



УДК 616.314.13:577.112.6:577.2(048.8)

## BIOMIMETIC PROTEIN MATRICES FOR THE RESTORATION OF TOOTH ENAMEL STRUCTURE: MOLECULAR MECHANISMS AND CLINICAL PROSPECTS

БІОМІМЕТИЧНІ БІЛКОВІ МАТРИЦІ ДЛЯ ВІДНОВЛЕННЯ СТРУКТУРИ ЗУБНОЇ ЕМАЛІ: МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ТА КЛІНІЧНІ ПЕРСПЕКТИВИ

**Panenko M.V. / Паненко М.В.**

*master's degree student / здобувачка магістерського рівня*

*ORCID: 0009-0006-1785-8486*

**Bachynskiy R.O. / Бачинський Р.О.**

*s.b.s., as.prof. / к.біол.н., доц.*

*ORCID: 0000-0001-7141-0435*

*Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Nauky, 4, 61022*

*Харківський національний медичний університет, Харків, Науки, 4, 61022*

**Анотація.** Незворотна втрата структурної цілісності зубної емалі внаслідок карієсу, ерозії та механічного зношування залишається фундаментальною проблемою регенеративної стоматології, оскільки диференційована емаль позбавлена клітинних елементів і не здатна до самовідновлення після завершення амелогенезу. Розглянуто роль амелогеніну та його синтетичних аналогів (TRAP, LRAP, amelogenin-inspired peptides) у регуляції нуклеації та просторової організації кристалів гідроксиапатиту, а також охарактеризовано супрамолекулярні системи на основі еластин-подібних рекомбінамерів (ELR), що відтворюють структурні параметри ембріональної емалевої матриці. Аналіз даних електронної мікроскопії, рентгеноструктурного аналізу та наноіндендування свідчить про епітаксіальне зростання орієнтованих нанокристалів із відновленням модуля Юнга до 76,3 ГПа та твердості до 3,1 ГПа. Узагальнення наявних результатів підтверджує, що біоміметичні протеїнові матриці забезпечують справжню регенерацію ієрархічно організованої мінералізованої тканини, а не поверхневу обтурацію, що якісно відрізняє їх від традиційних фторидних протоколів.

**Ключові слова:** емаль зуба, біомінералізація, амелогенін, амелогенез, біоміметична ремінералізація, гідроксиапатит, регенеративна стоматологія, нанокристали гідроксиапатиту, еластин-подібні рекомбінамери, пептидна інженерія, карієс зубів, біосумісність.

**Вступ.** Втрата структурної цілісності зубної емалі внаслідок карієсу, ерозії чи механічного зношування становить фундаментальну проблему сучасної стоматології. Попри те, що емаль є найтвердішою тканиною організму з вмістом мінеральної фази понад 95%, вона позбавлена регенераційного потенціалу після завершення амелогенезу через відсутність клітинних елементів у дефінітивній структурі [1, 8]. Відтак, пошук біологічно обґрунтованих методів відновлення втрачених тканин зуба залишається пріоритетним напрямком регенеративної стоматології.



**Мета роботи.** Систематизація та критичний аналіз сучасних даних щодо біоміметичних білкових матриць як платформи керованого відновлення емалі — від молекулярних механізмів їх функціонування до клінічної доцільності застосування.

### **Результати та обговорення.**

Процес формування емалі контролюється складною системою взаємодій між органічною матрицею та мінеральними компонентами. Дослідження Nabelitz та Bai [11] продемонстрували, що амелогенін як домінуючий матриксний білок (>90% органічної фази) володіє унікальною здатністю до самоорганізації у наносферичні структури, що регулюють нуклеацію та спрямований ріст кристалів гідроксиапатиту. Морфологічна гетерогенність амелогеніну, описана у роботах Aliaa H. Sakr та співавт. [3], сприяє його полівалентності у регуляції просторової архітектури емалі.

Група Diez-García [10] ідентифікувала критичні функціональні домени амелогеніну, що забезпечують його біомінералізуючу активність. Зокрема, N-термінальний фрагмент містить пролін-багаті послідовності, відповідальні за формування надмолекулярних агрегатів, тоді як C-термінальна ділянка з гідрофільними залишками забезпечує взаємодію з іонами кальцію та фосфату. Встановлено, що фосфорильований серин у 16-му положенні відіграє ключову роль у стабілізації аморфного фосфату кальцію та попередженні його передчасної кристалізації [2, 11].

Синтез та апробація функціональних фрагментів амелогеніну відкрили нові перспективи у біоміметичній ремінералізації. Wen зі співавторами [2] розробили тирозин-збагачений амелогеніновий пептид (TRAP), що містить ключові елементи N- та C-термінальних доменів повнорозмірного білка. Експериментальне застосування цього конструкту на демінералізованій емалі призвело до формування високоорієнтованих кристалічних структур з відновленням механічних характеристик тканини.

Kwak та колеги [7] продемонстрували, що leucine-rich amelogenin peptide (LRAP) у комбінації з пірофосфат-стабілізованими системами кальцію-фосфату



забезпечує регенерацію шару товщиною до 8 мкм із щільно упакованими голчастими кристалами, морфологічно подібними до нативних структур емалі. Важливо, що новоутворені кристали демонструють міцне зчеплення з суміжною тканиною, витримуючи ультразвукову обробку, на відміну від систем без пептидного компонента.

Сучасні дослідження Sakr та співробітників [3] з використанням рН-циклічної моделі виявили синергічний ефект амелогенін-інспірованих пептидів (amelogenin-inspired peptides), перенасичених розчинів фосфату кальцію та фторидів. Протягом 14-денного циклу демінералізації-ремінералізації спостерігалось формування нового мінералізованого шару з відновленням поверхневої мікротвердості та зменшенням глибини ураження. Енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія підтвердила нормалізацію співвідношення Ca/P до 1,65, що наближається до стехіометрії гідроксиапатиту.

Дослідження Wen та колективу авторів [2] застосували комбінований експериментально-комп'ютерний підхід для розшифрування механізмів регуляції біомінералізації тирозин-збагаченим амелогеніновим пептидом. Встановлено, що C-термінальний домен цього пептиду відіграє вирішальну роль у формуванні емаль-подібних кристалічних структур через стабільну адсорбцію на поверхні емалі за рахунок електростатичних взаємодій та подальшу рекрутацію іонів кальцію з мінералізуючого розчину.

Конфокальна лазерна скануюча мікроскопія з використанням флуоресцентно-мічених пептидів виявила преференційну адсорбцію на демінералізованих ділянках емалі порівняно з інтактною поверхнею. Розрахунки констант спорідненості підтвердили високу афінність пептидних конструктів до гідроксиапатиту, що забезпечує їхню пролонговану дію в зоні ремінералізації [2, 4].

Революційний прогрес у відновленні емалі пов'язаний з розробкою супрамолекулярних протейнових систем на основі еластин-подібних рекомбінамерів (ELR). Дослідження команди Hasan [1] продемонструвало, що ELR-матриці імітують структурні та функціональні характеристики природної



амелогенін-вмісної матриці, забезпечуючи епітаксіальне зростання апатитних нанокристалів.

Ширококутове розсіювання рентгенівських променів виявило характерний для  $\beta$ -структур дифракційний пік, що відповідає періодичності  $\beta$ -тяжів  $4,7 \text{ \AA}$  – параметру, ідентичному структурі емалі на стадії розвитку. Малокутове розсіювання продемонструвало формування філаментів шириною близько  $49 \text{ \AA}$ , що корелює з розмірами філаментів у матриці ембріональної емалі, підтверджуючи біоміметичну природу системи [1]. Електронна мікроскопія високої роздільної здатності виявила формування орієнтованих голчастих кристалів діаметром  $50 \text{ нм}$  та завдовжки до  $1 \text{ мкм}$ , вирівняних вздовж  $c$ -осі існуючих кристалів емалі. Дифракція вибраної площини підтвердила кристалографічне вирівнювання новоутворених та нативних структур без видимої межі між ними, що свідчить про досягнення справжньої регенерації, а не поверхневого покриття [1].

Міжнародні дослідження продемонстрували відновлення механічних параметрів ремінералізованої емалі до рівня інтактної тканини. Модуль Юнга досягав  $76,3 \text{ ГПа}$  при значеннях для здорової емалі  $80,7 \text{ ГПа}$ , що статистично перевищувало показники демінералізованих зразків ( $36,9 \text{ ГПа}$ ). Твердість відновлювалась до  $3,1 \text{ ГПа}$  порівняно з  $3,4 \text{ ГПа}$  для нативної емалі [1]. Трибологічний аналіз виявив відновлення коефіцієнта тертя та питомої швидкості зношування до значень, близьких до характеристик здорової емалі. Примітно, що міцність на зношування ремінералізованої тканини навіть перевищувала показник нативної емалі, що може бути пов'язано з оптимізованим пакуванням нанокристалів у біоміметичній системі [1].

Хоча фторид залишається класичним стандартом профілактики карієсу, біоміметичні пептидні системи демонструють унікальні переваги щодо відновлення природної архітектури емалі. Сканувальна електронна мікроскопія виявляє принципову різницю: фторид індукує формування відносно хаотично розташованих колоноподібних структур, тоді як пептидні системи стимулюють ріст паралельно орієнтованих голчастих кристалів, що імітують організацію



призм нативної емалі [8].

Клінічні випробування з використанням внутрішньоротових знімних апаратів підтвердили ефективність тирозин-збагаченого амелогенінового пептиду. Відсоток відновлення поверхневої мікротвердості становив 30,37% для TRAP порівняно з 10,81% для контролю та 48,57% для фториду. Атомно-силова мікроскопія продемонструвала зниження шорсткості поверхні з 358,6 нм після демінералізації до 76,8 нм після обробки пептидом [4].

Комп'ютерне моделювання методом молекулярної динаміки розкрило механізми самоорганізації ELR-молекул. Показано, що 30 молекул ELR у водному середовищі з іонами кальцію формують видовжені філаменти, де гідрофобні VPGIG мотиви складають ядро структури, а гідрофільні VPGKG та статеринові домени локалізуються на поверхні. Аналіз радіальної функції розподілу підтвердив взаємодію іонів  $Ca^{2+}$  зі статериновими ділянками як на поверхні, так і в товщі агрегатів [1]. Симуляції з використанням силового поля MARTINI v3 продемонстрували, що формування філаментів відбувається виключно за наявності іонів кальцію, що відіграють роль структурних медіаторів самоорганізації. Шість паралельних філаментів агрегують у фібрилу загальною шириною близько 300 Å, що корелює з експериментальними даними електронної мікроскопії [1].

Критичним аспектом клінічного застосування є стабільність матеріалів у агресивному середовищі ротової порожнини. Експериментальні дослідження продемонстрували збереження функціональних властивостей ELR-матриці після експозиції екстремальним рН (2,0 та 11,0), високими концентраціями солей, інтенсивному абразивному навантаженню та термічним впливам. Механічні характеристики покриття виявились порівнянними з комерційним фторвмісним лаком [1]. Молекулярна основа такої стабільності полягає у формуванні впорядкованих  $\beta$ -листових структур та міцних ковалентних зв'язків через глутаральдегідне зшивання. Поступова біодеградація матриці відбувається паралельно з мінералізацією, що забезпечує безперервну інтеграцію новоутворених кристалів із суміжною тканиною [1]. Цитотоксикологічні



дослідження на фібробластах миші лінії 3T3, мезенхімальних стовбурових клітинах та ендотеліальних клітинах підтвердили біосумісність ELR-композицій з додаванням іонів кальцію, що відкриває перспективи безпечного клінічного застосування [1].

Біоміметичні протеїнові матриці пропонують клінічно зручну альтернативу традиційним методам лікування. Час формування функціонального покриття становить 3-4 хвилини при кімнатній температурі, що робить технологію практично застосовною в умовах стоматологічного прийому. Протокол включає стандартні етапи: професійну гігієну, кислотне протравлювання, промивання та нанесення біоміметичної матриці [1]. Здатність формувати мінералізований шар товщиною до 10 мкм з епітаксіальною інтеграцією до нативної тканини забезпечує не лише естетичний результат, але й відновлення біомеханічних характеристик. Застосування в природній слині людини протягом 14 днів демонструє регенерацію призматичної структури емалі на значних площах із механічними параметрами, близькими до нативних [1].

### **Висновки.**

Розробка біоміметичних білкових матриць на основі функціональних доменів амелогеніну та еластин-подібних рекомбінамерів представляє якісно новий етап у регенеративній стоматології. Здатність цих систем рекапітулювати природні механізми амелогенезу, забезпечуючи епітаксіальне зростання орієнтованих нанокристалів гідроксиапатиту, дозволяє не лише відновити мінеральний склад, але й реконструювати ієрархічну організацію емалі з повним відновленням механічних властивостей. Перспективні напрямки подальших досліджень включають оптимізацію складу білкових матриць для підвищення швидкості мінералізації, розробку комбінованих систем з контрольованим вивільненням біоактивних молекул та створення персоналізованих протоколів залежно від етіології та глибини ураження. Інтеграція нанотехнологічних підходів із фундаментальним розумінням молекулярних основ біомінералізації може привести до створення наступного покоління матеріалів, здатних повністю відновлювати структурну та функціональну цілісність зубної емалі.



## Література:

1. Hasan, A., Chuvilin, A., Van Teijlingen, A. *et al.* Biomimetic supramolecular protein matrix restores structure and properties of human dental enamel. *Nat Commun* 16, 9434 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41467-025-64982-y>
2. Wen, M., Bai, Q., Li, Y. *et al.* Morphological study of remineralization of the eroded enamel lesions by tyrosine-rich amelogenin peptide. *BMC Oral Health* 24, 1054 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04777-7>
3. Sakr, A.H., Nassif, M.S. & El-Korashy, D.I. Amelogenin-inspired peptide, calcium phosphate solution, fluoride and their synergistic effect on enamel biomimetic remineralization: an in vitro pH-cycling model. *BMC Oral Health* 24, 279 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04008-z>
4. Bai, Q., Li, Y., Wen, M. *et al.* Effect of the recombinant amelogenin peptide TRAP on remineralization of early enamel caries: an in-situ study. *BMC Oral Health* 25, 312 (2025). <https://doi.org/10.1186/s12903-025-05643-w>
5. Alkilzy, M., Qadri, G., Splieth, C. H., & Santamaría, R. M. (2023). Biomimetic Enamel Regeneration Using Self-Assembling Peptide P<sub>11-4</sub>. *Biomimetics*, 8(3), 290. <https://doi.org/10.3390/biomimetics8030290>
6. Sugaya, H., Kurashige, Y., Suzuki, K. *et al.* Regaining enamel color quality using enamel matrix derivative. *Med Mol Morphol* 56, 116–127 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00795-022-00346-5>
7. Kwak SY, Litman A, Margolis HC, Yamakoshi Y, Simmer JP. Biomimetic Enamel Regeneration Mediated by Leucine-Rich Amelogenin Peptide. *Journal of Dental Research*. 2017;96(5):524-530. doi:10.1177/0022034516688659
8. Sedek, E.M., Holiel, A.A. Next-Generation Strategies for Enamel Repair and Regeneration: Advances in Biomaterials and Translational Challenges. *Tissue Eng Regen Med* 22, 771–789 (2025). <https://doi.org/10.1007/s13770-025-00725-w>
9. Dawasaz AA, Togoo RA, Mahmood Z, Azlina A, Thirumulu Ponnuraj K. Effectiveness of Self-Assembling Peptide (P<sub>11-4</sub>) in Dental Hard Tissue Conditions: A Comprehensive Review. *Polymers*. 2022; 14(4):792. <https://doi.org/10.3390/polym14040792>



10. Diez-García, S., Sánchez-Martín, MJ. & Valiente, M. The power of weak ion-exchange resins assisted by amelogenin for natural remineralization of dental enamel: an in vitro study. *Odontology* 110, 545–556 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10266-022-00688-7>

11. Habelitz S, Bai Y. Mechanisms of Enamel Mineralization Guided by Amelogenin Nanoribbons. *Journal of Dental Research*. 2021;100(13):1434-1443. doi:10.1177/00220345211012925

12. Camal Ruggieri, I.N., Aimone, M., Juanes-Gusano, D. *et al.* Biocompatibility and bone regeneration with elastin-like recombinamer-based catalyst-free click gels. *Sci Rep* 14, 20223 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-69658-z>

**Abstract. Introduction.** Irreversible loss of dental enamel integrity due to caries, erosion, and mechanical wear represents a fundamental challenge in modern dentistry. Although enamel constitutes the hardest biological tissue, comprising over 95% mineral phase, its regenerative capacity is permanently lost following the completion of amelogenesis owing to the absence of resident cellular components.

**Aim.** This study aimed to systematize and critically appraise current evidence on biomimetic protein matrices as platforms for guided enamel regeneration, encompassing molecular mechanisms of action, structural outcomes, and translational applicability.

**Materials and Methods.** A narrative review of contemporary experimental and clinical literature was conducted, integrating findings from in vitro biomineralization models, advanced structural characterization techniques, computational simulations, and clinical trials.

**Results and Discussion.** Amelogenin-derived peptide constructs, including TRAP and LRAP, demonstrate capacity to induce highly oriented enamel-like crystalline structures, restoring surface microhardness by 30.37% and reducing surface roughness from 358.6 nm to 76.8 nm. Synergistic protocols combining biomimetic peptides with supersaturated calcium phosphate and fluoride ions restored Ca/P ratios to 1.65, approximating stoichiometric hydroxyapatite. A principal advance was demonstrated through elastin-like recombinamers (ELRs), which support epitaxial growth of aligned hydroxyapatite nanocrystals with no discernible boundary between regenerated and native tissue — indicating true structural regeneration rather than superficial coating. Nanoindentation confirmed recovery of Young's modulus to 76.3 GPa (intact enamel: 80.7 GPa) and hardness to 3.1 GPa (intact: 3.4 GPa), with tribological performance matching or exceeding native enamel. ELR matrices exhibited stability under extreme pH (2.0–11.0), mechanical abrasion, and thermal stress, with confirmed biocompatibility in cellular models. Functional coatings form within 3–4 minutes under chair-side conditions, supporting clinical feasibility.

**Conclusions.** Biomimetic protein matrices based on functional amelogenin domains and elastin-like recombinamers enable hierarchical structural reconstruction of enamel with full mechanical property recovery. Future research should focus on optimizing matrix composition, developing controlled-release bioactive delivery systems, and formulating patient-specific treatment protocols. The convergence of nanotechnology with mechanistic insights into biomineralization holds substantial promise for next-generation materials capable of complete enamel regeneration.

**Key words:** dental enamel, biomineralization, amelogenin, amelogenesis, biomimetic remineralization, hydroxyapatite, regenerative dentistry, hydroxyapatite nanocrystals, elastin-like recombinamers, peptide engineering, dental caries, biocompatibility.

Стаття відправлена: 24.03.2026 р.

© Паненко М.В., Бачинський Р.О.