



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE FARMÁCIA**

FERNANDA ALEXANDRE DA SILVA

**EFEITOS DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA DE BANDA C (254 nm) SOBRE UMA
LINHAGEM DE FIBROBLASTOS DA MUCOSA ORAL HUMANA**

**MACEIÓ - AL,
2024**

FERNANDA ALEXANDRE DA SILVA

**EFEITOS DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA DE BANDA C (254 nm) SOBRE UMA
LINHAGEM DE FIBROBLASTOS DA MUCOSA ORAL HUMANA**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado ao
Instituto de Ciências Farmacêuticas da
Universidade Federal de Alagoas, como
requisito parcial do título de Farmacêutica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Janylle Nunes de Souza
Ferro

**MACEIÓ - AL,
2024**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S586e Silva, Fernanda Alexandre da.
Efeitos da radiação ultravioleta de banda C (254nm) sobre uma linhagem de fibroblastos não tumorais da mucosa oral humana / Fernanda Alexandre da Silva. – 2024.
53 f. : il. color.

Orientadora: Janylle Nunes de Souza Ferro.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) –
Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas.
Maceió, 2024.

Bibliografia: f. 46-53.

1. Radiação ultravioleta - C. 2. Efeitos da radiação – Fibroblastos humanos. 3. Protetores contra radiação. I. Título.

CDU: 52-74 : 614.89

Folha de Aprovação

FERNANDA ALEXANDRE DA SILVA

EFEITOS DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA DE BANDA C (254 nm) SOBRE UMA LINHAGEM DE FIBROBLASTOS DA MUCOSA ORAL HUMANA

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à banca examinadora do curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas e aprovado em 21 de fevereiro de 2024.

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
 JAMYLLÉ NUNES DE SOUZA FERRO
Data: 23/02/2024 17:34:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Orientadora- Prof^{fa}.Dr^a. Jamylle Nunes de Souza Ferro, UFAL)

Documento assinado digitalmente
 MARIA ALINE BARROS FIDELIS DE MOURA
Data: 22/02/2024 14:17:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Examinadora – Maria Aline Barros Fidelis de Moura, UFAL)

Documento assinado digitalmente
 MARIA DANIELMA DOS SANTOS REIS
Data: 22/02/2024 15:30:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Examinadora – Maria Danielma dos Santos Reis, UFAL)

Dedico este trabalho a minha família, meu porto seguro, cujo amor e apoio incondicional foram a luz nos momentos desafiadores. Especialmente à minha mãe, Sônia Maria, cuja fé nos meus sonhos nunca falhou. Ao meu pai, Edson Alexandre, que sempre esteve comigo e seu empenho permitiu que eu deixasse o interior para cursar uma faculdade pública, e à minha irmã, Erika Alexandre, fonte constante de inspiração que motivou a minha escolha pela farmácia. Expresso minha gratidão a Deus, sem Ele eu não teria alcançado êxito no desenvolvimento deste trabalho. A todos vocês, minha família e meu alicerce espiritual, dedico este trabalho com profundo carinho e reconhecimento.

AGRADECIMENTOS

O escritor austríaco Karl Kraus afirmou que “A educação é aquilo que a maior parte das pessoas recebe, muitos transmitem e poucos possuem.” Inspirado por essa visão, inicio meus agradecimentos reconhecendo a importância da jornada educacional, que vai além das salas de aula e dos livros. Neste sentido, expresso a minha profunda gratidão a todos que contribuíram para a minha formação e para a conclusão deste trabalho.

Agradeço primeiramente a Deus cuja presença foi uma constante fonte de força nos momentos mais desafiadores da minha jornada acadêmica. A Ele, agradeço por me levantar nos períodos difíceis, por me mostrar que sou capaz todas as vezes que deixei de acreditar que era capaz e por conceder-me ânimo e coragem para perseverar em busca dos meus sonhos e objetivos. Mesmo diante de todas as adversidades, enfrentando viagens diárias para outra cidade e dedicando longas horas de estudo, agradeço por sua constante presença, nunca me desamparado e sempre ao meu lado durante minhas lutas. Nos momentos em que recursos financeiros eram escassos, agradeço por sua provisão inesperada, mostrando que, verdadeiramente, nada é impossível.

À minha família, meu alicerce e fonte inabalável de apoio, expresso minha eterna gratidão. Em especial, agradeço à minha mãe, Sônia, cujo auxílio e incentivo foram inestimáveis. Ao meu pai, Edson, que nunca permitiu que me faltasse nada e sempre foi meu porto seguro. À minha irmã, Erika, que foi não apenas apoio, mas também uma luz constante em minha vida. Ela compartilhou comigo as lágrimas e sorrisos durante os desafios acadêmicos, sempre oferecendo auxílio e encorajamento.

Às minhas queridas tias Cícera e Lúcia, assim como às minhas primas Layane Aline, Sophia, Sarah, Lidiane, e ao Felipe, expresso minha profunda gratidão. Seu apoio incansável e esforços foram o alicerce que sustenta minha jornada. Agradeço por acreditarem incondicionalmente na minha capacidade, por estenderem suas mãos generosas em momentos cruciais e por serem fontes constantes de estímulo e confiança. A minha querida vizinha Maria do Carmo (*in memoriam*) que sabia que eu seria uma profissional incrível e sempre acreditou no meu potencial e me motivava com suas sábias palavras.

Agradeço de coração aos meus colegas e amigos de turma, verdadeiros companheiros nesta jornada repleta de desafios e vitórias: Heverlânia, Nayane, Cleidiane, Bruna, Larissa, Brunele Gabriel e Mayara. A gratidão transborda por todo o suporte e colaboração que proporcionaram ao longo desta graduação. Em cada obstáculo enfrentado, compartilhamos não apenas desafios, mas também a força e a determinação para superá-los. A união e amizade que construímos foram fundamentais para que todos nós chegássemos até aqui. Obrigada por tanto, pela solidariedade nas lutas e pela celebração mútua nas conquistas. Essa experiência foi mais rica e significativa graças à presença de cada um de vocês ao meu lado. Às minhas amigas que a graduação me presenteou e que se tornaram verdadeiras irmãs, Heverlânia, Nayane e Cleidiane, dedico minha profunda gratidão. As lutas árduas, as horas dedicadas aos estudos na biblioteca e até as lágrimas derramadas na química orgânica tornaram-se mais leves com a presença de vocês. Sorrir juntas foi o remédio para as dificuldades, uma válvula de escape que nos permitiu enfrentar desafios com leveza.

Agradeço com profundo respeito e admiração aos meus professores, verdadeiras fontes de inspiração ao longo desta jornada acadêmica. Edson, Ticiano, Camila, Ciria, Marvin, Irinaldo, Sabrina, Alfredo, Gerson, Rosa, Igor, Danielma e Aline, cada um de vocês contribuiu significativamente para o meu crescimento e aprendizado.

Expresso minha profunda gratidão a toda família LBC, em especial àquela que se tornou minha segunda orientadora e uma grande amiga, Everlaine, por compartilhar não apenas protocolos, técnicas, ensinar cálculos e desenho experimental e laboratoriais, mas também risadas, aprendizado e inspiração, guiando-me como pesquisadora e que nas vezes em que duvidei de mim mesma, ela acreditou no meu potencial. Ao meu querido grupinho, desde a chegada de Cecília, Thamires e Ellen, agradeço por ensinarem, incentivarem e acolherem. Aos professores pesquisadores do LBC que são fonte de inspiração na Ciência, juntamente com minha orientadora, Danielma, Emiliano, Borbely e a Ju, que me acolheu e deu suporte sempre que precisei. A Tayhana, Erick, Jordana, Allef, Julianderson, Bia, Laura e Vanessa, obrigada por cada palavra sábia e ensinamento. Expresso minha gratidão aos membros do grupo Team Ehrlich, do qual faço parte, nossas pesquisas são frutos da colaboração e dedicação de cada um. Agradeço a Everlaine, James, Jonata, Luana e Emily por compartilharem comigo horas de experimentos.

Agradeço imensamente à banca avaliadora, pela disponibilidade em contribuir nesta etapa da minha formação. A professora Aline, a quem tive a honra de ser monitora. Sua dedicação como mãe, profissional incrível e uma pesquisadora inspiradora. À professora Danielma, uma escritora magnífica e líder em sua linha de pesquisa, expresso minha profunda admiração.

A minha orientadora, Jamylle Ferro, uma profissional notável. Agradeço por fazer parte da minha formação, por cada ensinamento e por todas as oportunidades que me proporcionou. Muito obrigada, pela oportunidade de realizar pesquisa que tanto amo, por acreditar em mim e por ser um guia nesse percurso.

Por fim, agradeço a cada um que direta ou indiretamente foram peças fundamentais na construção deste capítulo da minha vida, e por isso, meu agradecimento é sincero e cheio de gratidão. O caminho foi desafiador, mas saber que contava com o respaldo de pessoas tão especiais tornou cada obstáculo mais superável.

“A educação é a arma mais poderosa
que você pode usar para mudar o
mundo”.

Nelson Mandela

RESUMO

Dispositivos como fonte de emissão de radiação UV-C despertam grande interesse para a desinfecção de diversos ambientes, como estações de tratamento de água e em ambientes hospitalares, sendo uma abordagem promissora para reduzir a carga microbiana no ar, ambiente e superfícies. Sendo assim, a busca por alternativas na construção de dispositivos de baixo custo e fácil operação, que visem à desinfecção de ambientes hospitalares torna-se fundamental para minimizar o número de mortes causadas por infecções hospitalares. Nesse contexto, os efeitos da radiação UV-C têm sido relatados na literatura com diversas atividades nocivas. Entretanto, os efeitos com uso de barreira física ainda não foram descritos, bem como os efeitos sobre fibroblastos humanos não tumorais da mucosa oral. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da radiação UV-C de 254 nm emitidos por uma luminária portátil de baixo custo em linhagem de fibroblastos de mucosa oral (FGH) e investigar os efeitos protetores de barreira física de materiais componentes de equipamentos de proteção individual (EPIs). Após a padronização do protocolo de irradiação, as células foram expostas à radiação UV-C (254 nm, 18 W, 13 mJ/cm²) por 10 segundos, e após 1, 6, 24 e 72 horas foram realizadas análises em relação a sua viabilidade, morfologia e morte celular por fluorescência. Os resultados indicaram uma redução significativa na viabilidade celular tempo-dependente, correlacionada com alterações na sua morfologia, principalmente em 72 horas após a exposição. Corroborando ainda com esses achados, observou-se maior marcação com os corantes fluorescentes LA/IP nas células expostas à radiação, indicando a ocorrência de apoptose e necrose, em especial nos tempos de 24 e 72 horas, incluindo alterações nucleares celulares, com a presença de fragmentação e condensação no DNA. Contudo, ao utilizar materiais de látex (componente de luvas de borracha) e polipropileno (máscara descartável PFF2) como barreira entre as células e fonte de radiação por 300s, houve uma proteção frente a viabilidade celular, saindo de uma redução de cerca de 80% nas células expostas sem barreira, para 20 e 25% quando usado látex e polipropileno, respectivamente. A mesma proteção foi observada ao analisar a morfologia celular e na discreta marcação com LA/IP. Com isso, sugere-se que os danos causados às células da linhagem FGH são semelhantes aos observados em outros tipos celulares, e que o uso de materiais presentes em EPIs mostra-se promissor na proteção dos danos celulares em caso de exposição acidental. No entanto, mais estudos são necessários para confirmar o efeito protetor e seus mecanismos, bem como a resistência dos materiais que compõem os EPIs à radiação.

Palavras-chave: Radiação ultravioleta de banda C; Biossegurança; Danos ao DNA.

ABSTRACT

Devices as a source of UV-C radiation emission arouse great interest for the disinfection of various environments, such as water treatment plants and hospital environments, being a promising approach to reduce the microbial load in the air, environment and surfaces. Therefore, the search for alternatives in the construction of low-cost and easy-to-operate devices aimed at disinfecting hospital environments becomes essential to minimize the number of deaths caused by hospital infections. In this context, the effects of UV-C radiation have been reported in the literature with several harmful activities. Nonetheless, the effects with the use of a physical barrier have not yet been described, as well as the effects on non-tumor human fibroblasts of the oral mucosa. Thus, the aim of this study was to investigate the effects of 254 nm UV-C radiation emitted by a low-cost portable luminaire in an oral mucosal fibroblast (FGH) cell line and to investigate the protective effects of physical barrier materials of personal protective equipment (PPE). After standardization of the irradiation protocol, the cells were exposed to UV-C radiation (254 nm, 18 W, 13 mJ/cm²) for 10 seconds, and after 1, 6, 24 and 72 hours, analyses were performed in relation to their viability, morphology and cell death by fluorescence. The results indicated a significant reduction in time-dependent cell viability, correlated with changes in cell morphology, especially at 72 hours after exposure. Corroborating these findings, greater labeling with OA/PI fluorescent dyes was observed in cells exposed to radiation, indicating the occurrence of apoptosis and necrosis, especially at 24 and 72 hours, including cellular nuclear alterations, with the presence of ADN fragmentation and condensation. Nevertheless, when using latex materials (rubber gloves component) and polypropylene (PFF2 disposable mask) as a barrier between the cells and a radiation source for 300 seconds, there was protection against cell viability, going from a reduction of about 80% in cells exposed without barrier, to 20 and 25% when latex and polypropylene were used, respectively. The same protection was observed when analyzing cell morphology and discrete OA/PI staining. Therefore, it is suggested that the damage caused to FGH cells is similar to that observed in other cell types, and that the use of materials present in PPE shows promise in protecting cell damage in case of accidental exposure. However, further studies are needed to confirm the protective effect and its mechanisms, as well as the resistance of the materials that compose PPE to radiation.

Keywords: Keywords: C- band ultraviolet radiation; Biosafety; ADN damage

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Espectros de radiação ultravioleta.....	17
Figura 2	– Esquema representativo de morte celular e necrose.....	21
Figura 3	– Histologia da pele.....	23
Figura 4	– Representação esquemática da luminária UVC.....	30
Figura 5	– Representação esquemática do ensaio de viabilidade celular MTT...	31
Figura 6	– Esquema de exposição à radiação UV-C a partir do ensaio de MTT.	32
Figura 7	– Representação esquemática da marcação dupla com laranja de acridina e iodeto de propídio.....	33
Figura 8	– Efeito da radiação UV-C sobre a viabilidade celular.....	36
Figura 9	– Análise da radiação UV-C sobre a morfologia de fibroblasto de mucosa oral.....	37
Figura 10	– Avaliação do processo de apoptose com marcação dupla laranja de acridina e iodeto de propídio.....	39
Figura 11	– Efeito da radiação UV-C sobre a viabilidade com material de EPIs.	41
Figura 12	– Análise da radiação UV-C sobre a morfologia com com polipropileno e látex.....	42
Figura 13	– Avaliação do processo de morte celular com com polipropileno e látex.....	43
Figura 14	– Esquema representando os efeitos da radiação UV-C in vitro em fibroblastos de mucosa oral.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UV-C	Radiação ultravioleta C
PBS	Tampão Fosfato de Sódio
DMEM	Meio de Eagle modificado da Dulbecco
D.O.	Densidade óptica
DMSO	Dimetilsulfóxido
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EtOH	Etanol
g	Gramas
H₂DCFH-DA	2',7'- diacetato diclorofluoresceína
IP	Iodeto de propídeo
ICF	Instituto de Ciências Farmacêuticas
LBC	Laboratório de Biologia Celular
FGH	Linhagem celular de Fibroblasto Humano de mucosa oral
mg/mL	Miligrama por mililitro
mL	Mililitro
W	Walter
mM	Milimolar
mJ	Milijoules
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
nm	Nanômetro
Rpm	Número de rotações por minuto
SBF	<i>Serum Bovine Fetal</i> (Soro Bovino Fetal)
IRAS	Infecções relacionadas à saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
®	Marca Registrada
cm ²	Centímetro quadrado
°C	Graus Celsius
W	Watts
mJ	Millijoule
V	Volts

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1	Radiação Ultravioleta.....	17
2.2	Aplicações da radiação UV-C.....	18
2.3	Efeitos da radiação UV-C em células e tecidos animais.....	20
2.4	Efeito da radiação células da pele.....	21
2.5	Uso de barreira física de proteção contra a radiação.....	26
3	OBJETIVOS.....	28
3.1	Objetivo geral.....	28
3.2	Objetivos específicos.....	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1	Reagentes e soluções.....	29
4.2	Cultura celular.....	29
4.3	Protocolo de exposição à radiação UV de banda-C.....	29
4.4	Ensaio de viabilidade celular.....	31
4.5	Análise da morfologia celular.....	32
4.6	Ensaio de morte celular com a dupla marcação de Laranja de acridina e Iodeto de propídio.....	33
4.7	Ensaio com a utilização de EPIs.....	34
4.8	Análises estatísticas.....	34
5	RESULTADOS.....	35
5.1	Efeito da radiação UV-C sobre a viabilidade e morfologia celular.....	35

5.2	Efeito da radiação UV-C sobre a morte celular.....	38
5.3	Efeito de materiais usados na confecção de EPIs como barreira de proteção expostas à radiação UV-C.....	40
6	DISCUSSÃO.....	44
7	CONCLUSÃO.....	49
8	PERSPECTIVAS.....	50
	REFERÊNCIAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

A radiação, um fenômeno natural e essencial em diversos processos, tem sido objeto de intensa pesquisa devido aos seus efeitos danosos ao ser humano (Dantas *et al.*, 2020). Nesse contexto, o aumento da irradiação ultravioleta, em especial de banda C, é caracterizado como um grave problema ambiental e de saúde pública (Bernhard *et al.*, 2023).

Contudo, inúmeros estudos têm revelado que a radiação ultravioleta de banda C é considerada uma solução emergente e sustentável para enfrentar futuras infecções e desafios pandêmicos devido ao seu potencial antimicrobiano (Estellera *et al.*, 2021). A desinfecção promovida através do uso de radiação UV-C a 254 nm de comprimento de onda, tem sido descrita por sua capacidade de inativar microrganismos multirresistentes, danificando principalmente o material genético de vírus, fungos e bactérias (Biasin *et al.*, 2021). Além disso, são usadas para a desinfecção de superfícies, instrumentos em geral ou ar ambiente, sendo mais eficaz em comparação a utilização de desinfetantes ou antissépticos usados para desinfecção hospitalar, o que a torna uma ferramenta essencial para aplicação em ambientes hospitalares (Ploydaeng *et al.*, 2021).

No entanto, a exposição inadequada a essa radiação representa um risco significativo para a saúde humana (Santos, 2022). Estudos indicam que a exposição acidental pode causar efeitos adversos na pele, como eritema, fotoenvelhecimento, estresse oxidativo, inflamação, fotocarcinogênese, fotoimunossupressão, além do e indução da autofagia (Mohania *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2019; Chen, X; Yang, 2021). Estudos com linhagens celulares, como fibroblastos e queratinócitos, mostraram que quando as células são expostas à radiação são drasticamente afetadas devido a danos provocados ao (DNA) da célula, reforçando a importância de estudos sobre efeitos da radiação nestas linhagens (Valerio *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2021).

Os fibroblastos, células do tecido conjuntivo, desempenham um papel fundamental na produção e na secreção da matriz extracelular (MEC), protegendo e sustentando outros tipos celulares, contribuindo para a cicatrização e para a regeneração dos tecidos (Huang *et al.*, 2022). Entretanto, essas células podem sofrer danos devido ao estresse oxidativo quando submetidas a radiação, comprometendo as suas funções e implicando em danos ao DNA, como fotolesões diretas e danos

oxidativos após a exposição à radiação UV-C e, consequentemente levando a morte celular (Huang *et al.*, 2022; Chaiprasongsuk; Panich, 2022).

Com base nesse contexto, tendo em vista que durante pandemia da COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2 que pode ser transmitido por contato físico próximo, por inalação de partículas virais no ar, gotículas respiratórias de pessoas infectadas ou pelo contato com superfícies contaminadas, levou a um aumento no uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) e de estudos para o estabelecimento de melhores protocolos de desinfecção (Freeman *et al.*, 2022).

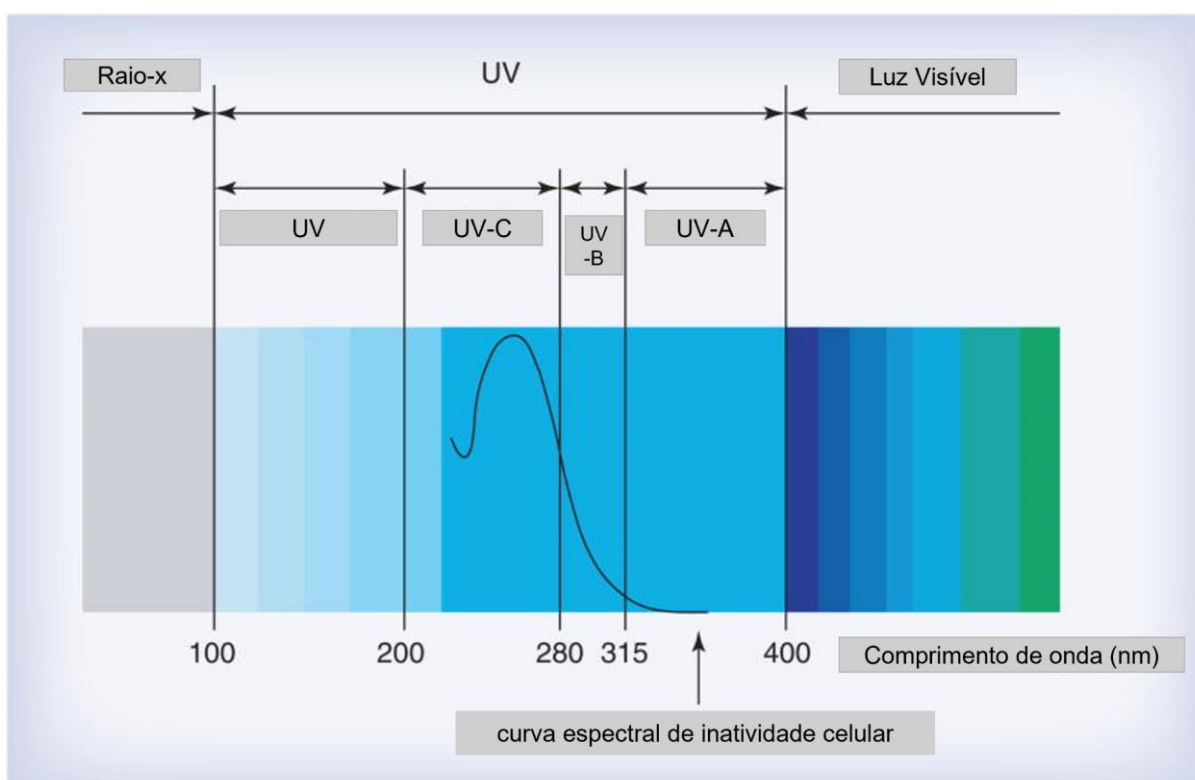
Os EPIs mais comumente utilizados em ambientes hospitalares são as jalecos, máscaras e luvas, sendo a composição e forma de preparo, bem como o arcabouço estrutural dos mesmos, de fundamental importância para conferir resistência, durabilidade e proteção contra diferentes perigos aos quais profissionais da saúde e a população geral estão expostos (Scott; Joshi; McGinn, 2022). Assim, dada a relevância do estabelecimento de protocolos de biossegurança a serem implantados, os efeitos sobre células humanas precisam ser ampliados, bem como a verificação da eficácia dos materiais usados na composição dos EPIs sobre tais células (Tabish; Basch, 2020). Portanto, este estudo investigou os efeitos da radiação ultravioleta de banda-C em 254 nm, e o efeito protetor dos materiais usados na fabricação de EPIs usando uma linhagem de fibroblastos da mucosa oral não tumoral, visando à redução de infecções em ambientes hospitalares.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Radiação ultravioleta

A Radiação ultravioleta (UV) é uma forma de energia eletromagnética proveniente do sol. Conhece-se 3 tipos distintos: UV-A, UV-B e UV-C, cada tipo possui diferentes faixas de comprimento de onda, a UV-A abrange comprimentos de 315 a 400 nanômetros (nm), a UV-B varia de cerca de 280 a 315 nm, e a UV-C estende-se de aproximadamente 200 a 280 nm (WANG *et al.*, 2022).

Figura 1 - Espectros de radiação ultravioleta.



Fonte: Adaptado, Dai *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2022.

A principal fonte de radiação A, B e C é a luz solar, sendo responsáveis pela exposição diária à radiação UV. A UV-A penetra mais profundamente na pele e está associada ao envelhecimento, já a UV-B desempenha papel significativo na produção de vitamina D e pode causar queimaduras solares quando há exposição excessiva, enquanto que a radiação UV-C é barrada pela camada de ozônio na atmosfera (WELLER *et al.*, 2021).

Dentre estas, a radiação ultravioleta do tipo C tem sido implementada em diversos hospitais como uma ferramenta eficaz na esterilização de superfícies e ambientes. Seu poder germicida é capaz de inativar diversos microrganismos patogênicos, tornando-a uma opção atraente para a desinfecção de salas cirúrgicas, quartos de pacientes, equipamentos médicos e outras áreas críticas nos hospitais (Scott; Joshi, 2022).

A utilização de dispositivos UV-C para descontaminação hospitalar tem crescido no mercado tecnológico, devido sua capacidade na descontaminação de superfícies de contato como o chão e em superfícies de alto contato como utensílios, cama e aparelhos hospitalares, sendo estes dispositivos complementos importantes no controle de infecções hospitalares, podendo reduzir as infecções associadas a cuidados de saúde (IACS, bem como a carga biológica no ambiente (Boyce,2019). Além disso, na última década, tem sido amplamente utilizada para a desinfecção de patógenos e tratamento de águas residuais (Zhang *et al.*, 2023).

Métodos convencionais de descontaminação, como limpeza manual seguida de desinfecção química, são trabalhosos, propensos a erros, além de não proporcionarem resultados consistentes e eficazes (Mehta *et al.*,2023). Sendo assim, a irradiação germicida ultravioleta (UV) é reconhecida por sua eficácia na desinfecção e esterilização em contrapartida aos métodos convencionais que podem ter limitações de contato (Lyons *et al.*,2021).

2.2 Aplicações da radiação UV-C

Os estudos sobre os espectros de decomposição da luz remontam do século XV realizados por Isaac Newton, e no século XIX, os primeiros estudos mostrando de maneira eficaz a inibição do crescimento de bactérias em placas expostas a luz solar, sugerindo a presença de radiação UV (Fara, 2015). Devido a esses achados, vários estudos foram realizados desde então, para investigar o efeito germicida da radiação UV (Chen ; Xiao,2022).

Dentre as aplicações, a radiação UV-C em diferentes comprimentos de onda é usada em estações de tratamento de água desde a década de 1950, onde estudos mostraram a sua eficácia em prevenir ou eliminar o crescimento de bactérias (Demeersseman *et al.*,2023), além de ser utilizada na desinfecção do ar em diferentes ambientes (Potappovich *et al.*,2023).

Devido a sua importância em saúde, ainda em 1999, a OMS publicou diretrizes sugerindo a utilização da luz UV-C para auxiliar no controle da tuberculose, doença causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* sendo um importante problema de saúde pública, em especial, em regiões consideradas menos desenvolvidas (OMS, 2022). A colonização e a proliferação bacteriana estão contribuindo para a evolução de infecções. Esses organismos são responsáveis por causar infecções associadas à assistência à saúde (IAAS) que aumentam os gastos financeiros com os tratamentos dos pacientes (Chaguza, 2020).

Diversas revisões mais recentes têm consolidado as aplicações da tecnologia UV-C na indústria alimentícia mediante a utilização de reatores contínuos ou no tratamento de alimentos líquidos, como é o caso dos sucos de frutas com radiação UV-C de comprimento de onda curto (200–280 nm) (Mansur; Lee, 2023). Além disso, têm sido amplamente utilizadas para a desinfecção de patógenos e tratamento de águas residuais na última década, no entanto é importante destacar que, embora a demonstre alta eficácia no combate a bactérias, vírus e demais microrganismos, ela não tem a capacidade de eliminar impurezas físicas ou produtos químicos presentes na água (Wang *et al.*, 2022).

Outra aplicação significativa da radiação ultravioleta do tipo C está relacionada aos cuidados pessoais e profissionais, em particular na área da estética. Essas lâmpadas desempenham um papel essencial em técnicas de manicure, como acrílico ou pó de imersão, e têm ganhado crescente popularidade. A maioria dos salões de beleza incorpora essa tecnologia. Entretanto, surgem preocupações sobre o potencial mutagênico de diversas lâmpadas UV e seus possíveis danos sobre as células da pele (Jakubczyk *et al.*, 2023).

Ainda neste sentido, a radiação ultravioleta de banda C tem sido implementada como método de desinfecção em ambientes hospitalares como uma ferramenta eficaz na desinfecção de superfícies, ar em diferentes ambientes (Scott; Joshi, 2022). Tal implementação deve-se ao crescente número de microrganismos resistentes aos medicamentos disponíveis, o que contribui com casos de infecção hospitalar e consequente mortalidade (Boyce, 2019).

Os métodos convencionais de descontaminação, como a limpeza manual seguida de desinfecção química, são trabalhosos e propensos a erros, além de não

proporcionarem resultados consistentes e eficazes como esperados (Mehta *et al.*, 2023).

A ação antimicrobiana da radiação UV-C deve-se a capacidade de inativar diversos microrganismos, tornando-a uma opção atraente para a desinfecção de ambientes hospitalares (Scott; Joshi, 2022). Estudos recentes mostraram a eficácia da radiação UV-C de 254 nm em reduzir ou eliminar os microrganismos como *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* em hospitais (Ruetalo *et al.*, 2021).

A utilização da radiação UV-C como método de descontaminação de superfícies sem contato, é uma importante ferramenta complementar às precauções de controle de infecções e cuidados a saúde do trabalhador, podendo reduzir as infecções associadas a cuidados de saúde (IACS) em superfícies de alto contato, bem como a carga biológica no ambiente (Boyce, 2019).

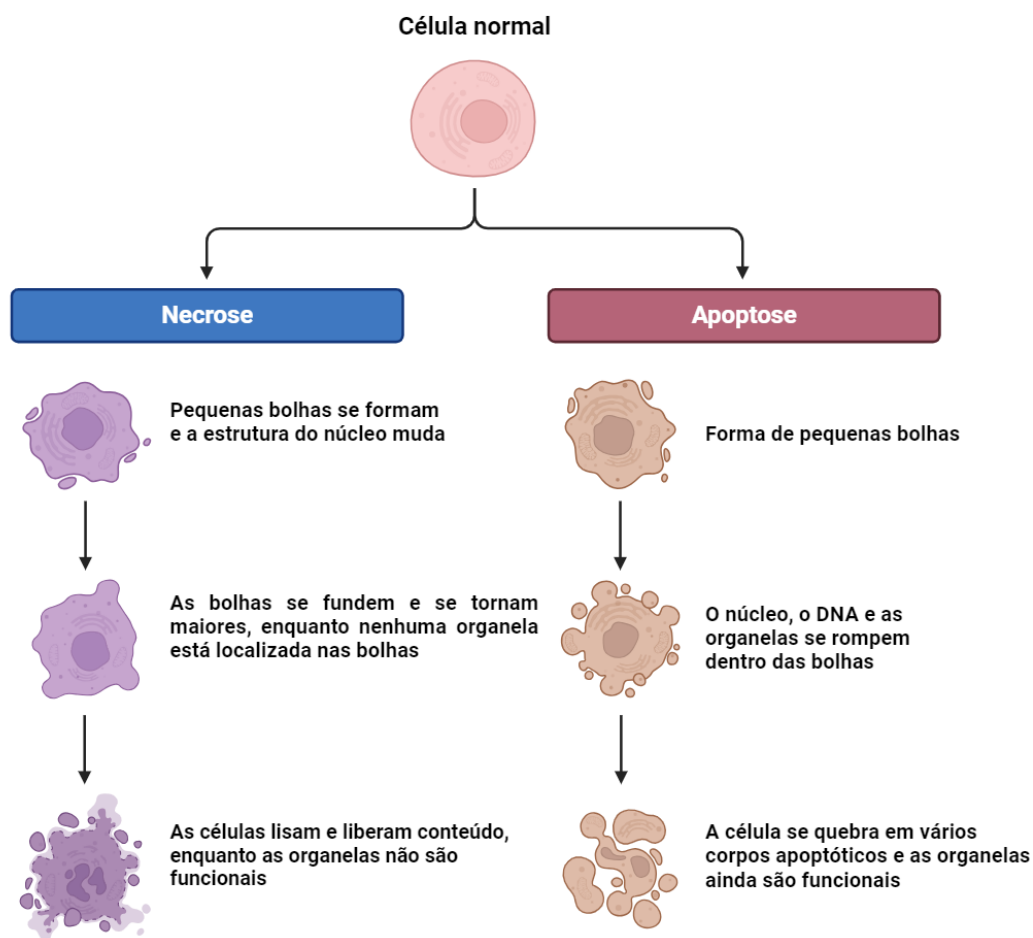
O desenvolvimento de dispositivos UV-C vem crescendo no mercado tecnológico devido ao impacto da pandemia COVID-19, e a necessidade de protocolos de desinfecção rápidos e eficazes de superfícies e ambientes para reduzir a propagação de vírus (Nocolau *et al.*, 2022).

De maneira concomitante ao crescimento de estudos científicos sobre a utilização da luz UV-C, em especial no comprimento de onda de 254 nm, vários estudos investigando seus efeitos em células animais e o mecanismo de ação germicida foram realizados. O efeito germicida deve-se a espectro capaz de causar danos ao material genético de vírus, fungos e bactérias (Potappovich *et al.*, 2023).

2.3 Efeitos da radiação UV-C em células e tecidos animais

De maneira semelhante aos efeitos provocados em microrganismos, à radiação UV-C tem sido descrita por promover danos ao DNA de células animais, devido a formação de espécies reativas, ativando vias intracelulares que resultam em danos nas membranas fosfolipídicas, comprometem a integridade de proteínas e estimula os receptores de superfície celular que desencadeiam danos celulares, como lesões no DNA, morte celular e a produção de espécies reativas de oxigênio (Pfeifer, 2020) (Figura 2).

Figura 2 – Esquema representativo de morte celular e necrose



Fonte: Esquema representativo dos principais mecanismos de apoptose e necrose Autor, 2023.

A apoptose e a necrose representam dois modos fundamentais de morte celular, a apoptose é caracterizada pela ativação de endonucleases, resultando em quebras internucleossômicas de cromatina de fita dupla (DNA), por outro lado, o mecanismo central da necrose está associado ao dano à membrana celular (Mortezaee *et al.*, 2019).

A apoptose, ou morte celular programada, é um processo essencial caracterizado por características morfológicas distintas e mecanismos bioquímicos dependentes de energia, o mecanismo envolve várias etapas e pode desencadear a partir de diferentes vias, as principais vias de apoptose são a via extrínseca e a via intrínseca (Hassan *et al.*, 2014). Na via extrínseca, a sinalização externa, como a ligação de fatores de crescimento a receptores de morte, como os receptores do tipo Fas (FasR), desencadeia a ativação do receptor de morte, isso, por sua vez, ativa caspases iniciadoras, como a caspase-8 ou caspase-10, essas caspases, por sua vez, ativam caspases efetoras, como a caspase-3, caspase-6 e caspase-7, levando à

ativação de enzimas que desmantelam a célula. Isso resulta na fragmentação do DNA, alterações morfológicas e na formação de corpos apoptóticos (Mortezaee et al., 2019).

Na via intrínseca, estresses internos, como danos ao DNA, sinais de envelhecimento celular ou falta de fatores de sobrevivência, desencadeiam o processo (Elmore, 2007).

As mitocôndrias liberam citocromos para o citosol, onde o citocromo C e outras moléculas formam o apoptossomo, este complexo ativa caspases, especialmente a caspase-9 e assim, o apoptossomo, então, ativa caspases efetoras, desencadeando a execução do apoptose. Essas vias são altamente integradas e reguladas, garantindo uma resposta coordenada e equilibrada à necessidade de eliminação celular programada (Bertheloot et al., 2021).

A necrose é um tipo de morte celular não programada que geralmente resulta de danos agudos e irreversíveis às células, ao contrário do apoptose, a necrose não é um processo altamente regulado, e ocorre em resposta a lesões graves (Elmore, 2007). A necrose é frequentemente desencadeada por estímulos externos agressivos, como lesões físicas, substâncias tóxicas, infecções, isquemia ou hipóxia, inchaço celular, liberação de componentes celulares, incluindo enzimas e substâncias tóxicas no ambiente extracelular, desencadeando uma resposta inflamatória (Bertheloot et al., 2021).

Sabe-se que a exposição de células humanas à UV-C pode causar danos em decorrência da formação de espécies reativas, como radicais superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila, que reage com lipídios de membrana celular, proteínas e DNA nucleico, provocando danos celulares irreversíveis e consequente morte celular (Pfeifer, 2020; Chang et al., 2021).

No entanto, dada a importância deste tipo de radiação, a implementação e o manuseio seguro da tecnologia UV-C requer medidas rigorosas de segurança e protocolos de utilização para minimizar quaisquer riscos potenciais associados à exposição (Weller et al., 2021), sendo necessários mais estudos para o entendimento dos efeitos celulares e de barreiras de proteção.

2.4 Efeitos da radiação em células da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano e desempenha um papel vital na proteção e na interação do organismo com o ambiente. Constituída por duas camadas

principais, epiderme e derme, possui ainda um tecido adjacente de suporte mecânico e funcional, a hipoderme (Figura 3) (Lopez-Ojeda *et al.*, 2023).

Figura 3 - Histologia da pele

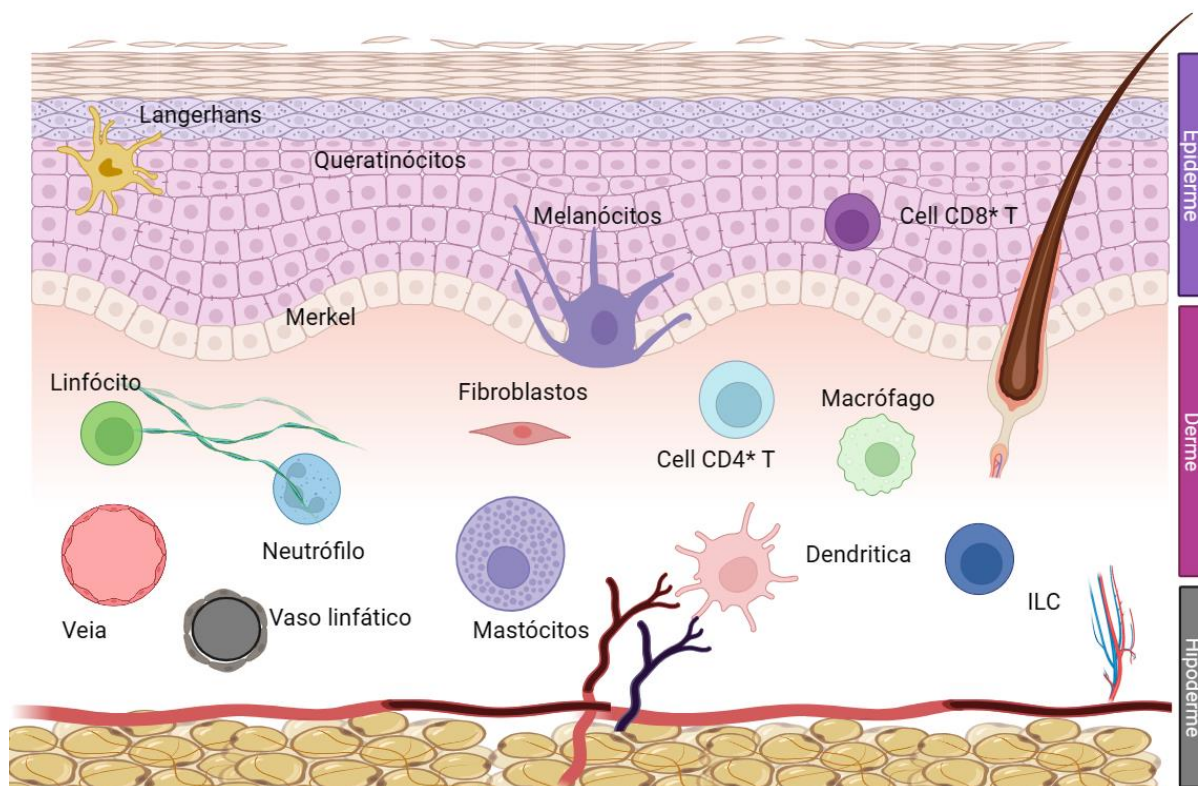


Imagem ilustrativa dos componentes da pele, a qual é constituída por duas camadas de tecidos distintos: a epiderme, um tecido epitelial pavimentoso estratificado, a derme, um tecido conjuntivo propriamente dito. Este órgão repousa sob uma camada de tecido subcutâneo de espessura variável nos organismos, a hipoderme. Fonte: Adaptado, Yousef; Alhajj; Sharma, 2023.

Diferentes tipos celulares distribuem-se nas duas camadas, desde células epiteliais, melanócitos, células de Merkel e células de Langerhans na epiderme, a células imunes como linfócitos, macrófagos, mastócitos e fibroblastos na derme (Nguyen; Soulika, 2019). A organização dessas células em cada camada confere a sua identidade funcional, como a epiderme, camada mais externa da pele que funciona como uma barreira protetora contra agentes patogênicos e fatores ambientais, e logo abaixo a epiderme, na derme, além de encontrar os anexos, como glândulas sudoríparas e sebáceas, folículos pilosos, nervos e vasos sanguíneos, encontra-se uma extensa malha de matriz extracelular (MEC), que confere sustentação deste tecido (Dodia; Arida, 2023).

A derme é essencialmente composta por moléculas de MEC, sendo abundante a presença de fibras colágenas e elásticas, conferindo à pele resistência e flexibilidade

(Dodia; Arida, 2023). Tal MEC é produzida principalmente por fibroblastos, e destaca-se como um dos componentes primordiais associados à resistência mecânica da derme, predominantemente, o colágeno tipo I, representando de 80% a 90% do peso seco da pele (Huang *et al.*, 2021).

Adicionalmente, a pele é fundamental na imunidade inata, atuando como a primeira barreira de defesa do corpo contra uma ampla gama de patógenos (Coates *et al.*, 2018). Funciona como uma barreira física, química e microbiológica, impedindo a entrada desses agentes indesejados (Huang *et al.*, 2021). Nesse contexto, ela é responsável pela preservação de componentes essenciais, como a água, e protege o organismo contra vários elementos nocivos, incluindo produtos químicos, radiação UV e excesso de calor (Dodia; Arida, 2023).

No entanto, a exposição excessiva aos raios UV pode desencadear uma série de danos à pele, especialmente os do tipo UV-C, potencialmente nocivos quando a pele é exposta a eles (Mariné-Casadó *et al.*, 2023). Estudos prévios demonstraram que a radiação UV-C de 222 nm em uma linhagem de queratinócitos humanos (HaCaT) foi capaz de diminuir a viabilidade e causar morte celular, bem como aumentar as espécies reativas de oxigênio após irradiação UV-C (Wang *et al.*, 2015).

Além disso, em estudos com células epiteliais da córnea humana foi visto que a radiação UV-C causa modificação na morfologia celular, perda de potássio e ativação de vias apoptóticas Erk, JNK, p38 e do fator nuclear kappa-b (NFκB) (Weaver *et al.*, 2021).

A exposição à radiação pode ter um impacto significativo também nos fibroblastos, causando danos diretos ao DNA, levando a mutações e quebras nas cadeias de DNA, que pode resultar em uma resposta de reparo celular ou, em casos mais extremos, na morte celular, e também pode induzir estresse oxidativo aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Wang *et al.*, 2019). Tais alterações influenciam diretamente na função, viabilidade e na capacidade de reparação tecidual promovida pelos fibroblastos (Zhang *et al.*, 2023).

Em conjunto, a exposição aos raios ultravioleta, especialmente UV-C, pode afetar não apenas a camada superficial da pele, mas também causar danos às células e componentes essenciais, comprometendo a integridade e a saúde geral da pele (Gromkowska-Kępa *et al.*, 2021).

Assim, inúmeras pesquisas têm sido conduzidas para melhor entender os efeitos da radiação sobre os fibroblastos e desenvolver estratégias para minimizar os

danos (Zubiaurre; Hellevik, 2023). Isso inclui o desenvolvimento de compostos antioxidantes para mitigar o estresse oxidativo, terapias genéticas para melhorar a reparação do DNA e abordagens que visam modular a resposta inflamatória para prevenir danos após a exposição à radiação, bem como a utilização de barreiras físicas (Zhang *et al.*, 2023).

Apesar da eficiência na eliminação de patógenos, a exposição acidental à radiação UV-C pode representar um risco à saúde humana, pois a pele exposta diretamente a essa radiação pode sofrer danos significativos (Jain, 2021). Assim, esses dispositivos podem causar possíveis danos às células do nosso corpo como dano ao DNA, levando a mutações genéticas é possível disfunção celular, lesões na pele e nos olhos e supressão do sistema, comprometendo a capacidade do corpo de combater infecções (Maillard; Pascoe, 2023; Pereira *et al.*, 2023).

Estudos prévios já reportaram o potencial lesivo da exposição prolongada ou repetida aos raios UV-C, resultando em danos à pele, como queimaduras solares severas, danos oculares, supressão do sistema imunológico e até mesmo contribuir para o desenvolvimento de condições como o câncer de pele (Ciążyńska *et al.*, 2021). Além disso, a exposição a níveis aumentados de raios UV-C pode ter impactos negativos em ecossistemas sensíveis, afetando a vida marinha, as plantas e outros organismos terrestres (Sliney; Stuck *et al.*, 2021).

Foi descrito na literatura que há formação de lesões de DNA causando mutações e morte celular, além da progressão do câncer de pele quando a exposição é mais prolongada (Pfeifer, 2020). Adicionalmente, já foi relatado que a exposição a UV-C pode produzir uma série de moléculas reativas, como radicais superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila (Chang *et al.*, 2021).

Desta forma, a implementação e operação segura da tecnologia UV-C requer medidas rigorosas de segurança e protocolos de utilização para minimizar quaisquer riscos potenciais associados à exposição (Weller *et al.*, 2021). Explorar esses métodos de desinfecção é fundamental para compreender, não apenas a eficácia na erradicação de patógenos hospitalares, mas também a necessidade de precauções estritas para proteger os indivíduos envolvidos no manuseio dessas tecnologias (Jain, 2021).

É crucial conduzir pesquisas detalhadas para compreender melhor os efeitos da exposição aos raios UV-C nas células do corpo humano. Isso envolve avaliar não apenas os efeitos imediatos da exposição, mas também os potenciais impactos a

longo prazo na saúde humana (O'Mahoney *et al.*, 2020). A investigação contínua dos efeitos da radiação UV-C nas células humanas ajudará a estabelecer diretrizes e regulamentações que garantam sua utilização segura e eficaz, preservando a saúde enquanto se combate a propagação de doenças infecciosas (Valério *et al.*, 2021).

2.5 Uso de barreira física de proteção contra radiação

A segurança biológica desempenha um papel crucial na prevenção e no controle das infecções hospitalares (Zhou *et al.*, 2019). Ela consiste em um conjunto de medidas e de protocolos essenciais que visam garantir a segurança tanto dos pacientes quanto dos profissionais de saúde e demais colaboradores nos ambientes de assistência médica (Haque *et al.*, 2020). No contexto hospitalar, a incidência de infecções associadas à prestação de cuidados à saúde representa um desafio significativo, podendo comprometer a qualidade do atendimento e a segurança dos pacientes, em especial aos imunocomprometidos (Rafa *et al.*, 2021).

Contudo, a implementação de estratégias para reduzir a propagação de agentes patogênicos nos hospitais, prevenindo a ocorrência de infecções cruzadas, surtos e complicações adicionais durante a assistência médica tornou-se essencial (Zhou *et al.*, 2019). Essas medidas abrangem desde práticas básicas de higiene, como a lavagem das mãos e a desinfecção de superfícies, até a gestão adequada dos resíduos hospitalares, o uso correto de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) e a aplicação de protocolos específicos para diferentes procedimentos médicos (Tabish; Basch, 2020).

Os EPIs são empregados para garantir a segurança dos profissionais envolvidos. Estes equipamentos podem ser selecionados para minimizar a exposição à agentes nocivos, protegendo a pele, mucosas e os olhos (Scott; Joshi; McGinn, 2019). Dentre eles, destacam-se o uso de jalecos, luvas, toucas e máscaras, com diferentes tipos de materiais usados na sua confecção (Scott; Joshi; McGinn, 2019). O uso de máscaras e luvas cresceu significativamente nos últimos 4 anos com a emergência da COVID-19, em especial, o uso das máscaras de alta proteção como a PFF-s comumente confeccionadas com polipropileno e luvas, em especial as de maior espessura e de látex usadas na confecção de luvas de borracha para uso em limpeza (Mikac *et al.*, 2023).

No entanto, não foram encontrados estudos que avaliem o efeito da barreira

física protetora de materiais usados na confecção de EPIs frente a proteção de linhagem de fibroblastos FGH, bem como os efeitos diretos da radiação sobre essas células. Desta forma, os efeitos da radiação UV-C no comprimento de onda de 254 nm sobre as células FGH e a utilização de látex e polipropileno, componentes de luvas e máscaras PFF-2, respectivamente, como barreira de proteção para as células FGH expostas à radiação UV-C (254 nm) foram investigados neste trabalho.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

No presente estudo, buscou-se investigar o efeito da radiação UV-C de 254 nm emitida por uma luminária portátil de baixo custo e avaliar o efeito protetor utilizando barreiras físicas em linhagem de fibroblastos de mucosa oral humana.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito após a exposição à radiação UV-C sobre a viabilidade de fibroblastos humanos;
- Avaliar o efeito após a exposição à radiação UV-C sobre a morfologia de fibroblastos humanos;
- Avaliar o efeito sobre a indução de morte celular após a exposição à radiação UV-C em fibroblastos humanos;
- Investigar o efeito protetor da barreira física a base de látex e polipropileno após a exposição à radiação UV-C em fibroblastos humanos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes e soluções

Tampão Fosfato Salina (PBS), ([brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio) (MTT), L-glutamina, corante azul de Tripán, Iodeto de propídeo e penicilina/estreptomicina foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, MO, USA). O metanol e o corante cristal violeta foram adquiridos da Dinâmica, Brasil. O meio de cultura celular (DMEM) e o soro bovino fetal (SBF) foram adquiridos da Gibco (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). O dimetilsulfóxido (DMSO) foi obtido da Synth e o álcool etílico do fabricante NEON.

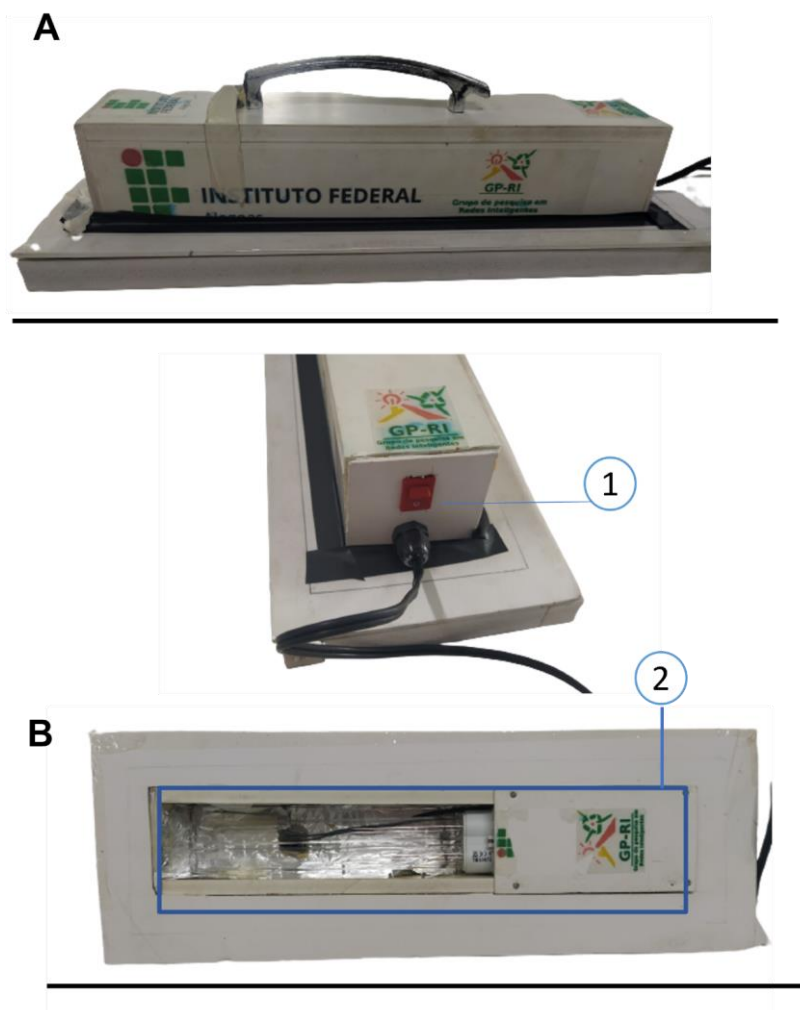
4.2 Cultura Celular

A linhagem celular de fibroblasto de mucosa oral humana (FGH) foi obtida do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), e cultivadas em meio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) suplementado com 4 mM L-glutamina, 4.5 g/L glicose, 10 μ g/mL de antibiótico (penicilina/estreptomicina - 0,02%) e adicionado de 15% de Soro fetal bovino (SBF), em estufa com atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂ a 37 °C. As células foram subcultivadas quando sua confluência atingiu 80% e os grupos foram divididos em controle não exposto (DMEM) e exposto à radiação (UV-C).

4.3 Protocolo de exposição à radiação de banda UV-C

Para emissão da radiação de banda C foi utilizada uma luminária portátil de baixo custo (Direct-UV-C) confeccionada a partir de materiais recicláveis e sustentáveis confeccionada por pesquisadores do Departamento de Robótica do Instituto Federal de Alagoas, previamente patenteada (Figura 4).

Figura 4 – Representação esquemática da luminária UVC



(A) Luminária UV-C. **(B)** 1- Botão liga/desliga-220V e Saída de radiação UVC 10s-36 mJ/cm², 254 nm. Fonte: Autor, 2023.

Para a confecção do dispositivo foram utilizadas duas lâmpadas de comprimento de onda de 254 nm com potência de 18W e 13 mJ/cm² durante a exposição. Para a exposição, seguiu inicialmente mantendo o dispositivo Direct-UV-C ligado por 1 minuto e 50 segundos para que a potência inicial da lamparina (9 mJ/cm²) alcance sua potência máxima (13 mJ/cm²), desligada por 15 segundos e novamente ligada já na potência máxima para exposição das células. Após o período de aquecimento da lâmpada, as células incubadas em placas de cultivo celular depois de um período de overnight, após a adesão, são retiradas o meio de cultura e a tampa, após isso a placa com as células posicionadas a uma distância de 2 cm da lâmpada, para então serem expostas por 10 ou 300 segundos à radiação. O tempo de 10 e 300segundos foram padronizados por colaboradores em outro trabalho utilizando está

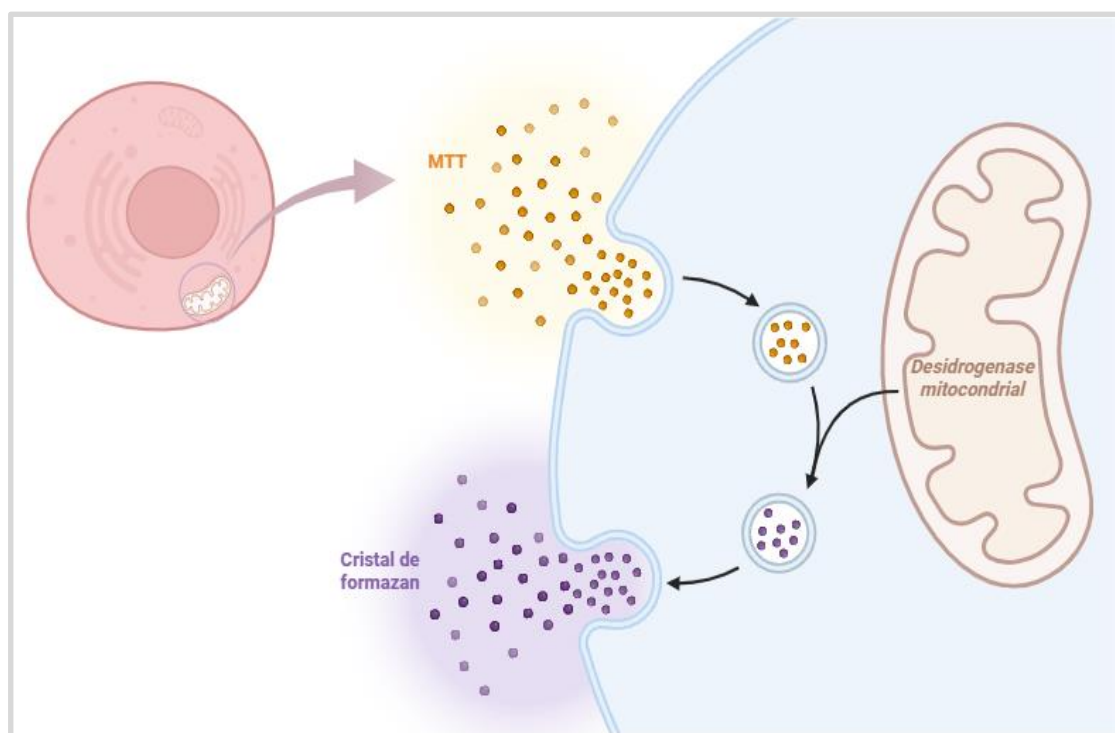
luminária.

O tempo de 300s, foram utilizadas barreiras físicas de proteção com materiais usados para a confecção de equipamentos de proteção individual (Polipropileno e material de borracha natural- látex) (Figura 5). Inicialmente, todo o meio de cultura foi retirado para exposição das células, e posteriormente adicionado um novo meio de cultura. Além disso, os materiais de polipropileno e a borracha eram esterilizados para serem implementados acima da placa.

4.4 Ensaio de Viabilidade Celular

Para avaliar o efeito da exposição UV-C sobre a viabilidade de uma linhagem de fibroblastos humanos (FGH) foi utilizado o ensaio colorimétrico usando uma solução de brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio (MTT) (Mosmann, 1983). Este ensaio tem como finalidade mensurar a viabilidade celular de forma indireta, através da atividade mitocondrial das células viáveis pela conversão do sal MTT em cristais de formazan por desidrogenases mitocondriais (Figura 6).

Figura 5 - Representação esquemática do ensaio de viabilidade celular MTT.

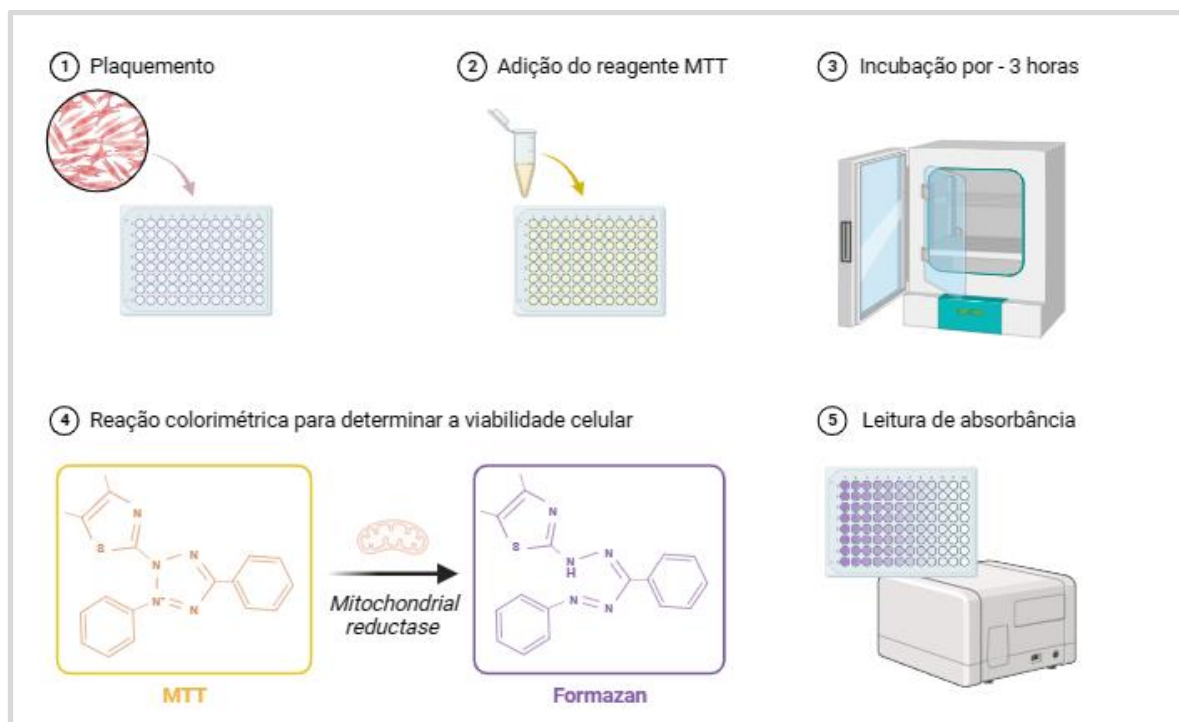


Esquema representativo do ensaio calorimétrico brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5 difeniltetrazólio).
Fonte: Autor, 2023.

Os fibroblastos (6×10^3 em 0,2 mL de célula/poço) foram semeados em meio DMEM suplementado com 5% de SBF, 4 mM L-glutamina, 100 mM de piruvato de sódio e 4.5 g/L glicose e 0,02% de antibiótico penicilina/estreptomicina, em microplacas de 96 poços e mantidas overnight em estufa com atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂ a 37 °C para adesão celular. Após o período de incubação o meio de cultura foi removido e as células foram irradiadas com a lâmpada UV-C (254 nm, 18 W, 13 mJ/cm²) por 10 segundos. Após a exposição, foi adicionado um novo meio de cultura suplementado nas mesmas condições e as células mantidas em estufa por 1, 6, 24 ou 72 horas. Após os tempos de incubação, foi adicionado 23 µL/poço do sal MTT (5 mg/mL) por 3 horas. O sobrenadante foi removido para adição de 150 µL/poço de dimetilsulfóxido (DMSO, P.A.) para a solubilização dos cristais de formazan. Os valores de absorbância de cada poço foram medidos em espectrofotômetro de microplaca a 540 nm. A porcentagem de células viáveis foi calculada a partir da seguinte fórmula:

$$(\%) \text{ Viabilidade celular} = \frac{(\text{Densidade óptica das células irradiadas}) \times 100}{(\text{Densidade óptica das células não irradiadas})}$$

Figura 6 - Esquema de exposição à radiação UV-C a partir do ensaio de MTT



Esquema representativo do ensaio colorimétrico brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazólio após exposição à radiação UV-C. Fonte: Autor, 2023.

4.5 Análise da morfologia celular

A morfologia das células foi avaliada por microscopia óptica após a coloração com cristal violeta. As células foram semeadas em placas de 96 poços com meio DMEM suplementado nas condições descritas anteriormente, a uma densidade de 6×10^3 / poço células por poço. Após o período de incubação o meio de cultura foi removido dos poços e lavados com 200 μ L PBS, em seguida foram fixadas com 100 μ L de metanol por 10 minutos e coradas com 100 μ L de cristal violeta (2%) por 2 minutos. Após esse tempo, as células foram lavadas com 200 μ L PBS e fotografadas no microscópio óptico em aumento de 400x para posterior análise da morfologia celular (Rejón *et al.*, 2022).

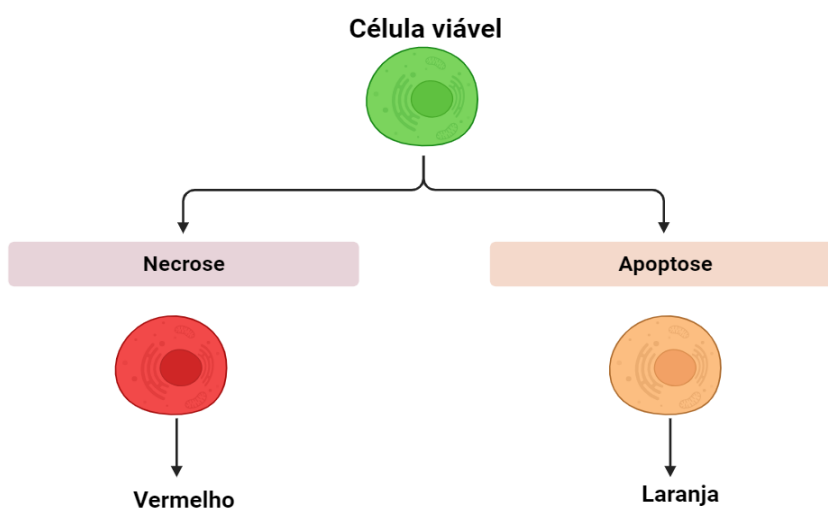
4.6 Ensaio de morte celular usando a dupla marcação de laranja de acridina e iodeto de propídio

As células foram quantificadas quanto ao perfil de morte celular (Figura 7) usando dupla marcação com solução contendo laranja de acridina (5 μ g/mL) e iodeto

de propídio (5 ug/mL) (LA/IP). As células foram semeadas (3×10^4 de célula/poço) em meio DMEM suplementado em placas de 24 poços contendo lamínulas de vidro. Após período de incubação, o meio foi removido e os poços lavados com 200 µL de PBS, e posteriormente marcados com 300 µL de solução na proporção de 1:1 LA/PI por 2 min protegido da luz. Em seguida, as lamínulas foram montadas em lâmina de vidro e observadas sob um microscópio de fluorescência com excitação azul (480 nm) e filtro de barreira (515-530 nm) com aumento de 100x. A quantificação das células foi realizada em 5 campos aleatórios de cada lamínula. O cálculo da frequência das células viáveis, apoptóticas e necróticas utilizando a seguinte fórmula:

$$(\%) = \frac{\text{Células viáveis} \times 100}{\text{Células não viáveis}}$$

Figura 7 - Representação esquemática da marcação dupla com laranja de acridina e iodeto de propídio.



Esquema representativo da marcação dupla com laranja de acridina e iodeto de propídio, mostrando o processo de diferenciar células viáveis das em processo de morte por apoptose ou necrose, é possível observar que as células marcadas em vermelho estão em necrose e em laranja em apoptose. Fonte: Autor, 2023.

4.7 Efeito da utilização de barreiras protetoras sobre a placa de cultivo celular

Seguindo o mesmo protocolo de cultivo celular e exposição à radiação, foram

utilizados fragmentos de 2 equipamentos de proteção individual bastante utilizados no dia-a-dia de profissionais de saúde: a máscara de proteção individual N95 classe-PFF2 (Suprema, AIR) e luvas látex (amarela, Standardo). A composição dos materiais polipropileno e borracha natural, respectivamente, foi testada frente a sua capacidade de proteger as células da radiação devido a formação de uma barreira protetora, frente a viabilidade, morfologia e morte celular após 300 segundos de exposição.

4.8 Análises estatísticas

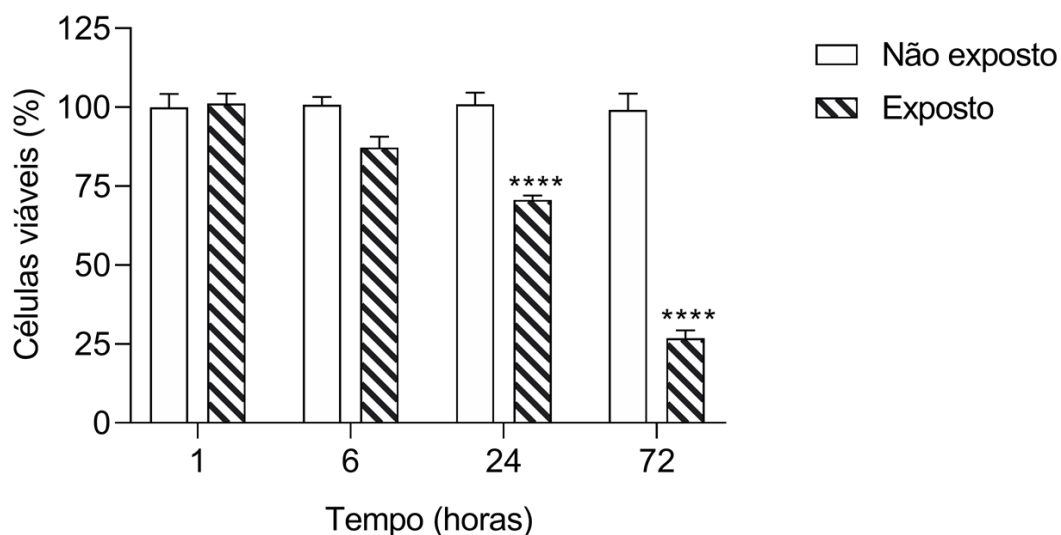
Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM), e analisados estatisticamente com a análise de variância (ANOVA) e pós-teste Bonferroni ou Newman-Keuls. Os dados foram analisados com auxílio do programa GraphPad Prism® versão 8.0 (GraphPad Software Inc, San Diego CA, EUA) e os resultados foram adotados significativos quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Efeito da radiação UV-C sobre a viabilidade e morfologia celular

A exposição das células por 10 segundos à radiação UV-C e avaliadas nos tempos de 1 hora e 6 horas após a exposição não foi capaz de afetar o perfil da viabilidade dos fibroblastos de forma significativa quando comparado ao grupo de células sem exposição (grupo controle - não exposto). Por outro lado, 24 horas após a exposição observou-se uma redução de 24% na viabilidade celular, aumentada para 70% no tempo de análise de 72 horas após a exposição (Figura 8).

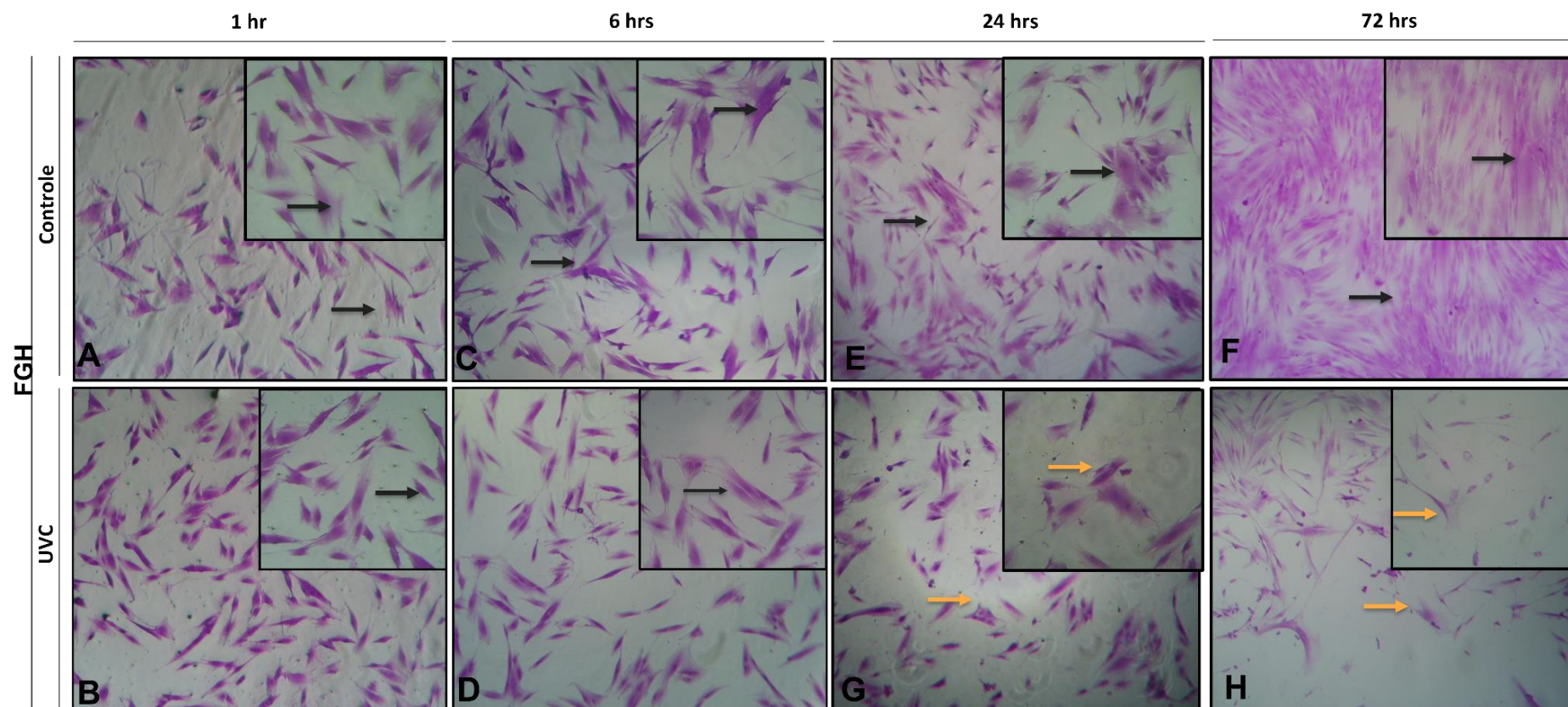
Figura 8 – Efeito da radiação UV-C sobre a viabilidade celular.



O ensaio de viabilidade celular de fibroblasto após a exposição a uma luminária portátil com radiação UV-C pelo ensaio de MTT. O gráfico representa a porcentagem de células viáveis nos diferentes tempos. Os dados foram expressos como $M \pm EPM$, e os dados foram analisados estatisticamente usando o ANOVA-two way e seguido do pós-teste de Bonferoni., com o software GraphPadPrism versão 8.0. *** $p < 0.001$ e $p < 0,0001$ em relação ao grupo de células não expostas.

No intuito de observar as alterações celulares sofridas pelas células após a exposição, analisou-se a morfologia das células coradas com cristal violeta do grupo controle (células não expostas) em comparação ao grupo exposto à radiação UV-C. Foi visto que a radiação induziu diminuição na densidade celular, condensação da cromatina e fragmentação nuclear, alterações na morfologia das células sugestivas que ocorrem no processo de apoptose e necrose celular, observadas nos grupos 24 e 72 horas após a exposição (Figura 9).

Figura 9 – Análise da radiação UV-C sobre a morfologia de fibroblastos de mucosa oral.

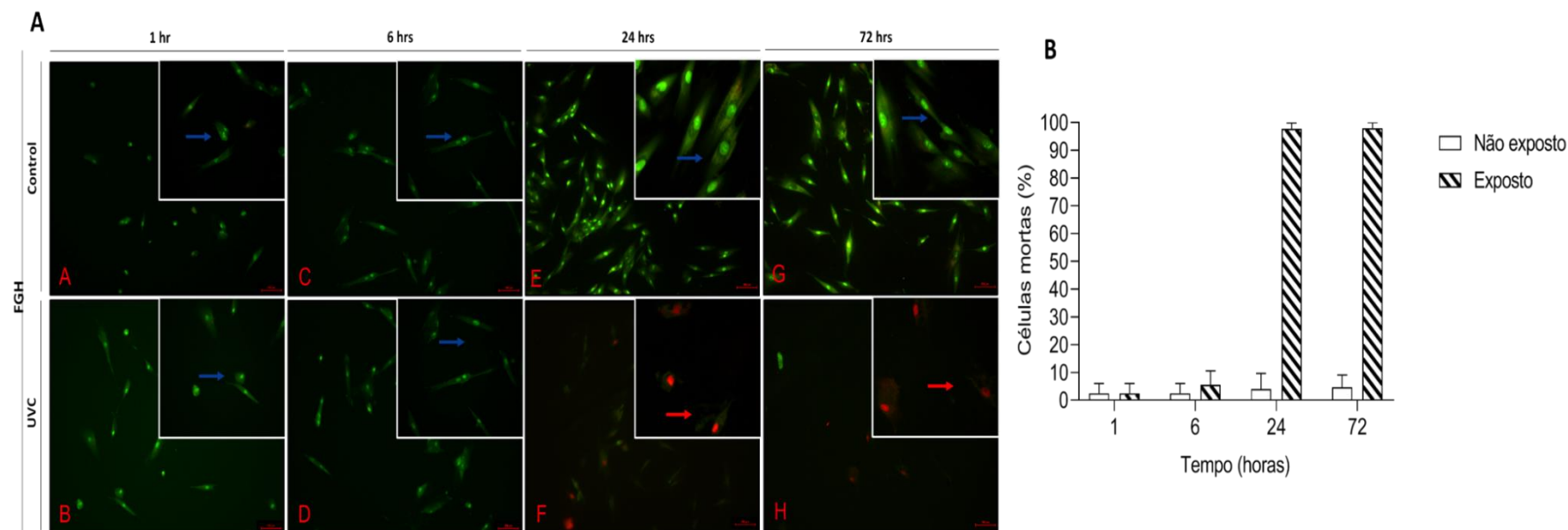


Análise morfológica das células coradas com cristal violeta em fibroblastos. O grupo de células não exposto e os grupos de 1 a 6 horas de exposição (A-D) mostram densidade celular regular (seta preta) características deste tipo celular, indicando morfologia nuclear íntegra, célula fusiforme, núcleo normal (seta preta) assim como, no grupo exposto e analisados nos tempos de 1 ou 6 horas. Nos tempos de 24 e 72 horas, os poços do grupo exposto (E-H) é possível observar diminuição na densidade celular e fragmentação nuclear (seta amarela) após a exposição à radiação UV-C. Os dados foram expressos como $M \pm EPM$, e os dados foram analisados estatisticamente usando o ANOVA-two way e seguido do pós-teste de Bonferroni com o software GraphPadPrism versão 8.0. *** $p < 0.001$ e $p < 0,0001$ em relação ao grupo de células não expostas.

5.2 Efeito da radiação UV-C sobre a apoptose celular

A dupla marcação com laranja de acridina e iodeto de propídio (LA/IP) mostrou alteração na morfologia da célula dos grupos expostos à radiação nos tempos de 24 e 72 horas de análise (Figura 10). Foi observado que nas células não expostas há uma maior presença de células com membrana intacta e núcleo uniformemente corado de verde pela marcação com LA. As células expostas à radiação UV-C, apresentaram células não viáveis, cujas alterações morfológicas nucleares e citoplasmáticas foram visíveis, com células coradas em vermelho alaranjado, representando um dano à membrana plasmática, característica da perda da integridade da membrana. A marcação com iodeto de propídio cora os ácidos nucleicos pela ligação ao DNA, emitindo uma coloração vermelha (Figura 10).

Figura 10 - Avaliação do processo de morte celular com a marcação dupla de laranja de acridina e iodeto de propídio e iodeto de propídio



Em (A) Painel de morte celular a partir da técnica de imunofluorescência, com microfotografias no aumento de 100x, com a marcação dupla de laranja de acridina e iodeto de propídio (LA/IP). As células marcadas em verde com laranja de acridina são indicativas de células viáveis com membrana intacta apresentam núcleo uniformemente corado de verde (Seta azul, A-D), coloração com iodeto de propídio indicando alterações na morfologia nuclear. Morfologia de células não viáveis (seta vermelha, E-H)

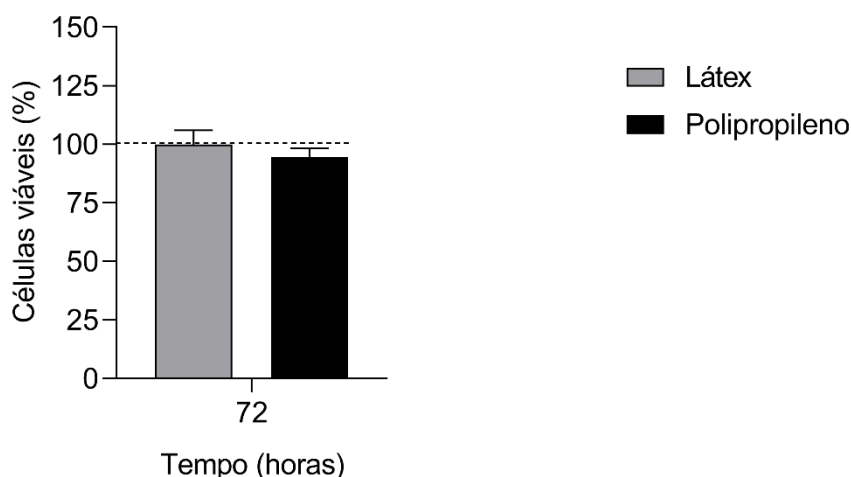
Em (B) quantificação das células viáveis. Os dados foram expressos como $M \pm EPM$, e os dados foram analisados estatisticamente usando o ANOVA-two way e seguido do pós-teste de Bonferoni.com o software GraphPadPrism versão 8.0. *** $p < 0.001$ em relação ao grupo de células não expostas.

Para quantificar a intensidade de marcação positiva com laranja de acridina, as imagens obtidas em microscópio de fluorescência foram analisadas e as células contadas. Como observado na figura 11, observa-se uma quantidade elevada de células marcadas, representando 95 e 97% nos grupos de células expostas 24 e 72 horas de exposição quando comparadas às células não expostas no mesmo tempo de avaliação, respectivamente. Os grupos de células expostas à radiação e analisadas 1 ou 6 horas após, não apresentaram aumento no número de células marcadas quando comparadas aos grupos de células não expostas no mesmo período analisado (Figura 11).

5.3 Efeito de materiais usados na confecção de EPIs como barreira de proteção às células expostas a radiação UV-C

Observou-se que as células expostas a 10 segundos de radiação UV-C (254 nm, 18 W, 13 mJ/cm²) e analisadas 72 horas após a exposição, apresentaram uma redução da viabilidade celular de 85% quando comparadas ao grupo de células não expostas representado pela linha tracejada em 300 segundos após a exposição. No entanto, quando foram adicionados os materiais de látex e de polipropileno, observou-se uma viabilidade de 25% e 35% quando comparado ao grupo de células não expostas, respectivamente em 300 segundos ao comparar com o grupo de células em 10 segundos. Mostrando um aumento na viabilidade de 60 e 50% nos grupos expostos com a barreira de látex e polipropileno quando comparado ao grupo exposto sem barreira, respectivamente (Figura 11).

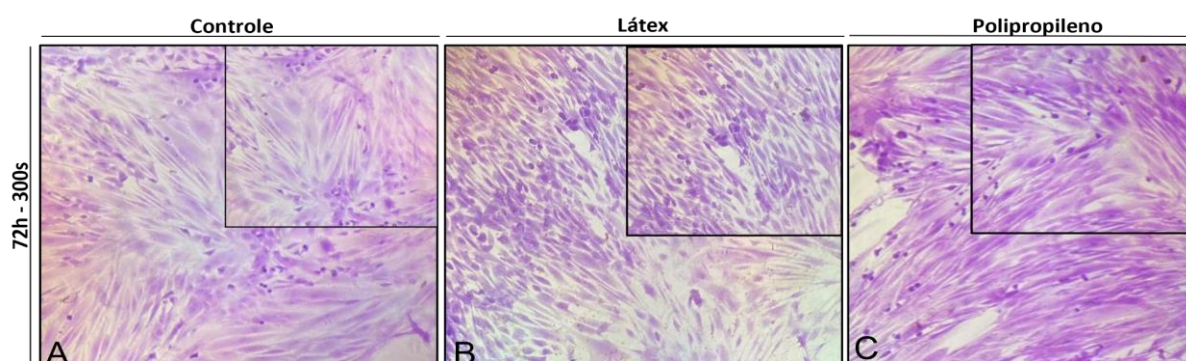
Figura 11– Efeito da radiação UV-C sobre a viabilidade com material de EPIs.



O ensaio de viabilidade celular de fibroblasto após a exposição a uma luminária portátil com radiação UV-C em 300 segundos pelo ensaio de MTT. O gráfico representa a porcentagem de células viáveis nos diferentes grupos experimentais realizados em fibroblastos. Os dados foram expressos como $M \pm EPM$, e os dados foram analisados estatisticamente usando o ANOVA-One way, com o software GraphPadPrism versão 8.0. $***p < 0.001$ em relação ao grupo de células não expostas.

Para avaliação da morfologia celular, conforme demonstrado na figura 12, os fibroblastos corados com cristal violeta do grupo controle foram observados que as expostas à radiação usando barreiras de proteção, não apresentaram alterações celulares significativas quando comparado ao grupo de células não expostas.

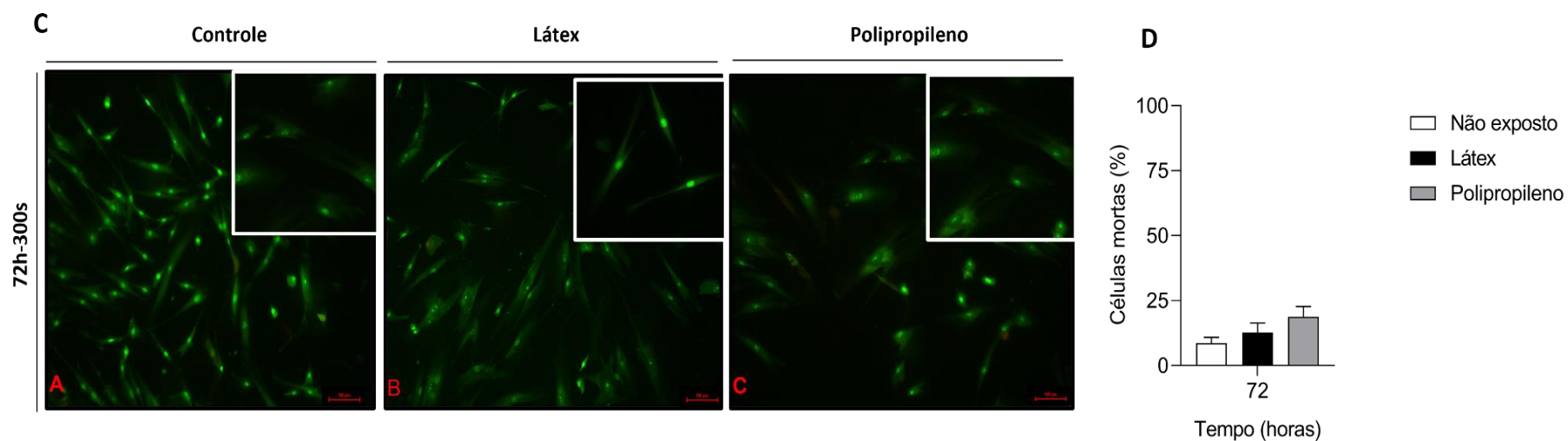
Figura 12– Análise da radiação UV-C sobre a morfologia com EPIs



Análise morfológica das células coradas com cristal violeta em fibroblastos. O grupo de células Não exposto (A) mostram densidade celular regular, características deste tipo celular, indicando morfologia nuclear íntegra, células fusiforme e núcleo normal assim como, no grupo exposto com látex e polipropileno (B-C) analisados nos tempo de 72 horas expostos por 300s.

O perfil de morte celular em células expostas à radiação UV-C com o uso de barreira física a base de látex e polipropileno foi avaliado usando a técnica de imunofluorescência com marcação dupla com laranja de acridina e iodeto de propídeo (LA/IP). Foi observado no grupo de células expostas à radiação e sem barreira um elevado número de células marcadas com laranja de acridina em vermelho-alaranjado quando visto anteriormente com 10 segundos, sendo indicativo de células não viáveis em comparação ao grupo não exposto. Já nas células dos grupos com barreira de látex e polipropileno, houve um menor número de células marcadas, 20 e 25% respectivamente (Figura 13) quando comparado ao grupo de células expostas sem barreira.

Figura 13– Avaliação do processo de morte celular em células expostas à radiação UV-C com uso de barreiras físicas sobre as células.



Em (A) painel de morte celular a partir da técnica de imunofluorescência com a marcação dupla de laranja de acridina e iodeto de propídeo (LA/IP) no aumento de 100x. Célula marcada em verde com laranja de acridina (A-C). Em (B) quantificação das células viáveis. Os dados foram expressos como $M \pm EPM$, e os dados foram analisados estatisticamente usando o ANOVA-One Way com o software GraphPadPrism versão 8.0.

6 DISCUSSÃO

A radiação ultravioleta de banda C tem sido estudada há quase um século, com estudos relevantes na década de 1950 mostrando seus efeitos sobre a pele e células do sangue, como efeitos em célula dendríticas, linfócitos e neutrófilos (Hamblin, 2017).

Desde então, estudos comparativos com outros tipos de radiação UV, como A e B, em diferentes comprimentos de onda têm sido realizados, tanto para investigar efeitos em células e tecidos animais, materiais inorgânicos e aplicações de tais radiações (Izawa *et al.*, 2023).

A aplicação da radiação UV-C tem se demonstrado eficácia para a desinfecção de ar, ambientes e superfícies em diferentes comprimentos de onda do espectro (200 a 280 nm) (Wang *et al.*, 2022). Isso, deve-se ao efeito germicida da radiação UV-C, em especial no comprimento de 254 nm, sendo eficaz em relação a desinfecção e a eliminação de vírus, bactérias e fungos (Chang *et al.*, 2021). O efeito germicida deve-se à capacidade da radiação causar danos ao material genético como lesões mutagênicas e citotóxicas no DNA, como dímeros de pirimidina ciclobutano (CPD) dos microrganismos (Potappovich *et al.*, 2023).

Devido a tal capacidade, uma importante aplicação da luz UV-C em protocolos de desinfecção de ambientes da área de saúde, em especial, hospitais, tendo em vista a ocorrência de infecções hospitalares (Jain, 2021). De acordo com (OMS, 2022), as infecções hospitalares relacionadas à assistência em saúde (IRAS) são consideradas um grave problema de saúde pública com grande relevância epidemiológica por apresentar uma alta taxa de mortalidade em todo o mundo. Por outro lado, estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a luz de 254 nm pode causar danos no DNA de células humanas, e pode induzir câncer de pele após exposições repetidas de longo prazo (Narita *et al.*, 2018).

Os fibroblastos são células fundamentais no tecido conjuntivo do corpo humano e desempenham um papel crucial na manutenção da estrutura, no reparo e na regeneração dos tecidos (Plikus *et al.*, 2021). Nesse sentido, em vista da vasta importância dessas células na pele e mucosas do nosso corpo, o presente trabalho buscou ampliar as informações dos efeitos da radiação UV-C de 254 nm sobre uma linhagem não tumoral de fibroblastos da mucosa oral humana (FGH) e verificar o efeito protetor dos materiais usados na confecção de luva e máscara como barreira protetora à radiação UV-C.

Neste trabalho, investigou-se os efeitos agudos e tardios da exposição à radiação UV-C de 254 nm sobre parâmetros que indicam o estado morfológico da célula, como viabilidade celular por MTT, morfologia e morte celular.

Os dados obtidos neste trabalho demonstraram que as células FGH expostas à radiação UV-C por 10 segundos e analisadas 1 e 6 horas pós-exposição não apresentaram alterações significativas nas técnicas utilizadas neste estudo, de viabilidade celular (Figura 8, p.35), análise morfológica por coloração com cristal de violeta (Figura 9, p. 36) e nem aumento na porcentagem de células marcadas com LA/IP (Figura 10, p. 38) quando comparado ao grupo de células não expostas.

Já ao analisar as células 24 ou 72 horas pós-exposição, observou-se neste trabalho, que a radiação UV-C foi capaz de alterar a viabilidade dos fibroblastos (FGH) de forma significativa (Figura 8, p.35), sendo estes dados corroborados pelas alterações celulares observadas, como redução do número de células viáveis e morte celular (Figura 10, p.38). Esses resultados estão em consonância com os achados de Izawa e colaboradores (2023), onde foi relatado que a radiação UV-C (555 nm) em 4 e 8 minutos após 24 horas de exposição foi capaz de causar redução na viabilidade celular em células de melanoma (COLO679) e fibroblastos dérmicos humanos não tumorais (HDF) (Izawa *et al.*, 2023).

Em relação a morfologia celular, de acordo com resultados obtidos foi possível demonstrar que as células expostas à radiação UV-C foram afetadas de forma significativa 24 e 72 horas, ou seja, em tempos de análise mais tardios pós-exposição (Figura 9, p. 36). Foi observado que a maior parte das células expostas apresentaram morfologia irregular, diminuição na densidade celular e modificação no núcleo, bem como significativa diminuição no número de células na placa, demonstrado pela baixa confluência celular. Enquanto no grupo não exposto as células apresentaram morfologia regular de acordo com as características dos fibroblastos, como células alongadas, fusiformes e com núcleo eucromático oval, e com densidade celular na placa esperada para cada tempo de análise. Esses dados corroboram com estudos demonstrados por Ong e colaboradores (2013) realizados em uma linhagem de queratinócitos expostos à radiação UV-C (277nm e 254 20 ou segundos), onde foi evidenciado que houve uma diminuição na viabilidade e morte nas células (Ong *et al.*, 2022).

Além disso, Moon e colaboradores (2019) também observaram alterações na morfologia de fibroblastos(HDFs) e queratinócitos(HaCat) expostos à radiação UV-C (200 nm, por 3 e 10 segundos) e analisadas 24 horas pós-exposição, onde atribuíram tais efeitos ao tempo e a potência de exposição (Moon *et al.*,2019).

Com base nesses achados, resolveu-se avaliar o efeito da radiação sobre a morte celular da linhagem FGH utilizada neste estudo. A apoptose é um evento celular geneticamente programado, ou seja, um processo fisiológico fundamental em todos os organismos vivos que contribuem para a manutenção da homeostase e regulação de possíveis danos aos animais (Bertheloot *et al.*, 2022). No entanto, esse sistema pode ser sobrecarregado quando um grande número de células morre abruptamente e se acumulam, como durante um processo infeccioso, na inflamação crônica e no dano tecidual (Bock; Reley,2023). A ocorrência de morte celular súbita e desenfreada, induzida ou não, resulta na liberação abundante de conteúdo celular para o espaço extracelular, que são nocivas às células não afetadas pelo processo de morte celular (Bertheloot *et al.*,2022).

Essa abordagem é particularmente importante devido às alterações ao DNA causadas por diversos fatores, como a radiação UV-C, que afetam a integridade do núcleo da célula e, caso não reparado, levam ao comprometimento da função celular, do tecido, do órgão e até do organismo como um todo (Vechtomova *et al.*, 2021). Sabe-se que o DNA, um regulador fundamental em diversos eventos celulares, é uma importante molécula no que diz respeito ao crescimento, morte, migração e diferenciação celular (Tang; Kang; Berghe, 2019). Dessa forma, é importante a análise desses processos quando há indução de algum estímulo sobre as células. Por isso, neste estudo, utilizou-se a técnica de marcação com laranja de acridina/ iodeto de propídio, para observar alterações na marcação das células expostas indicativas da ocorrência de morte celular (Rosenberg *et al.*, 2019).

Os resultados obtidos neste estudo com a técnica de coloração (LA/IP) demonstraram que houve alterações significativas, como danos a membrana das células expostas à radiação 24 e 72 horas pós-exposição, com aumento no percentual de células mortas em processo de necrose e apoptose nos grupos expostos quando comparado ao grupo de células não expostas (Figura 13, p. 41). Esses achados estão em concordância com os resultados observados com os ensaios de viabilidade e morfologia celular.

Em estudos prévios sobre a aplicação da luz UV-C, foi visto que a desinfecção

por radiação UV-C (254 nm) é capaz de inativar bactérias e vírus (Pereira *et al.*, 2023). Por outro lado, o manuseio desse tipo de radiação sem precaução adequada representa um risco potencial para a saúde humana, devido principalmente, aos danos diretos ou indiretos que a radiação pode causar ao DNA e RNA celular (Biasin *et al.*, 2021). Além disso, a luz UV-C tem relevância atual no desenvolvimento de dispositivos de desinfecção, em especial, para a aplicação em ambientes com alta circulação de pessoas, como ambientes hospitalares, ressaltando a necessidade de ampliação dos estudos sobre a radiação UV-C em diferentes comprimentos de onda, sobre células, tecidos, microorganismos e materiais.

Assim, devido à importância sugerida e com base nos achados deste trabalho, decidiu-se avaliar se a utilização de barreiras físicas entre a fonte de radiação UV-C (254 nm, 18 W e 13 mJ/cm²) poderia proteger as células dos danos causados pela radiação UV-C. Para tal, foram escolhidos 2 tipos de materiais muito utilizados em ambientes hospitalares, o látex presente em luvas utilizadas por profissionais de serviços gerais e o polipropileno usado na composição de máscaras do tipo PFF-2, EPIs amplamente utilizados, em especial, após a pandemia da COVID-19. Cabe destacar que como o tempo de 72 horas de análise pós-exposição as células do grupo exposto apresentaram maiores danos nos ensaios realizados neste estudo, foi o tempo de análise escolhido para verificar o efeito da utilização da barreira física. Ainda nesse sentido, pensando que tal proteção seria necessária a ser utilizada por profissionais operadores de dispositivos contendo radiação UV-C para uma possível exposição acidental, utilizou-se o tempo de 300 segundos de exposição, tempo 2 vezes maior ao tempo mínimo necessário para erradicar 100% das bactérias e fungos expostos identificado em outro estudo pelo grupo de pesquisa deste trabalho (dados ainda não publicados).

De maneira interessante, foi observado que a utilização do látex presente em luvas de borracha comercialmente vendidas, protegeu as células da ocorrência de redução da viabilidade celular quando comparado ao grupo exposto sem barreira, apresentando 70% de células viáveis quando comparado ao grupo não exposto (Figura 11, p. 39). De maneira semelhante, não foi observada alteração na morfologia das células coradas com cristal de violeta (Figura 12, p. 40) e uma discreta marcação positiva no ensaio de dupla marcação com LA/IP em 20% das células quando comparado ao grupo não exposto (Figura 13, p. 41).

Ao utilizar o polipropileno, componente de máscaras de proteção do tipo PFF-

2, nas mesmas condições de exposição e análise do látex, observou-se uma proteção menos pronunciada, mas ainda bastante significativa, com discreta ocorrência de redução na viabilidade celular e dupla marcação com LA/IP quando comparado ao grupo de células não exposto, em 35% e 25%, respectivamente. Esses dados sugerem que a utilização de EPIs pode ser uma alternativa para que operadores e usuários de unidades de saúde possam ser expostos acidentalmente a este tipo de radiação, conferindo proteção e segurança dos profissionais em caso de exposição acidental.

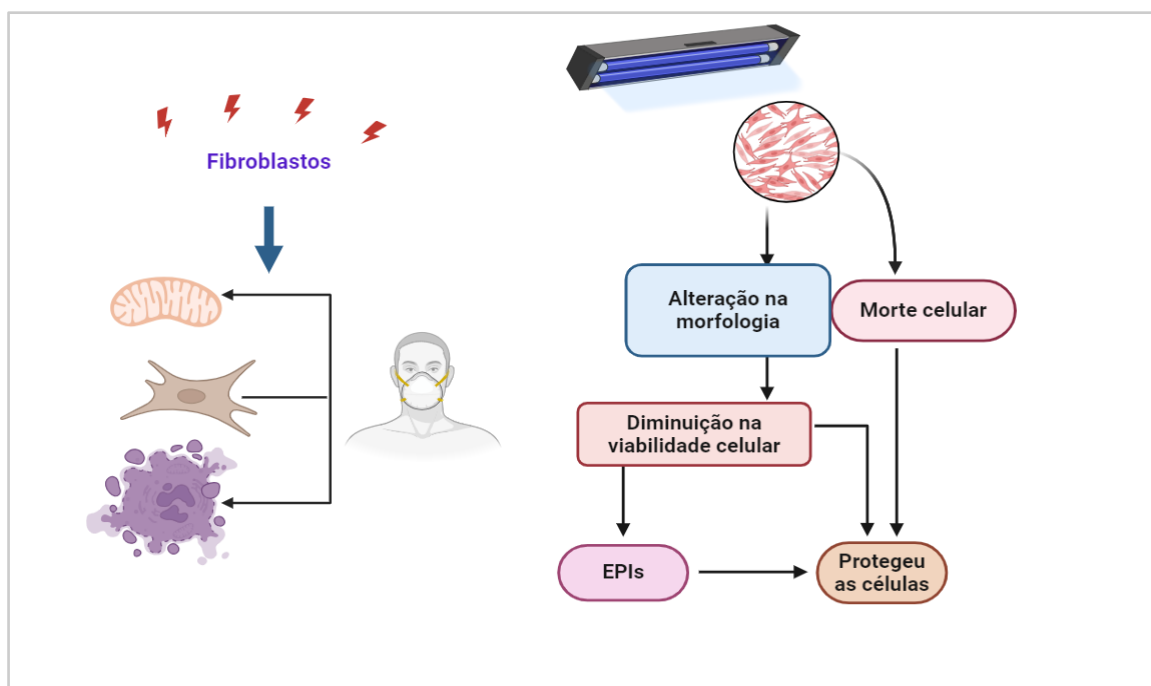
Desta forma, este estudo contribui para ampliar as informações sobre os efeitos da radiação UV-C em especial, sugerir a realização de testes com diferentes materiais que possam ser usados como barreiras físicas de proteção frente à exposição acidental à radiação UV-C dada a importância do desenvolvimento de dispositivos de desinfecção a serem utilizados em unidade de saúde visando minimizar, em especial, a ocorrência de infecções hospitalares.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicam que o dispositivo de baixo custo produzido para emitir a radiação UV-C exerce efeitos danosos na linhagem de fibroblastos humanos condizentes com os danos induzidos em células humanas descritos na literatura. Assim, como parte importante do protocolo de validação do dispositivo de baixo custo utilizado neste trabalho, foi possível mostrar que os materiais utilizados na sua confecção e que a estruturação do mesmo, conferem a qualidade e a efetividade dos efeitos esperados para o dispositivo. Além disso, em outros achados deste projeto, a radiação emitida da luminária manual mostrou-se como um dispositivo eficiente para a desinfecção de ambientes hospitalares, com inibição do crescimento de 100% dos microrganismos avaliados em apenas 300s de exposição após 72 horas.

Além disso pela primeira vez é descrito o uso de componentes de EPIs como barreira de proteção e os efeitos em células, mostrando ação potencial protetor as células contra as exposição UV-C. Portanto, mais estudos são necessários para elucidar melhor os efeitos e a proteção a serem utilizados em unidade de saúde visando minimizar, em especial, a ocorrência de infecções hospitalar

Figura 14– Esquema representando os efeitos da radiação UV-C *in vitro* em fibroblastos não tumorais de mucosa oral.



8 PERSPECTIVAS

Este trabalho tem como perspectiva avaliar as espécies reativas de oxigênio, óxido nítrico, avaliar mediadores inflamatórios e realizar ensaios de proliferação. Investigar outros fragmentos de matérias de proteção individuais utilizados em ambientes hospitalares.

REFERÊNCIAS

BERNHARD,G.H.;BAIS,A.F.;AUCAMP.P.J.;KLEKOCIUK.A.R.;LILEY.J.B.;MCKENZI E.R.L. Stratospheric ozone, UV radiation, and climate interactions.**Photochem Photobiol**,v.22,n.5,p.937-989,2023.

BERTHELOOT, D.;LATZ, E.; FRANKLIN, B. S. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. **Cellular & molecular immunology**, v. 18, n. 5, p. 1106-1121, 2021.

BIASIN,M, et al.UV-C irradiation is highly effective in inactivating SARS-CoV-2 replication.**Scientific reports**,v.11,n.1,2021.

BOCK, F. J.; RILEY, JOEL .S. When cell death goes wrong: inflammatory outcomes of failed apoptosis and mitotic cell death. **Cell Death & Differentiation**, v. 30, n. 2, p. 293-303, 2023.

BOYCE, J.;DONSKEY,C. Understanding ultraviolet light surface decontamination in hospital rooms: A primer. **Infection control and hospital epidemiology**, v.40,n.9,p.1030-1035,2019.

CHAGUZA,C.;NYAGA,M.M.;MWENDA,J.M.;JERE,K.Using genomics to improve preparedness and response of future epidemics or pandemics in Africa. **Lancet Microbe**,v.7,p.275-276,2020.

CHAIPRASONGSUK,A.;PANICH,U.Role of phytochemicals in skin photoprotection via regulation of Nrf2. **Front Pharmacol**,v.13,2022.

CHEN, XI; YANG, CHUNSHENG; JIANG, GUAN. Research progress on skin photoaging and oxidative stress. **Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii**, v. 38, n. 6, p. 931-936, 2021.

CHEN,M.; CHIAO,X. The effect of social media on the development of students' affective variables .**Frontiers psicol**,n.13,2022.

CIAŻYŃSKA, M et al. The incidence and clinical analysis of non-melanoma skin cancer. **Scientific reports** ,v.11,n.1,p. 4337,2021.

COATES, M.; BLANCHARD, S.; MACLEOD,A.Innate antimicrobial immunity in the skin: A protective barrier against bacteria, viruses, and fungi. **PLoS pathogens**, v.14, n.12,2018.

DAI,T.;VRAHAS.;MURRAY,C.;HAMBLIN,M.Ultraviolet C irradiation: an alternative antimicrobial approach to localized infections?. **Expert review**,v.10,n.2,p.185-95,2012.

DANTAS, D, et al. Natural radiactivitv in Brazil:a systematic review. **Environmental science and pollution research international**,v.27,n.1,p143-157,2020.

DEMEERSSEMAN, N et al. Shedding a light on ultraviolet-C technologies in the hospital environment. **The Journal of hospital infection**, v.132,p.85-92,2023.

DODIA, P.; ARIDA, M. Dermatopathology Epidermis Histology. **StatPearls, StatPearls Publishing**, 2023.

ELMORE, Susan. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicologic pathology, v. 35, n. 4, p. 495-516, 2007.

FARA, P. Newton shows the light: a commentary on Newton (1672) 'A letter containing his new theory about light and colours. **Philos Trans A Math Phys Eng Sci**,v.13,2015.

FREEMAN,S.; KIBLER,K.; LIPSKY,Z.; JIN,S.; GERMAN,K .; YE,K.Systematic evaluating and modeling of SARS-CoV-2 UVC disinfection.Scientific reports,v.12,n.1,2022.

GROMKOWSKA-KEPKA.; Puścion-Jakubik,A.; Markiewicz-Żukowska,R. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging . **Cosmetic dermatology**,v

.20,p.11,p.3427-3431,2021.

HAMBLIN, M. R. Ultraviolet irradiation of blood:“the cure that time forgot”?. Ultraviolet Light in Human Health, **Diseases and Environment**, p. 295-309, 2017.

HAQUE,M et al.Health care-associated infections - an overview. **Infection and drug resistance**,v.11, p. 2321-2333,2018.

HASSAN, Mohamed et al. Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. BioMed research international, v. 2014, 2014.

HUANG et al. Dermal extracellular matrix molecules in skin development, homeostasis, wound regeneration and diseases. **Seen Cell Dev Bio**, 2022.

HUANG,S, et al.Lgr6 marks epidermal stem cells with a nerve-dependent role in wound re-epithelialization. **Cell Stem Cell**,v.28,n.9,p.1582-1596,2021.

IZAWA,M.;OTAKA,Y.;SAKAGAMI,H.,et al.Comprehensive Study of Anti-UVC Activity and Cytotoxicity of Hot-water Soluble Herb Extracts. **In Vivo**,v.37,n.4,p.1540-1551,2023.

JAIN,R.;JAIN,Y.The importance of physical examination in primary health care provided by NPHW is being threatened in COVID19 times. **J Family Med Prim Care**, v.10,n.1,p.19-21,2021.

LOPEZ-OJEDA,W.; PANDEY,A.; ALHAJJ,A,M.; OAKLEY,M.A.Anatomy,Skin (Integument).**Statpearls**,v.17,2023.

LYONS,A et al.Photoprotection beyond ultraviolet radiation: A review of tinted sunscreens.**Journal of the American Academy of Dermatology** ,v. 84,n.5,p.1393-1397,2021.

MAILLARD, J.;PASCOE,M.Disinfectants and antiseptics: mechanisms of action and resistance. **Nature reviews**, v. 22,n.1 ,p.4-17, 2023.

MAILLARD, J.;PASCOE,M.Disinfectants and antiseptics: mechanisms of action and resistance. **Nature reviews**, v. 22,n.1 ,p.4-17, 2023.

MANSUR, A.R.; LEE, H. S. ; LEE, C. J. A Review of the Efficacy of Ultraviolet C Irradiation for Decontamination of Pathogenic and Spoilage Microorganisms in Fruit Juices. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 33, n. 4, p. 419, 2023.

MARINÉ-CASADÓ,R et al.Pomegranate natural extract Pomanox® positively modulates skin health-related parameters in normal and UV-induced photoaging conditions in Hs68 human fibroblast cells. **International journal of food sciences and nutrition** ,v.74,n.1,p.51-63,2023.

MEHTA,I.;HSUEH,Y.H.;TAGHIPOUR,S.;LI,W.;SAEEDI,S.UV Disinfection Robots: A Review.**Robotics and autonomous systems**,v.161,2023.

MIKAC, L., CSÁKI, A.; ZENTAI, B.; RIGÓ, I.; VERES, M.; TOLIĆ, A.; IVANDA, M. UV Irradiation of Polyethylene Terephthalate and Polypropylene and Detection of Formed Microplastic Particles Down to 1 µm. **ChemPlusChem**, p. e202300497, 2023.

MOHANIA,D et al. Ultraviolet Radiations: Skin Defense-Damage Mechanism .**Advances in experimental medicine**,v.996,p.71-87,2017.

MORTEZAEE, Keywan et al. Mechanisms of apoptosis modulation by curcumin: Implications for cancer therapy. *Journal of cellular physiology*, v. 234, n. 8, p. 12537-12550, 2019.

MOON, K. C. ; YANG, J. P.; LEE, J. S. ; JEONG, S. H. ; DHONG, E. S.; HAN, S. K. Effects of ultraviolet irradiation on cellular senescence in keratinocytes versus fibroblasts. **Journal of Craniofacial Surgery**, v. 30, n. 1, p. 270-275, 2019.

MOON, K. C.; YANG, J. P.; LEE, J. S.; JEONG, S. H.; DHONG, E. S.; HAN, S. K. Effects of ultraviolet irradiation on cellular senescence in keratinocytes versus fibroblasts. **Journal of Craniofacial Surgery**, v. 30, n. 1, p. 270-275, 2019.

MOSMANN, tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v.65,n.1-2,p.55-63,1983.

NARITA,K.;ASANO,K.;MORIMOMOTO,Y.;IGARASHI,T.;HAMBLIN,M.;DAI,T.;NAKANE,A. Disinfection and healing effects of 222-nm UVC light on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mouse wounds. *Journal of photochemistry B*,v.178,p.10-18,2018.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. The dynamics of the skin's immune system. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 8, p. 1811, 2019.

NICOLAU,T.; FILHO,N.; PADRÃO,J .; ZIILLE, A.A Comprehensive Analysis of the UVC LEDs' Applications and Decontamination Capability. **Materials. Basel, Switzerland**, v.15,n.8,2022.

O'MAHONEY,A.R, et al.Understanding and tracking the impact of long COVID in the United Kingdom. **Nat Med** ,v.28,p. 11–15, 2022.

ONG,O.;WEE,W.;CRUZ,J.D.;TEO,R.W.J.;HAN,W.222-NanometerFar-UVC Exposure Results in DNA Damage and Transcriptional Changes to Mammalian Cells.**International journal of molecular sciences** ,v.23,n.16,p. 9112,2022.

PEREIRA,A.R.;BRAGA,D.;VASSAL,M.;GOMES,I.;SIMÕES,M.UltravioletC irradiation: A promising approach for the disinfection of public spaces?. **Sci Total Environ**, v.879,2023.

PFEIFER,G.P.Mechanisms of UV-induced mutations and skin cancer.**Genome instability & disease**, v. 1,n.3,p.99-113,2020.

PLIKUS,M.;WANG,X.;SINHA,S.;FORTE,E.;THOMPSON,S.;HERZOQ,E.;DRISKELL ,R.;ROSENTHAL.;BIERNASKIE,J.;HORSLEY,V.Fibroblasts:Origins,definitions,and disease.**Cell**,v.184,n.15,p.3852-3872,2021.

PLOYDAENG,M.;RAJATANAVIN,N.; RATTANAKAEMAKORN,P.UV-C light: A powerful technique for inactivating microorganisms and the related side effects to the skin.**Photodermatology,photoimmunology photomedicine** ,v.37,n.1,p.12-19,2021.

POTAPPOVICH,A.;KOSTYUK, T.; ISHUTINA, O.; SHUTAVA, T.; KOSTYUK,V.Effects of native and particulate polyphenols on DNA damage and cell viability after UV-C exposure. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology** ,v.396,v.9,p.1923-1930,2023.

RAFA, E.,; WAŁASZEK, M. Z., ; WAŁASZEK, M. J.,; DOMAŃSKI, A.; RÓŻAŃSKA, A. The incidence of healthcare-associated infections, their clinical forms, and microbiological agents in intensive care units in Southern Poland in a multicentre study from 2016 to 2019. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 5, p. 2238, 2021.

ROSENBERG, M.; AZEVEDO, N. F.; IVASK, A. Propidium iodide staining underestimates viability of adherent bacterial cells. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 6483, 2019.

RUETALO, N.; BUSINGER,R.; SCHINDLER. Rapid, dose-dependent and efficient inactivation of surface dried SARS-CoV-2 by 254 nm UV-C irradiation.Euro surveill,v26,n.42,2021.

SANTOS,T.L.F. Evaluation of a portable Ultraviolet C (UV-C) device for hospital surface decontamination. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**,v.33,2021.

SCOTT,R.;JOSHI,T.L.;MCGINN,C.Hospital surface disinfection using ultraviolet germicidal irradiation technology: A review.**Healthcare technology letters** ,v.9,n.3,p.25-33,2022.

SŁABICKA-JAKUBCZYK, Anna et al. Influence of UV nail lamps radiation on human keratinocytes viability. *Scientific Reports*, v. 13, n. 1, p. 22530, 2023.

SELLERA, F. P.; SABINO, C.; CABRAL, F.; RIBEIRO, M. A systematic scoping review of ultraviolet C (UVC) light systems for SARS-CoV-2 inactivation. **Journal of photochemistry and photobiology**, v.8, 2020.

SLINEY, D.; STUCK, B. A Need to Revise Human Exposure Limits for Ultraviolet UV-C Radiation†. **Photochemistry and photobiology**, v.97, n.3, p.485-492, 2021.

TABISH, H. B.; BASCH, C. Back to the basics: Hand washing is public health 101 and it works to slow down the spread of viruses. **Infect Dis Health**, v.25, n.4, p.319-320, 2020.

TANG, D.; KANG, R.; BERGHE, T. V.; VANDENABEELE, P.; KROEMER, G. The molecular machinery of regulated cell death. **Cell research**, v.29, n.5, p.347-364, 2019.

VALERIO, H. P., RAVAGNANI, F. G., RONSEIN, G. E., & DI MASCIO. A single dose of Ultraviolet-A induces proteome remodeling and senescence in primary human keratinocytes. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 23355, 2021.

VECHTOMOVA, Y. L.; TELEGINA, T. A.; BUGLAK, A. A.; KRITSKY, M. S. UV radiation in DNA damage and repair involving DNA-photolyases and cryptochromes. **Biomedicines**, v. 9, n. 11, p. 1564, 2021.

WANG, H., et al. UV-irradiating synthesis of cyclodextrin-silver nanocluster decorated TiO nanoparticles for photocatalytic enhanced anticancer effect on HeLa cancer cells. **Front Chem**, v.10, n. 27, 2022

WANG, S. C., et al. Protective Effects of Pyridoxamine Against UVC-induced Programmed Cell Death in HaCaT Cells. **In vivo**, v. 29, n.3, p.379-83, 2015.

WANG, Z.; YANG, T.; TAN, Y.; WEI, Q.; YU, W. Cancer-associated fibroblasts in radiotherapy: challenges and new opportunities. **Cell communication and signaling : CCS**, v.17, n.1, 2019.

WEAVER, D. T., et al. UV decontamination of personal protective equipment with idle

laboratory biosafety cabinets during the COVID-19 pandemic. **PloS one**, v.26,n.7-16,2021.

WELLER,R.B.;MAHRHOFER,M.;DAVIS,W.;GORMAN,S.Risks and Benefits of UV Radiation. **Current problems in dermatology**,v.55,p.329-338,2021.

YANG, X., WANG, J., WANG, H., LI, X., HE, C., & LIU, L. Metabolomics study of fibroblasts damaged by UVB and BaP. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 11176, 2021.

YOUSEF,H.;ALHAJJ,M.;SHARMA,S. Anatomy,Skin (Intergument), Epidermis. **Statpearls**,2023.

ZHANG,C.;ZHAI,T.;ZHU,J.;WEI,D.;REN,S.;YANG,Y.;GAO,F.;ZHAO,L.Research Progress of Antioxidants in Oxidative Stress Therapy after Spinal Cord Injury.**Neurochemical research**,v.48,n.12,p.3473-3484,2023.

ZHANG,Y et al. Ultraviolet-based synergistic processes for wastewater disinfection: A review. **Journal of hazardous materials**, v. 453,2023.

ZHOU,D. et al.Biosafety and biosecurity. **Journal of biosafety and biosecurity**,v . 1,n.1,p.15-18,2019.

ZUBIAURRE,M.;HELLEVIK,T.Cancer-associated fibroblastos in radiotherapy: Bystanders or protagonists?.**Cell communication and signaling**,v 21,n.1,p.108,2023.

