diagnóstico do olho seco, ainda não se vê uma padronização do método de utilização do rosa bengala, quer seja em tiras ou em solução, tampouco, há um estudo da influência da utilização de colírio anestésico prévio ao corante sobre os resultados do teste (BRON, 2001; LEMP, 1995; BRON *et al.*, 2003).

Um outro fator ainda a confundir a interpretação da coloração por rosa bengala se deve à dúvida que paira a respeito de ser ele, ou não, um corante vital - corantes vitais não são tóxicos para células vivas (KHAN-LIM ; BERRY, 2004). Apesar de evidente a relação entre olho seco e a positividade da coloração pelo corante (GEERLING *et al.*, 1998; GEORGE *et al.*, 1994), ainda não se sabe, ao certo, os mecanismos através dos quais se dá a impregnação.

Tradicionalmente, é aceito que o rosa bengala tenha afinidade por células degeneradas e desvitalizadas. Todavia, foi demonstrado que é capaz de corar células vivas, desde que estejam desprovidas de uma camada de muco. E mais, que ao corar tais células, exerceria uma ação tóxica, dose dependente, que levaria à perda da vitalidade das mesmas. Esse efeito seria exacerbado pela exposição à luz e explicaria a reação de irritação ocular que ocorre após a exposição ao corante e que tem intensidade crescente com o decorrer do tempo (FEENSTRA; TSENG, 1992).

TSENG e ZHANG (1995), em um estudo objetivando determinar a interação entre o rosa bengala e diferentes proteínas, concluíram que o padrão normal de negatividade de coloração pelo corante se deve ao efeito barreira que a camada pré-ocular de muco exerce contra ele. PFLUGFELDER *et al.* (1997) sugeriram que a redução da densidade das células caliciformes e da expressão de mucina pelas células epiteliais mucosas poderia explicar o aumento da coloração por rosa bengala em pacientes com deficiência lacrimal aquosa. Sugeriram, ainda, que a mucina das células epiteliais mucosas seria um marcador da diferenciação normal do epitélio da superfície ocular, com a sua ausência significando o desenvolvimento de metaplasia escamosa. Com os estudos de DANJO *et al.* (1998), ficou evidente que, no olho seco, há uma alteração na distribuição ou na glicosilação da mucina na superfície das células apicais conjuntivais.

Mais recentemente, ARGÜESO *et al.* (2006) descreveram que a estratificação e a diferenciação das células epiteliais, avaliadas pela capacidade de produzir a mucina MUC 16, associada à membrana celular, e o carboidrato antígeno-T, associado à mucina das superfícies apicais, proporcionam proteção contra a penetração do rosa bengala *in vitro* e sugeriram um

when a drop of the commercial solution is used (40 ml) or the dilution of strips impregnated with a fixed volume of 100 ml (the greatest liquid volume that the paper strip is able to absorb) and for an interval of 15 seconds. Nevertheless, for the diagnosis of dry eye, no standardization of the methodology has yet been established in the literature regarding the technique of rose bengal staining, either in the form of paper strips or as a solution; moreover, no studies have yet been carried out on the effect of the use of anesthetic drops prior to staining on the results of the test (BRON, 2001; LEMP, 1995; BRON *et al.*, 2003).

Yet another confounding factor in the interpretation of rose bengal staining concerns the questions that have been raised regarding whether or not it constitutes a vital dye, vital stains not being toxic to living cells (KHAN-LIM; BERRY, 2004). Despite the evidence with respect to dry eye and the positivity of staining by the dye (GEERLING *et al.*, 1998; GEORGE *et al.*, 1994), the mechanisms by which impregnation occurs have still not been completely clarified.

Traditionally, it has been accepted that rose bengal has an affinity for degenerated and devitalized cells. Nevertheless, it has been demonstrated that the dye is capable of staining living cells when they are inadequately protected by the mucus layer. Moreover, by staining these cells, rose bengal would exert a dose-dependent toxic effect leading to a loss of cell vitality. Additionally, this effect would be exacerbated by exposure to light, a hypothesis that may explain the eye irritation that follows exposure to the dye and that grows in intensity over time (FEENSTRA; TSENG, 1992).

TSENG and ZHANG (1995) carried out a study to determine the interaction between rose bengal and different proteins and concluded that the normal pattern of negative staining by the dye is due to the barrier effect created by the precocular mucus tear layer against it. PFLUGFELDER *et al.* (1997) suggested that the reduction in the density of goblet cells and in the mucin expression by the mucosal epithelial cells may explain the increase in rose bengal staining in patients with aqueous tear deficiency. Moreover, they suggested that mucosal epithelial membrane mucin expression was a marker of the normal differentiation of the ocular surface epithelium, its absence indicative of the development of squamous metaplasia. Following the studies of DANJO *et al.* (1998), it became known that in dry eye there is an alteration either in mucin distribution or in mucin glycosylation on the surface of apical cells of the conjunctival epithelia.

More recently, ARGÜESO *et al.* (2006) reported that the stratification and differentiation of corneal epithelial cells, as evaluated by their capacity to produce the cell membrane-associated mucin, MUC 16, and the T-antigen carbohydrate associated with the mucin on

papel das mucinas associadas à membrana e de seus oligossacarídeos na proteção do epitélio da superfície ocular.

De acordo com KHAN-LIM e BERRY (2004), a aparente incoerência entre as evidências recentes, que apontam o muco pré-ocular como uma barreira à impregnação por rosa bengala, e os achados de NORN (1962), de que o corante teria afinidade por muco, seriam explicadas por diferenças de propriedades entre a mucina da superfície das células e a mucina que compõe os agregados amorfos de material que está sendo removido da superfície ocular.

Assim, o rosa bengala seria único ao detectar a função protetora do muco pré-ocular, constituindo, antes, um indicador de quebra da integridade do filme lacrimal associada à perda da diferenciação do epitélio da superfície ocular, assumindo, possivelmente, padrões de coloração diversos, de acordo com o fator patogênico primário e com a quantidade administrada do corante.

the apical surfaces, confer protection against the penetration of rose bengal *in vitro* and suggest a role of the membrane-associated mucins and their oligosaccharides in protecting the ocular surface epithelia.

According to KHAN-LIM and BERRY (2004), the apparent incoherence between recent findings suggesting that the preocular mucus constitutes a barrier to impregnation by rose bengal and the findings of NORN (1962) that the dye has an affinity for mucus may be explained by the differences in properties between the cell surface-associated mucins and the mucin that comprises the amorphous aggregates of material removed from the ocular surface.

Therefore, rose bengal is unique in detecting the protective function of preocular mucus, thereby representing an indicator of disruption of tear film integrity associated with loss of differentiation of the ocular surface epithelium, possibly assuming various staining patterns in accordance with the primary pathogenic factor and the amount of dye applied.

REFERÊNCIAS

References

1. ARGÜESO P, TISDALE A, SPURR-MICHAUD S, SUMIYOSHI M, GIPSON IK. Mucin characteristics of human corneal-limbal epithelial cells that exclude the rose bengal anionic dye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 47(1):113-119, 2006.
2. BRONAJ. Diagnosis of dry eye. *Surv Ophthalmol.* 45(2): 221-226, 2001.
3. BRONAJ, EVANS VE, SMITH JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry tests. *Cornea.* 22(7):640-650, 2003.
4. DANJO Y, WATANABE H, TISDALE AS, GEORGE M, TSUMURA T, ABELSON MB, et al. Alteration of mucin in human conjunctival epithelia in dry eye. *Invest Ophthalmol Visc Sci.* 39(13):2602-2609, 1998.
5. FEENSTRA RPG, TSENG SCG. What is actually stained by rose bengal? *Arch Ophthalmol.* 110(7):984-993, 1992.
6. GEERLING G, SIEG P, MEYER C, BASTIAN GO, LAQUA H. Transplantation of autologous submandibular glands in very severe keratoconjunctivitis sicca. 2 year outcome. *Ophthalmologe.* 95(4):257-265, 1998.
7. GEORGE MA, ABELSON MB, SCHAEFER K, MOOSHIAN M, WEINTRAUB D. A precise method of using rose Bengal in the evaluation of dry eye and the detection of changes in its severity. *Adv Exp Med Biol.* 350(s.n.):549-552, 1994.
8. HORWATH-WINTER J, BERGHOLD A, SHMUTT O. Evaluation of the clinical course of dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol.* 121(10):1364-1368, 2003.
9. KHAN-LIM D, BERRY M. Still confused about rose bengal? *Curr Eye Res.* 29(4-5): 311-317, 2004.
10. LAROCHE RR, CAMPBELL RC. Quantitative rose Bengal staining technique for external ocular diseases. *Ann Ophthalmol.* 20(7):274-276, 1988.
11. LEE SH, TSENG SC. Rose bengal staining and cytologic characteristics associated with lipid tear deficiency. *Am J Ophthalmol.* 124(6):736-750, 1997.
12. LEMP MA. Report of the National Eye Institute/Industry Workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J.* 21(4):224-232, 1995.
13. NORN MS. Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta ophthalmol.* 40(s.n.):389-401, 1962.
14. PASSMORE JW, KING JH JR. Vital staining of conjunctiva and cornea: review of literature and critical study of certain dyes. *Arch Ophthalmol.* 153(s.n.): 568-574, 1955.
15. PERUSSI JR. Inativação fotodinâmica de microorganismos. *Química Nova.* 30(4): 988-994, 2007.
16. PFLUGFELDER SC, SOLOMON A, STERN ME. The diagnosis and management of dry eye. *Cornea.* 19(5):644-649, 2000.
17. PFLUGFELDER SC. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea.* 17(1):38-56, 1998.
18. SJÖGREN H. Zur Kenntnis der keratoconjunctivitis sicca (keratitis filiformis bei hypofunktion der tränendrüsen). *Acta Ophthalmol. suppl* 2, 1933.
19. SNYDER C, PAUGH JR. Rose bengal dye concentration and volume delivered via dye-impregnated paper strips. *Optom Vis Sci.* 75(5):339-341, 1988.
20. VAN BIJSTERVELD OP. Diagnostic tests in the sicca syndrome. *Arch Ophthalmol.* 82(1):10-14, 1969.
21. TSENG SC, ZHANG SH. Interaction between rose bengal and different protein components. *Cornea.* 14(4):427-435, 1995.

CORRESPONDÊNCIA

Correspondence

Isabella Bezerra Wanderley de Queiroga
Av. Júlia Freire, 1200, sala 608 - Ed. Metropolitan - Expedicionários
58041-000 João Pessoa - Paraíba - Brasil

E-mail

queiroga.i@ig.com.br
rebrasa@ccs.ufpb.br