

Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica

Gabriela Antonia Tie Calheiro

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANA HÍBRIDA
COMPOSTA POR MEMBRANA AMNIÓTICA E NANOFIBRAS DE
POLICAPROLACTONA PARA TERAPIA REGENERATIVA**

**DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF A HYBRID MEMBRANE
COMPOSED OF AMNIOTIC MEMBRANE AND POLYCAPROLACTONE
NANOFIBERS FOR REGENERATIVE THERAPY**

São José dos Campos, SP
2026

Gabriela Antonia Tie Calheiro

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANA HÍBRIDA
COMPOSTA POR MEMBRANA AMNIÓTICA E NANOFIBRAS DE
POLICAPROLACTONA PARA TERAPIA REGENERATIVA**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba como complementação dos créditos necessários para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana Barros Sant'Anna

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Ivone Regina de Oliveira

São José dos Campos, SP
2026

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA

Ficha catalográfica

Calheiro, Gabriela Antonia Tie
Desenvolvimento e caracterização de membrana híbrida composta por membrana amniótica e nanofibras de policaprolactona para terapia regenerativa / Gabriela Antonia Tie Calheiro; orientadora, Luciana Barros Sant'Anna; co-orientadora Ivone Regina de Oliveira. - São José dos Campos, SP, 2026.
1 CD-ROM, 107 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Inclui referências

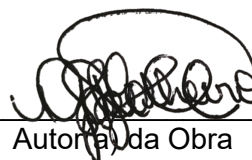
1. Engenharia Biomédica. 2. Membrana amniótica humana. 3. Matriz extracelular descelularizada. 4. Scaffold. 5. Membrana híbrida. I. Sant'Anna, Luciana Barros, orient. II. Oliveira, Ivone Regina de, co-orient. III. Universidade do Vale do Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica. IV. Título.

Eu, Gabriela Antonia Tie Calheiro, autor(a) da obra acima referenciada:

Não autorizo a divulgação total ou parcial da obra impressa, digital ou fixada em outro tipo de mídia, bem como, a sua reprodução total ou parcial, devendo ser aguardada a autorização após pedido **Patente** da pesquisa realizada na dissertação.

Declaro, para todos os fins e efeitos de direito, que o Trabalho foi elaborado respeitando os princípios da moral e da ética e não violou qualquer direito de propriedade intelectual sob pena de responder civil, criminal, ética e profissionalmente por meus atos.

São José dos Campos, 8 de abril de 2026.



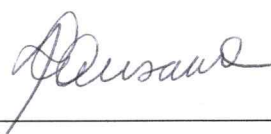



Autor(a) da Obra

GABRIELA ANTONIA TIE CALHEIRO

**“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANA HÍBRIDA COMPOSTA POR
MEMBRANA AMNIÓTICA HUMANA E NANOFIBRAS DE POLICAPROLACTONA PARA TERAPIA
REGENERATIVA.”**

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba - Univap, pela seguinte banca examinadora:

Prof. ^a Dr. ^a Luciana Barros Sant'Anna	
Prof. ^a Dr. ^a Ivone Regina de Oliveira	
Prof. ^a Dr. ^a Emilia Ângela Lo Schiavo Arisawa	
Prof. ^a Dr. ^a Luana Marotta Reis de Vasconcellos - UNESP	

Prof.^a Dr.^a Juliana Ferreira Strixino

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 27 de fevereiro de 2026.

A Deus, aquele que sempre me deu discernimento e
sabedoria para continuar em meio as dificuldades.
A minha família, Marcia, Raimundo, Rafael e Masaho,
pelo amor, apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à espiritualidade, pela minha vida, e por guiarem meus passos a todo momento.

Aos meus pais, meu irmão e meu avô que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização dessa jornada. Sempre com amor e cumplicidade, nunca medindo esforços para que eu alcançasse meus objetivos.

Agradeço especialmente a minha mãe por participar ativamente durante as colheitas das placentas, sendo nossa motorista oficial.

Às minhas orientadoras, pela dedicação, confiança, paciência, empenho, incentivo a buscar cada vez mais dentro da pesquisa e pelas inúmeras contribuições que geraram uma ótima condução neste trabalho.

Aos meus amigos, que estiveram do meu lado oferecendo apoio, trazendo alegria e leveza aos meus dias.

Aos meus colegas de laboratório, pelo companheirismo em tantos percalços vencidos.

Aos que, pelas suas funções, ajudaram a conclusão da pesquisa, como as enfermeiras do hospital que auxiliaram na colheita das placentas e à Priscila, Angela e Luciana, técnicas do laboratório multiusuários do IP&D UNIVAP.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, que com seus conhecimentos ofertaram as aulas, e me auxiliaram nesse processo.

Ao Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições Comunitárias de Educação Superior (PROSUC), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) que, com o fomento da bolsa, permitiu-me realizar esta pesquisa.

Aos funcionários do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, que sempre se mostraram solícitos e contribuíram para um melhor ambiente de pesquisa e estudo.

A todos que, de alguma forma, contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa me ajudando a alcançar o êxito.

Meus mais profundos agradecimentos!

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A pesquisa proposta visa impactar diretamente os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), enfatizando a ODS 3 (Boa Saúde e Bem-estar). O impacto esperado abrange diferentes áreas: 1) Científica e Técnica: Contribui para o avanço da engenharia de tecidos e medicina regenerativa por meio do desenvolvimento e caracterização de uma membrana híbrida composta por membrana amniótica humana descelularizada e nanofibras de policaprolactona. O estudo amplia o conhecimento sobre biomateriais híbridos e suas propriedades físico-químicas, térmicas, mecânicas e de degradação, fornecendo base para futuras aplicações clínicas e pesquisas na área; 2) Social: O biomaterial proposto utiliza tecido de origem perinatal, normalmente descartado como resíduo hospitalar, para o desenvolvimento de um curativo biológico com potencial aplicação na regeneração tecidual. Essa abordagem pode favorecer terapias mais eficientes, seguras e acessíveis, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida de pacientes com lesões ou doenças degenerativas; 3) Inovadora e Econômica: A associação entre membrana amniótica humana e policaprolactona eletrofiada representa uma estratégia inovadora para superar limitações mecânicas e de degradação dos biomateriais naturais. O uso de matéria-prima abundante e de baixo custo, aliado a polímeros sintéticos biocompatíveis, apresenta potencial para desenvolvimento tecnológico, transferência de tecnologia e aplicações na indústria biomédica; 4) Educacional e Cultural: A pesquisa contribui para a formação de recursos humanos qualificados em engenharia biomédica, estimulando a produção científica e o desenvolvimento de competências técnicas e analíticas. Além disso, promove a conscientização sobre o aproveitamento ético e sustentável de tecidos perinatais para fins terapêuticos e científicos; 5) Internacionalização e Inserção Local: Os resultados obtidos possuem relevância para a comunidade científica nacional e internacional, fortalecendo a pesquisa em biomateriais e medicina regenerativa. A utilização de tecidos provenientes de hospitais locais promove a integração entre universidade, serviços de saúde e sociedade, gerando impacto regional; 6) Desenvolvimento Sustentável: A pesquisa contempla os seguintes Objetivos de Desenvolvimento Sustentável: ODS 3 – Saúde e Bem-estar: desenvolvimento de biomaterial com potencial aplicação terapêutica; ODS 4 – Educação de Qualidade: Formação de recursos humanos qualificados; ODS 9 – Indústria, Inovação e Infraestrutura: Estímulo ao desenvolvimento de tecnologias biomédicas; ODS 12 – Consumo e Produção Responsáveis: Aproveitamento de tecido biológico normalmente descartado como resíduo hospitalar.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The proposed research aims to directly impact the Sustainable Development Goals (SDGs), emphasizing SDG 3 (Good Health and Well-being). The expected impact spans different areas: 1) Scientific and Technical: Contributes to the advancement of tissue engineering and regenerative medicine through the development and characterization of a hybrid membrane composed of decellularized human amniotic membrane and polycaprolactone nanofibers. The study expands knowledge about hybrid biomaterials and their physicochemical, thermal, mechanical, and degradation properties, providing a basis for future clinical applications and research in the area; 2) Social: The proposed biomaterial uses perinatal tissue, normally discarded as hospital waste, for the development of a biological dressing with potential application in tissue regeneration. This approach can promote more efficient, safe, and accessible therapies, contributing to improved quality of life for patients with injuries or degenerative diseases; 3) Innovative and Economical: The association between human amniotic membrane and electrospun polycaprolactone represents an innovative strategy to overcome mechanical and degradation limitations of natural biomaterials. The use of abundant and low-cost raw materials, combined with biocompatible synthetic polymers, presents potential for technological development, technology transfer, and applications in the biomedical industry; 4) Educational and Cultural: The research contributes to the training of qualified human resources in biomedical engineering, stimulating scientific production and the development of technical and analytical skills. Furthermore, it promotes awareness of the ethical and sustainable use of perinatal tissues for therapeutic and scientific purposes; 5) Internationalization and Local Insertion: The results obtained are relevant to the national and international scientific community, strengthening research in biomaterials and regenerative medicine. The use of tissues from local hospitals promotes integration between universities, health services, and society, generating regional impact; 6) Sustainable Development: The research addresses the following Sustainable Development Goals: SDG 3 – Good Health and Well-being: development of biomaterial with potential therapeutic application; SDG 4 – Quality Education: Training qualified human resources; SDG 9 – Industry, Innovation and Infrastructure: Stimulating the development of biomedical technologies; SDG 12 – Responsible Consumption and Production: Utilization of biological tissue normally discarded as hospital waste.

RESUMO

A membrana amniótica humana (MAh) apresenta propriedades que atendem os principais pilares da engenharia de tecidos: células, estrutura e fatores de crescimento. Nesta área, a aplicação da MAh expandiu-se, mas com limitações devido à sua espessura reduzida e a rápida taxa de degradação comparada a outros *scaffolds*. Para superar essas limitações e ampliar a aplicabilidade, estratégias vêm sendo propostas para criação de biomateriais híbridos derivados de MAh. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma membrana híbrida composta de multicamadas de MAh combinadas por eletrofição de fibras ultrafinas de policaprolactona (PCL) para uso na terapia regenerativa. Para isso, foram coletadas 7 placentas, a MAh foi processada sob condições estéreis e dividida em três grupos experimentais: controle (MAh-C), descelularizada (MAh-D) e membrana híbrida com policaprolactona (MAh-PCL). O grupo MAh-C, correspondeu a MAh *in natura* criopreservada a -80°C em solução de DMEM/glicerol; o grupo MAh-D foi composto pela membrana descelularizada por método químico/físico; e o grupo MAh-PCL correspondeu a membrana híbrida de MAh associada a fibras eletrofiadas de PCL. A membrana eletrofiada de policaprolactona sem associação da MAh correspondeu ao grupo PCL controle (PCL-C). Os grupos MAh-C e MAh-D foram avaliados por microscopia óptica pela coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) e teste de viabilidade celular (MTT) para análise da eficácia do processo de descelularização. O grupo PCL-C foi analisado antes e após a modificação da membrana para a confecção da MAh-PCL. As amostras foram caracterizadas quanto à morfologia superficial por microscopia eletrônica de varredura, composição biomolecular por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-ATR), molhabilidade, análise termogravimétrica, degradação *in vitro* e resistência mecânica nos quatro grupos experimentais. A coloração de HE demonstrou a eficácia do processo de descelularização do grupo MAh-D, com a remoção das células, exposição da membrana basal e preservação das demais estruturas. O ensaio de MTT demonstrou redução significativa da atividade mitocondrial no grupo MAh-D, confirmando a efetividade do protocolo. As eletromicrografias apresentaram a remoção de microvilos e a exposição da membrana basal, além da preservação da arquitetura colágena após a descelularização, assim como do padrão de fibras do grupo PCL-C. A espectroscopia FTIR-ATR, demonstrou preservação da integridade predominantemente proteica da MAh após a descelularização, a adição de novos picos associados à modificação das membranas de PCL, assim como alterações espectrais referentes a integração da MAh-D e da PCL-C modificada na MAh-D. A análise de molhabilidade indicou maior hidrofobicidade da PCL-C em contraste à hidrofília da MAh-D, enquanto a membrana híbrida apresentou comportamento hidrofílico com menor capacidade de absorção que a MAh-D, mas com maior capacidade que o PCL. Os ensaios térmicos evidenciaram novos eventos de degradação da PCL associados aos grupos funcionais enxertados, os quais também se manifestaram na membrana híbrida. A degradação *in vitro* mostrou menor perda de massa de MAh-D em relação à MAh-C, aumento da taxa de degradação do PCL após modificação e comportamento intermediário da MAh-PCL entre os grupos controle. A membrana híbrida aumentou a espessura das amostras e mostrou desempenho mecânico melhor que a PCL-C modificada, porém inferior à MAh-D. Os protocolos de descelularização da MAh e de modificação da membrana de PCL foram eficazes, gerando uma membrana híbrida MAh-PCL estável e com potencial uso para terapia regenerativa.

Palavras-chave: membrana amniótica humana; matriz extracelular descelularizada; policaprolactona; *scaffold*; membrana híbrida.

ABSTRACT

Human amniotic membrane (HAM) exhibits properties that meet the main pillars of tissue engineering: cells, structure, and growth factors. In this area, the application of HAM has expanded, but with limitations due to its reduced thickness and rapid degradation rate compared to other scaffolds. To overcome these limitations and broaden its applicability, strategies have been proposed for the creation of hybrid biomaterials derived from HAM. Therefore, the present work aimed to develop a hybrid membrane composed of multilayer MAh membranes combined by electrospinning of ultrafine polycaprolactone (PCL) fibers for use in regenerative therapy. For this, 7 placentas were collected, the HAM was processed under sterile conditions and divided into three experimental groups: control (HAM-C), decellularized (HAM-D), and hybrid membrane with polycaprolactone (HAM-PCL). The HAM-C group corresponded to HAM in its natural state cryopreserved at -80°C in a DMEM/glycerol solution; The HAM-D group consisted of a membrane decellularized by a chemical/physical method; and the HAM-PCL group corresponded to a hybrid HAM membrane associated with electrospun PCL fibers. The electrospun polycaprolactone membrane without MAh association corresponded to the control PCL group (PCL-C). The HAM-C and HAM-D groups were evaluated by optical microscopy using Hematoxylin and Eosin (HE) staining and cell viability assay (MTT) to analyze the effectiveness of the decellularization process. The PCL-C group was analyzed before and after membrane modification to produce HAM-PCL. The samples were characterized in terms of surface morphology by scanning electron microscopy, biomolecular composition by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR), wettability, thermogravimetric analysis, *in vitro* degradation, and mechanical resistance in the four experimental groups. HE staining demonstrated the effectiveness of the decellularization process of the HAM-D group, with the removal of cells, exposure of the basement membrane, and preservation of other structures. The MTT assay demonstrated a significant reduction in mitochondrial activity in the HAM-D group, confirming the effectiveness of the protocol. Electron micrographs showed the removal of microvilli and exposure of the basement membrane, as well as the preservation of collagen architecture after decellularization, and the fiber pattern of the PCL-C group. FTIR-ATR spectroscopy demonstrated the preservation of the predominantly protein integrity of HAM after decellularization, the addition of new peaks associated with the modification of PCL membranes, as well as spectral changes related to the integration of HAM-D and modified PCL-C into HAM-D. Wettability analysis indicated greater hydrophobicity of PCL-C in contrast to the hydrophilicity of HAM-D, while the hybrid membrane showed hydrophilic behavior with lower absorption capacity than HAM-D, but with greater capacity than PCL. Thermal assays revealed new PCL degradation events associated with the grafted functional groups, which were also manifested in the hybrid membrane. *In vitro* degradation showed less mass loss of HAM-D compared to HAM-C, an increased degradation rate of PCL after modification, and intermediate behavior of MAh-PCL between the control groups. The hybrid membrane increased the thickness of the samples and showed better mechanical performance than the modified PCL-C, but inferior to HAM-D. The HAM decellularization and PCL membrane modification protocols were effective, generating a stable HAM-PCL hybrid membrane with potential use for regenerative therapy.

Keywords: human amniotic membrane; decellularized extracellular matrix; polycaprolactone; *scaffold*; hybrid membrane.