

EFEITO EROSIVO *IN VITRO* DE UM VINHO TINTO BRASILEIRO SOBRE ESMALTE BOVINO OBSERVADO EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

*"IN VITRO" EROSIVE EFFECT OF A BRAZILIAN RED WINE ON BOVINE ENAMEL OBSERVED
IN SCANNING ELECTRON MICROSCOPY*

Hugo, Fernando Neves*
Souza, Maria Antonieta Lopes de**
Curso, Ana Carolina***
Padilha, Dalva Maria Pereira****

RESUMO

O termo clínico erosão dental é usado para descrever os efeitos físicos de uma perda localizada, crônica e patológica de tecido mineral dentário que é removido quimicamente da superfície dentária por meio de ácido ou substâncias quelantes, sem envolvimento bacteriano. Estudos apontam diversos tipos de vinho como agentes causadores de erosão dentária. O objetivo deste trabalho foi descrever o efeito erosivo de um vinho tinto brasileiro sobre o esmalte bovino previamente imerso em saliva humana e água. Foram obtidos 20 blocos de esmalte bovino (3 mm × 3 mm × 3 mm). A metade da superfície de cada bloco foi coberta com esmalte de unhas. 10 blocos foram imersos em água e 10 em saliva humana por 12 horas. Após esse período, as peças foram imersas em vinho por 1 hora, submetidas ao ultra-som com acetona, lavadas e secas. As peças foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura. Em todos os blocos analisados foi possível observar erosão na superfície do esmalte. Em 2 blocos essa erosão foi leve, caracterizando-se como um alargamento das ranhuras fisiológicas do esmalte. No restante dos blocos ocorreu erosão severa, sendo possível observar o aspecto de favos de mel dos prismas de esmalte. O efeito erosivo no grupo de blocos imerso em saliva e em água foi similar. Concluiu-se que o vinho utilizado nesta experiência produziu erosão significativa na superfície do esmalte, *in vitro*. A imersão em saliva, precedente à exposição ao vinho, não pôde proteger o esmalte bovino contra a desmineralização, neste modelo experimental.

UNITERMOS: erosão do dente; esmalte dentário; microscopia eletrônica de varredura; saliva; vinho.

SUMMARY

The clinical term dental erosion is used to describe the physical effect of a located, chronic and pathological loss of mineral dental tissue that is removed of the surface of the tooth by acids or quelantes substances, without bacterial involvement. Studies point some types of wine as agents of dental erosion. The objective of this work was to describe the erosive effect of a Brazilian red wine on bovine enamel previously immersed in human saliva and water. 20 bovine enamel blocks was obtained (3 mm × 3 mm × 3 mm). The half of the surface of each block was covered with enamel of nails. 10 blocks was immersed in water and 10 in human saliva for 12 hours. After this period, the blocks were immersed in the wine during 1 hour, submitted to the ultrasound with acetone, washed and dry. The blocks were analyzed in scanning electron microscopy. In all of the 20 analyzed blocks were possible to observe erosion in the surface of the enamel. In 2 blocks this erosion was light. In 18 blocks severe

* Mestre em Gerontologia Biomédica pela PUCRS.

** Doutora em Estomatologia pela PUCRS. Professora da PUCRS.

*** Mestranda em Prótese Dentária, PUCRS.

**** Doutora em Estomatologia pela PUCRS. Professora da UFRGS e PUCRS.

erosion was occurred, therefore it was possible to recognize the aspect of honeycombs of the enamel prisms. The erosive effect in the blocks those was immersed in saliva and water was similar. In was concluded that the wine used in this experiment produced significant erosion in the surface of the enamel, "in vitro". The immersion in saliva, precedent to the exposition to the wine, could not protect the bovine enamel against the erosion, in this experimental model.

UNITERMS: dental erosion; enamel; scanning electron microscopy; saliva; wine.

INTRODUÇÃO

A idéia de que o consumo regular de vinho é um hábito saudável e protege contra doenças cardiovasculares é espalhada entre a população. Essa informação é suportada pelos resultados de diversos estudos observacionais onde o consumo moderado do álcool, particularmente no vinho tinto, é associado com um efeito protetor de contra arteriosclerose, morbidade e mortalidade cardiovascular^{1,3}. Alguns efeitos deletérios, entretanto, podem ser atribuídos ao vinho e tais efeitos deletérios precisam, também, ser estudados. Um desses efeitos deletérios que pode ser conferido ao vinho é o potencial de produzir erosão dental. As evidências de um artigo de relato de caso²¹ e de prevalência⁴, sugerem que o vinho tem um papel significativo como o agente causador da erosão dental. Outra evidência obtida em experimentos *in vitro*^{14,16} mostra o vinho como um agente com o potencial erosivo significativo, suportando seu papel no processo de desmineralização do dente.

O termo clínico erosão dental é usado para descrever os efeitos físicos de uma perda localizada, crônica e patológica de tecido mineral que é removido quimicamente da superfície do dente por meio de ácido ou substâncias quelantes, sem envolvimento bacteriano^{17,19}. Devido ao fato do pH crítico do esmalte dentário ser aproximadamente 5,5, qualquer solução com pH inferior à esse poderá causar erosão, particularmente se o ataque for de longa duração e repetir-se freqüentemente¹³. A saliva e a película salivar são barreiras ao ataque ácido, mas, se o desafio for severo, a destruição do tecido dentário se segue¹³.

O papel dos ácidos enquanto agentes causadores de erosão dental são suportados por estudos *in vitro*^{4,7,8,9,10,12,14,20} e *in vivo*^{4,21}. Esses estudos sugerem que os ácidos presentes nos sucos de frutas, refrigerantes, vinhos, medicamentos e colutórios bucais poderiam agir como os agentes erosivos^{4,7,8,9,10,12,14,20}.

As lesões erosivas na superfície do esmalte ocorrem devido a um demineralização causada por líquidos subsaturados de hidróxi e fluorapatita. Bebidas ácidas como refrigerantes, sucos de fruta

e vinho estão relacionados com processos erosivos, porque geralmente são subsaturados em relação a hidróxi e a fluorapatita⁶.

A saliva exerce diversas funções de proteção contra a erosão dental. Entre elas está sua habilidade neutralizadora pela diluição de ácidos presentes na boca, seus sistemas de tamponamento que neutralizam ácidos, sua habilidade de manter a supersaturação à presença de cálcio e fosfato, a formação da película salivar que protege a superfície do esmalte contra a demineralização dentária e a presença de cálcio, de fosfato e de fluoretos essenciais nos processos de remineralização¹⁷.

Alguns autores investigaram o papel do vinho como agente erosivo. Os resultados destes estudos apontam para um potencial significativo de diversos tipos de vinho como agentes causadores de desmineralização/erosão no dente. As experiências *in vitro* mostraram que vinhos são capazes de causar importante desmineralização da superfície de esmalte^{4,14,16} e dentina radicular⁴, e que a liberação de fosfato dos blocos de esmalte progride em uma maneira linear com tempo¹⁶.

O objetivo deste estudo foi descrever o efeito erosivo de um vinho tinto brasileiro popular em esmalte bovino previamente imerso em saliva humana e em água por meio de análise em microscopia eletrônica de varredura.

MATERIAIS E MÉTODOS

A abordagem usada nesta experiência para verificar o potencial erosivo do vinho tinto foi constituída de: medida do pH do vinho, representada pelo valor médio de três medidas (avaliadas por pHgâmetro digital HI98103 Checker® 1, Hanna, Vila Conde, Portugal) executadas em diferentes momentos, e descrição do aspecto micromorfológico do esmalte bovino após a exposição ao vinho com auxílio de microscópio eletrônico de varredura (XL30, Phillips, Eindhoven, Países Baixos).

Os blocos do esmalte foram obtidos pelo corte de oito incisivos bovinos com disco de diamante em uma mesa para corte de tecidos duros¹⁸. Os espécimes, medindo aproximadamente 3 mm × 3 mm × 3 mm (9 mm²), foram removidos da par-

te central do aspecto vestibular dos dentes. Todos os blocos foram examinados em um microscópio cirúrgico (M900, DF Vasconcellos, São Paulo, São Paulo, Brasil) e os blocos com rachaduras ou sulcos foram descartados. Vinte blocos, que resultam deste procedimento, foram submetidos ao ultrassom com água destilada para limpeza e armazenados em recipientes com água destilada, em temperatura ambiente até o início da experiência. Estes vinte espécimes de esmalte bovino tiveram todas suas superfícies, à exceção da metade do lado vestibular, coberta com o esmalte de unha. Após, os blocos foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos. Um grupo, composto por dez blocos de esmalte imersos por 12 horas em água destilada; e um grupo, composto por dez blocos imersos por 12 horas em saliva humana. A saliva humana foi coletada de um doador saudável no momento da experiência.

Os blocos de esmalte bovino foram, então, colocados em recipientes plásticos individuais contendo 25 ml do vinho tinto (Vinho tinto seco Garibaldi, Cooperativa Vinícola Garibaldi, Garibaldi, Rio Grande do Sul, Brasil), ficando totalmente imersos, cada um por um período de uma hora. Após esse período, os blocos de esmalte bovino foram lavados com água destilada, passaram por processo de limpeza em aparelho de ultrassom com acetona por vinte segundos para remover o esmalte de unha, lavados novamente com água destilada e deixados secar em temperatura de 23°C por 24 horas.

Os blocos foram processados para observação em microscópio eletrônico de varredura (XL 30, Phillips, Eindhoven, Países Baixos) e investigados sob ampliação pequena e grande ao longo da bor-

da coberta com esmalte de unha (limite entre a área protegida e a área exposta ao vinho tinto) para detectar todas as mudanças na superfície do esmalte. As zonas cobertas pelo esmalte de unha representaram o controle e as zonas descobertas representaram a região experimental em cada um dos espécimes investigados.

O critério que definiu a presença de erosão suave foi a existência de diferenças detectáveis entre as áreas previamente protegidas e expostas ao vinho nos blocos do esmalte. A presença da erosão moderada foi marcada pela dissolução do esmalte aprismático e a erosão severa pela observação da superfície do esmalte com a aparência de favo de mel, característica do esmalte prismático e típica de uma demineralização significativa de esmalte.

RESULTADOS

Em todos os 20 blocos analisados foi observado a ocorrência de erosão na superfície do esmalte bovino. Em 2 blocos, 1 que havia sido imerso em água destilada e 1 que havia sido imerso em saliva humana, previamente à exposição ao vinho tinto, observou-se erosão leve (Figuras 1 A e 1B), caracterizada pelo alargamento das ranhuras fisiológicas do esmalte (Figura 2). Em todos os outros blocos ocorreu erosão severa, sendo possível reconhecer o aspecto do favo de mel dos prismas do esmalte que algumas vezes eram rasos (Figura 3) e outros profundos (Figura 4).

Nenhuma diferença foi observada nos aspectos da erosão do esmalte entre os blocos previamente imersos em água destilada e em saliva humana. O espectro de efeitos erosivos em ambos os grupos foi muito similar.

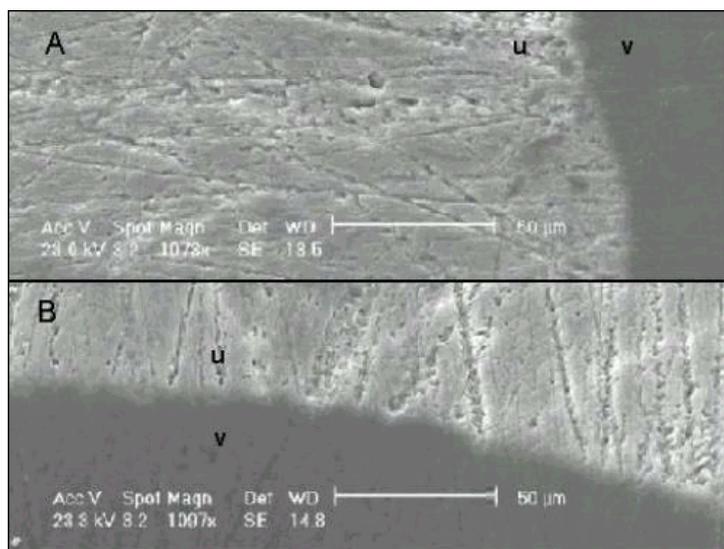


Figura 1 – Em **A**, microscopia eletrônica de varredura (1073×) mostrando discreta erosão em superfície de esmalte bovino previamente imerso em saliva. Em **B**, microscopia eletrônica de varredura (1097×) mostrando discreta erosão em superfície de esmalte bovino em bloco previamente imerso em água. Em **v** pode-se observar as áreas que foram cobertas com esmalte de unha antes da imersão em vinho e em **u** pode-se observar as áreas que não foram cobertas com esmalte de unha antes da imersão.

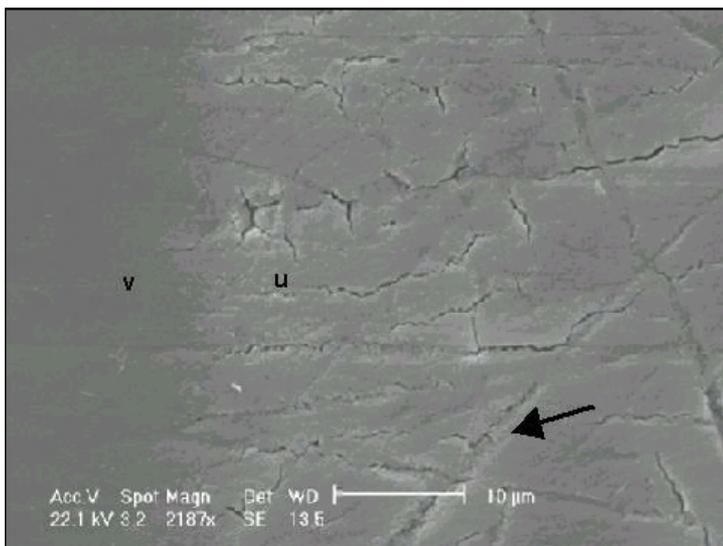


Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura (2187×) mostrando discreta erosão em superfície de esmalte bovino previamente imerso em saliva. A seta mostra os “riscos” fisiológicos do esmalte. Em **v** observa-se as áreas que foram cobertas com esmalte de unha antes da imersão em vinho e em **u** observa-se as áreas que não foram cobertas com esmalte de unha antes da imersão.

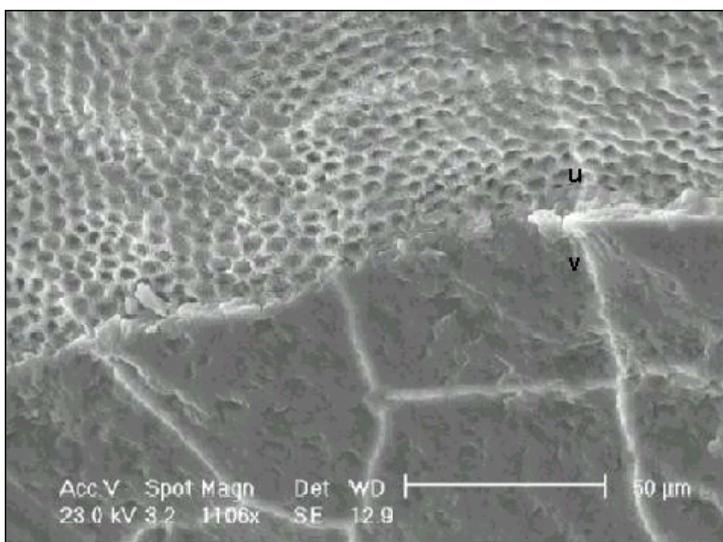


Figura 3 – Microscopia eletrônica de varredura (1106x) mostrando severa erosão em superfície de esmalte bovino previamente imerso em saliva. Em **v** observa-se as áreas que foram cobertas com esmalte de unha antes da imersão em vinho e em **u** observa-se as áreas que não foram cobertas com esmalte de unha antes da imersão.



Figura 4 – Microscopia eletrônica de varredura (1094x) mostrando severa erosão em superfície de esmalte bovino previamente imerso em saliva. Em **v** observa-se as áreas que foram cobertas com esmalte de unha antes da imersão em vinho e em **u** observa-se as áreas que não foram cobertas com esmalte de unha antes da imersão.

DISCUSSÃO

A erosão do esmalte bovino é um evento claramente observável nas fotomicrografias dos blocos de esmalte avaliados nesta experiência. Estes achados são suportados, guardando as diferenças entre protocolos experimentais, por outros estudos que usaram modelos *in vitro*^{4,14,16} para testar o potencial erosivo de diferentes tipos de vinhos, e que observaram demineralização significativa da dentina, esmalte e raiz expostas ao agente erosivos.

O pH do vinho usado nesta experiência (4.55) era mais baixo do que o pH crítico para a dissolução do esmalte dentário (5.5)¹². Estes achados indicam que esse vinho é uma solução com habilidade de agir como um agente erosivo. Se nós considerarmos que bebidas como o vinho são subsaturadas, em relação aos índices de hydroxi e de fluorapatita, quando comparados ao esmalte⁶, os efeitos erosivos observados nesta experiência estão justificados.

As erosões observadas nos blocos do esmalte avaliados exibiram, como característica dominante, a exposição dos prismas do esmalte que revelam o aspecto do favo de mel da camada prismática do esmalte. A aparência da erosão, progredindo da dissolução da camada aprismática do esmalte até a exposição completa das áreas prismáticas, que adquiriram completamente o aspecto do favo de mel, é característica da erosão severa do esmalte^{2,11,15}.

Nos blocos em que ocorreram poucos efeitos erosivos e a erosão foi classificada como leve, ocorreu um alargamento das ranhuras fisiológicas do esmalte. Isso se deve ao fato de que o processo erosivo começa nas áreas peritubulares, que são dissolvidas preferentemente após o contato com ácidos, devido ao seu grau mais elevado de mineralização². Com a exposição crescente do esmalte ao ácido, maiores mudanças são observadas, tornando-se visíveis áreas de estruturas prismáticas, devido à perda da camada aprismática do esmalte superficial. Estas mudanças progridem gradualmente até que toda a camada aprismática seja removida pela ação dos ácidos¹⁵. Isso condiz com as imagens observadas nos blocos de esmalte que sofreram erosão severa e que apresentavam como característica o aspecto do favo de mel.

Apesar do consenso de que a saliva exerce algum grau de proteção para o esmalte contra a desmineralização¹³, a imersão dos blocos de esmalte em saliva não protegeu a superfície do esmalte contra a desmineralização, causada pela

exposição ao vinho neste experimento. Isso porque, nenhuma diferença foi observada nos aspectos da erosão do esmalte entre os blocos previamente imersos em água destilada e em saliva. O espectro de efeitos erosivos em ambos os grupos foi, portanto, muito similar, não havendo diferença no modelo e na severidade da erosão observada em ambos os grupos neste experimento.

Outros autores verificaram que a película salivar formada sobre a superfície do esmalte podia protegê-lo, até determinado grau, contra a demineralização ocorrida devido à exposição ácida^{5,11}. Estas diferenças nos resultados podem ser explicadas pelos métodos diferentes usados para avaliar a erosão do dente, ou pelas diferenças entre os métodos escolhidos para formar a película salivar *in situ* sobre os blocos do esmalte. Na experiência onde o película salivar foi formada *in situ* sobre os blocos de esmalte⁵ havia uma proteção contra à exposição ácida, em oposição ao que foi observado nesta experiência onde a formação da película salivar ocorreu *in vitro*.

Entretanto, observou-se também um determinado grau de proteção contra a desmineralização em outras experiências onde ocorreu formação da película salivar sobre os blocos do esmalte *in vitro*^{9,11}. Estas diferenças entre os resultados das experiências poderiam ser atribuídos aos períodos da exposição (na saliva ou nos ácidos) ou às diferenças entre os tipos de ácidos usados para produzir a demineralização do esmalte. Ácidos diferentes podem agir de forma significativamente diferente quando em contato com a estrutura da película salivar. Sabe-se que em processos de demineralização o tipo de ácido e de sua concentração é mais importante do que o pH em determinar o potencial erosivo de uma dada substância¹⁶.

Então, embora o consumo regular de vinho seja um hábito saudável, seu uso não deve indiscriminado, não só pelos efeitos prejudiciais de seu teor alcoólico, mas também por outros de efeitos deletérios que o vinho pode provocar, como, por exemplo, erosão dental.

Os achados deste experimento devem ser interpretados levando-se em conta as limitações da abordagem experimental adotada. Experimentos *in vitro* representam apenas o presumido potencial erosivo de uma dada bebida, nesse caso o vinho, e sua capacidade de prover respostas sobre os processos de erosão deve ser encarada como limitada²². Isso porque o efeito dos agentes erosivos na boca de humanos depende de fatores como fluxo salivar e capacidade tampão¹⁹, e pelí-

cula salivar^{5,19}. Nossos resultados sugerem que o vinho possui potencial para provocar erosão dental, sob determinadas condições.

CONCLUSÕES

Concluiu-se que o vinho utilizado nesta experiência produziu erosão significativa na superfície do esmalte, *in vitro*. A imersão em saliva, precedente à exposição ao vinho, não protegeu o esmalte bovino contra a desmineralização, neste modelo experimental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Belleville J. The French paradox: possible involvement of ethanol in the protective effect against cardiovascular diseases. *Nutrition*. 2002;18:173-7.
2. Davis WB, Winter PJ. The effect of abrasion on enamel and dentine and exposure to dietary acid. *Brit Dent J*. 1980;148:253-6.
3. Foppa M, Fuchs FD, Duncan BB. Alcohol and atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol*. 2001;76:165-76.
4. Gray A, Ferguson MM, Wall JG. Wine tasting and dental erosion. Case report. *Aust Dent J*. 1998;43:32-4.
5. Hannig M, Baltz M. Influence of *in vivo* formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res*. 1999;33:372-9.
6. Larsen MJ. Demineralization of human enamel. *Scand J Dent Res*. 1974;82:491-5.
7. Lussi A, Jäggi T, Schärer S. The influence of different factor on *in vitro* enamel erosion. *Caries Res*. 1993;27:387-93.
8. Maia LC, Modesto A. Análise comparativa, ao microscópio eletrônico de varredura, de esmalte bovino exposto a diferentes soluções ácidas. Um estudo *in vitro*. *Rev Odontol Univ São Paulo*. 1996;10:161-8.
9. Maupomé G. *In vitro* quantitative microhardness assessment of enamel with early salivary pellicles after exposure to an eroding cola drink. *Caries Res*. 1999;33:140-7.
10. McCracken M, O'Neal SJ. Dental erosion and aspirin headache powders: A clinical report. *J Prosthodont*. 2000;9:95-8.
11. Meurman JH, Frank RM. Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res*. 1991;25:1-6.
12. Meurman JH et al. Hospital mouth-cleaning aids may cause dental erosion. *Spec Care Dent*. 1996;16:247-50.
13. Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci*. 1996;104:199-206.
14. Meurman JK, Vesterinen M. Wine, alcohol, oral health, with special emphasis on dental erosion. *Quintessence Int*. 2000;31:729-33.
15. Millward A, Shaw L, Smith AJ. *In vitro* techniques for erosive lesion formation and examination in dental enamel. *J Oral Rehab*. 1995;22:37-42.
16. Mok TB, McIntyre J, Hunt D. In vitro model of wine assessor's erosion. *Aust Dent J*. 2001;46:263-8.
17. Moss SJ. Dental erosion. *Int Dent J*. 1998;48:529-39.
18. Padilha DMP, Hammes M. Mesa milimetrada para corte de tecidos duros: nota prévia. *Rev Fac Odont Porto Alegre*. 1998;39:24-5.
19. ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci*. 1996;104:241-4.
20. West NX et al. A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel. *J Dent*. 1998;26:329-35.
21. Wiktorsson AN, Zimmerman M, Angmar-Månsson B. Erosive tooth wear: prevalence and severity in Swedish wine tasters. *Eur J Oral Sci*. 1997;105:544-50.
22. Zero, DT. Etiology of dental erosion- extrinsic factors. *Eur. J. Oral Sci*. 1996;104:162-77.

Recebido para publicação em: 16/08/2005; aceito em: 07/12/2005.

Endereço para correspondência:

MARIA ANTONIETA LOPES DE SOUZA
Faculdade de Odontologia da PUCRS
Av. Ipiranga, 6681 – Prédio 6
CEP 90619-900, Porto Alegre, RS, Brasil