

Влияние прекондиционирующего локального повреждения ногтевого ложа на регенерацию кончика пальца у мышей

Р.И. Цветков^{1,2}, А.А. Шилова¹, В.С. Попов^{1,2}, П.И. Макаревич^{1,2,*}, Р.Ю. Еремичев²

¹ Факультет фундаментальной медицины Медицинского научно-образовательного института ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Ломоносовский пр-т, 27 к 1, 119991, Москва, Россия

² Центр регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного института ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Ломоносовский пр-т, 27 к 10, 119234, Москва, Россия

* Адрес для корреспонденции: makarevichpi@my.msu.ru

Аннотация

Стимуляция эпиморфной регенерации кончика пальца после большого объема ампутации, при котором регенерация блокируется, остается одной из актуальных задач регенеративной биологии и медицины. В настоящей работе мы оценили, может ли прекондиционирование, заключающееся в легком механическом повреждении ногтевого ложа, сместить ответ тканей в сторону регенерации. У мышей C57/BL6 с помощью иглодержателя или микрометра выполнялось сдавление ногтевого ложа, после чего проводили субкритическую ампутацию кончиков пальцев по косой линии через определенные временные интервалы (1 час, 1 день, 3 дня или 5 дней) после сдавления. Мы оценили динамику внешней морфологии и выполнили гистологическое исследование на 42-й день после ампутации, после чего интерпретировали результаты с использованием разработанной нами шкалы балльной оценки. Прекондиционирование значительно улучшало частоту и качество частично регенеративных исходов: высокая степень анатомического восстановления (3 и 4 балла) наблюдалась преимущественно в группах с прекондиционированием, а качество исхода коррелировало с ранним появлением ногтя после его ампутации. Эффекты прекондиционирования не зависели от временного интервала между сдавлением и ампутацией, однако для них была характерна выраженная поляризация в зависимости от силы воздействия. Умеренная компрессия (25 и 50% толщины ногтя) усиливала регенерацию, тогда как чрезмерная (75%) — приводила только к нерегенеративным исходам. Гистологический анализ показал, что частично регенеративные исходы сочетались с устойчивым сохранением близкого расположения остаточных костных структур дистальной фаланги (P3) и эпителия ногтевой матрицы. Наши данные свидетельствуют о том, что прекондиционирование путем сдавления ногтевого ложа смещает баланс от нерегенеративного заживления в сторону эпиморфной регенерации. Полученные результаты потенциально обосновывают подход с прорегенеративной подготовкой тканей перед хирургическими вмешательствами.

Ключевые слова: регенерация кончика пальца, ампутация, сдавление, повреждение, заживление

Конфликт интересов: П.И. Макаревич является членом редколлегии журнала «Регенерация органов и тканей» с 2023 года и не имел отношения к ходу рецензирования и принятия решения о публикации статьи.

Финансирование: работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная программа развития генетических технологий на 2019–2030 гг., соглашение № 075-15-2025-487).

Для цитирования: Цветков Р.И., Шилова А.А., Попов В.С., Макаревич П.И., Еремичев Р.Ю. Влияние прекодиционирующего локального повреждения ногтевого ложа на регенерацию кончика пальца у мышей. *Регенерация органов и тканей*. 2026;4(2):82–94. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2026-2-82-94>

Получена 12.06.2026

Обработана 23.06.2026

Принята 23.06.2026

Effect of preconditioning local injury of the nail bed on fingertip regeneration in mice

Roman I. Tsvetkov^{1,2}, Alyona A. Shilova¹, Vladimir S. Popov^{1,2}, Pavel I. Makarevich^{1,2,*}, Roman Yu. Eremichev²

¹ Faculty of Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University, 27-1, Lomonosovskiy av., 119991, Moscow, Russia

² Center for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University, 27-10, Lomonosovskiy av., 119234, Moscow, Russia

* Correspondence address: makarevichpi@my.msu.ru

Abstract

Stimulation of epimorphic digit tip regeneration under non-regenerative conditions remains a pivotal goal in regenerative biology and medicine. Our study investigates whether tissue preconditioning by mild injury can shift the response toward regenerative outcome. In adult male C57/BL6 mice mechanical occlusion was applied to the nail bed using either a needle holder or a micrometer followed by subcritical oblique digit tip amputation at specific time intervals (1 hour, 1 day, 3 days, or 5 days). We analyzed dynamic gross morphology and histology at 42 days post-amputation and then assessed results using an in-house developed scoring scale. Pre-conditioning significantly improved the frequency and quality of partially regenerative outcomes in the used model. High-grade anatomical restoration (scores 3 and 4) appeared predominantly in the pre-conditioned groups and the quality of outcome correlated with early nail appearance. The effect of pre-conditioning was independent of the time interval between occlusion and amputation. However, it exhibited a strict biphasic, strength-dependent profile: moderate compression (25% and 50%) enhanced regrowth, while excessive compression (75%) completely abolished regeneration. Histological analysis revealed that partially regenerative outcomes were consistently coupled with sustained spatial proximity between the residual distal phalanx (P3) bone structures and the nail matrix epithelium. Our data indicates that pre-conditioning by nail bed occlusion shifts the balance from non-regenerative healing toward epimorphic regeneration. These findings provide theoretical insights into pro-regenerative tissue priming prior to surgical interventions.

Keywords: digit tip regeneration, amputation, occlusion, healing, injury

Conflict of interest: P.I. Makarevich has been a member of the editorial board of the “Tissue and organ regeneration” journal since 2023 and was not involved in the peer review or publication decision-making process for this article.

Funding statement: the work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (the Federal Scientific-technical programme for genetic technologies development for 2019–2030, agreement no. 075-15-2025-487).

For citation: Tsvetkov R.I., Popov V.S., Shilova A.A., Makarevich P.I., Eremichev R.Yu. Effect of preconditioning local injury of the nail bed on fingertip regeneration in mice. *Tissue and organ regeneration*. 2026;4(2):82–94. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2026-2-82-94>

Received 12.06.2026

Revised 23.06.2026

Accepted 23.06.2026

1. Введение

Стимуляция эпиморфной регенерации кончика пальца после объема повреждения, для которого нехарактерно полное восстановление, остается одной из наиболее актуальных задач регенеративной биологии и медицины [1, 2]. В настоящее время эта ключевая проблема не решена полностью, однако достигнут значительный прогресс благодаря различным биоинженерным и фармакологическим вмешательствам. Введение факторов роста (FGF2 с последующей доставкой BMP2) [3], стабилизация гиалуроновой кислоты за счет модуляции экспрессии кросс-линкерного белка, связывающего гиалуронан и протеогликан (HAPLN1) [4], или доставка гена *Mest* с помощью вирусного вектора [5] позволили индуцировать рост кости и формирование бластематиподобной структуры даже после тяжелых проксимальных повреждений. Тем не менее полное и воспроизводимое восстановление интактной анатомии пальца остается затруднительным.

Полная регенерация после тотального удаления всей дистальной фаланги по линии ампутации, проходящей через вторую фалангу (P2), требует восстановления сложной скелетной и мягкотканной архитектуры, включая функциональный сустав. В связи с этим более целесообразным представляется использование субкритического уровня ампутации, т.е. в пределах повреждения, при котором сохраняется минимально необходимый клеточный субстрат в отделах ногтевого матрикса, периостальной кости и подушечки пальца. Этот подход сводит задачу от сложного восстановления целых частей тела к направленной активации регенеративной способности, заключенной в остаточных тканях кончика пальца.

Поиск стимулирующих условий может опираться на парадигму тканевого прекондиционирования. В данной работе этот термин использу-

ется как сжатое определение физиологической модуляции, основанной на феномене *гормезиса*, при котором воздействие контролируемого сублетального стресса эффективно подготавливает локальную среду ткани к последующей тяжелой травме. Среди прекондиционирующих стимулов одним из наиболее часто применяемых является гипоксия, для которой показана эффективность как стимулятора регенерации [6, 7].

Однако общий ответ индуцирует именно повреждение. Соответственно, оно может являться и более специфическим прекондиционирующим стимулом. Известно, что локальное контролируемое повреждение запускает активное высвобождение в локальное микроокружение ассоциированных с повреждением молекулярных паттернов (DAMPs) и провоспалительных цитокинов [8]. В ходе приводящего к регенеративному исходу ответа эти молекулярные сигналы действуют как критически важные эндогенные адъюванты, стимулирующие мобилизацию, выживание и пролиферацию резидентных клеток, в том числе и прогениторных [9].

Опираясь на эти предпосылки, мы предположили, что нанесение механического повреждения путем сдавливания ногтевого ложа перед субкритической ампутацией кончика пальца может сместить баланс от нерегенеративного заживления к полноценной регенерации.

2. Материалы и методы

Экспериментальные животные. Прекондиционирование сдавливанием ногтевого ложа и субкритические ампутации кончика пальца выполняли на самцах мышей C57/BL6 (*Mus musculus*) возрастом 6–12 недель ($n = 25$), содержавшихся в свободных от специфических патогенов условиях в виварии Факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (Москва,

Россия). Животных содержали на стандартных кормах со свободным доступом к воде при цикле 12:12 часов день/ночь. Манипуляции с животными и процедуры эвтаназии выполнялись в соответствии с национальными нормативными требованиями и регламентами Европейского Союза и были одобрены Институциональным комитетом по этике и уходу за животными (Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; разрешение № 193-Ж-О от 29 октября 2024 г.).

Модель прекондиционирования сдавлением ногтевого ложа перед ампутацией. Мышей наркотизировали изофлураном (Laboratorios Karizoo, Испания) с использованием кислородного концентратора Pureline Oxygen Concentrator (AL 35217, Nidek Medical Products, Inc., США).

Сдавление проводили по двум протоколам: с помощью иглодержателя и с помощью микрометра.

Сдавление с помощью иглодержателя проводилось по следующему протоколу:

- 1) Взрослых мышей в возрасте 6–12 недель наркотизировали ингаляцией изофлурана (Laboratorios Karizoo S.A., Испания).
- 2) Дистальную часть пальца ориентировали боком к исследователю.
- 3) Ноготь и окружающие мягкие ткани сжимали перпендикулярно продольной оси пальца.

Сдавление с помощью микрометра проводилось по следующему протоколу:

- 1) Взрослых мышей в возрасте 6–12 недель наркотизировали ингаляцией изофлурана (Laboratorios Karizoo S.A., Испания).
- 2) Ноготь помещали между лапками микрометра, при этом палец ориентировали боком к ним.
- 3) Храповик вращали до появления щелчка трещотки, полученное значение принимали за исходную толщину пальца, затем с помощью шкалы барабана лапки микрометра сближали до расстояния, составляющего 75% от исходной толщины ногтя (сдавление 25%), 50% от исходной толщины ногтя (сдавление 50%) или 25% от исходной толщины ногтя (сдавление 75%).

Ампутацию проводили по следующему протоколу:

- 1) Мышей в возрасте 6–12 недель наркотизировали ингаляцией изофлурана.
- 2) Для ампутации использовали два или три пальца каждой передней конечности. Дистальную часть кончика пальца ампутировали хирургическими ножницами (MS-1005, «Медтехника», Россия) по линии, указанной на рисунке 1.
- 3) Непосредственно после ампутации мышей содержали до пробуждения и полного восстановления с последующей оценкой витальных признаков и общего состояния.

Для изучения влияния компрессии дистальной фаланги на исход регенерации кончика пальца в экспериментальные группы было включено 9 мышей. По одному пальцу на каждой передней конечности подвергали сдавлению и ампутировали через 3 дня, причем один палец ампутировали без предварительной компрессии и один оставляли неповрежденным.

Группа из 4 мышей была использована нами для оценки влияния временного интервала между сдавлением и ампутацией на исход реге-

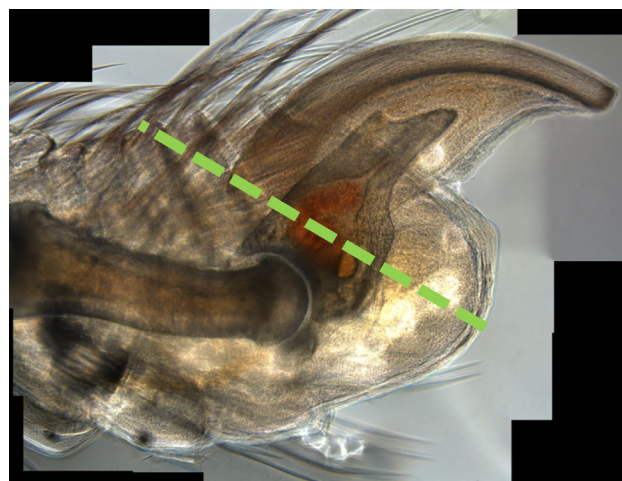


Рис. 1. Субкритический уровень ампутации кончика пальца. Репрезентативное изображение просветленного препарата пальца, полученное с помощью бинокулярного микроскопа Leica MZ95 Stereomicroscope (Leica Microsystems, Inc., Германия)

Fig. 1. The subcritical level of digit tip amputation. Representative image of a tissue-cleared finger obtained by a binocular microscope Leica MZ95 Stereomicroscope (Leica Microsystems, Inc., Germany)

нерации тканей пальца: один палец на каждой конечности соответствовал интервалу 1 час, один палец — интервалу 1 день, и еще один — интервалу в 5 дней. Четыре мыши были использованы для выявления влияния сдавления на ткани дистальной фаланги — животных подвергали эвтаназии непосредственно после выполнения манипуляции.

Для сравнения морфологических последствий ампутации без прекондиционирования и после его осуществления нами было использовано 3 мыши. Через три дня после сдавления проводили ампутацию, после чего животных сразу же подвергали эвтаназии.

Для оценки влияния степени сдавления ногтевого ложа на исход регенерации кончика пальца после ампутации было использовано 5 мышей, пальцы которых рандомизировали по степени сдавления: 0, 25, 50 и 75%.

Серийная фотосъемка кончиков пальцев живых животных. Для изучения внешней морфологии кончиков пальцев после ампутации мышей анестезировали изофлураном на 7, 14, 28 и 42-й дни после ампутации (ДПА — дней после ампутации) и фотографировали передние конечности сбоку с помощью бинокулярного микроскопа Leica MZ95 Stereomicroscope (Leica Microsystems, Inc., Германия).

Приготовление гистологических препаратов и окрашивание. Мышей наркотизировали и подвергали эвтаназии на 42-й день после последней ампутации путем транскардиальной перфузии фосфатно-солевым буфером (ФСБ) с последующим введением 4% нейтрального забуференного формальдегида. После этого целые пальцы препарировали ножницами на уровне проксимальной фаланги и фиксировали в 4% формальдегиде (ErgoProduction, Россия) в течение 24 часов. Зафиксированные образцы трижды промывали (по 5 мин; 37 °С) при постоянном встряхивании (900 об/мин) в ФСБ (кат. № 18444, Eco-Service, Россия) и помещали в 0,5 М раствор ЭДТА (кат. № 131669.1210, PanReas AppliChem, Испания; раствор в H₂O, pH = 8,5) на 5–7 дней при 37 °С при постоянном встряхивании (900 об/мин). В первом эксперименте этап инкубации в ЭДТА был опущен.

После минимум 3 дней инкубации зафиксированные образцы трижды промывали (по 5 мин;

37 °С) при постоянном встряхивании (900 об/мин) в ФСБ. Декальцинированные образцы помещали в 4% нейтральный забуференный формальдегид, после чего проводили гистологическую обработку по стандартным методикам: из парафиновых блоков нарезали срезы толщиной 3–4 мкм и монтировали на предметные стекла (Menzel GmbH&Co KG, Германия) с последующим окрашиванием гематоксилином Майера и эозином (PanReas AppliChem, Испания). Полученные препараты анализировали методом световой микроскопии на микроскопе Leica DMi8 (Leica, Германия).

Статистический анализ. Обработку данных и статистический анализ проводили в RStudio (Posit, Бостон, Массачусетс, США) с использованием программного пакета R версии 4.4.2. Влияние локального компрессионного повреждения мягких тканей кончика пальца кодировали следующим образом: в эксперименте по оценке влияния сдавления на исход 1 = после сдавления, 0 = без сдавления; в эксперименте по оценке влияния интервала между сдавлением и ампутацией на исход 1 = ампутация через 1 час после сдавления, 2 = ампутация через 1 день после сдавления, 3 = ампутация через 5 дней после сдавления; в эксперименте по оценке влияния степени сдавления на исход 0 = без сдавления, 1 = 25% сдавление (75% от исходной толщины), 2 = 50% сдавление (50% от исходной толщины), 3 = 75% сдавление (25% от исходной толщины).

Исходы кодировали как порядковые баллы: 0 = нерегенеративное заживление, 1 = след ногтя, 2 = плоский ноготь, 3 = выпуклый ноготь, 4 = выпуклый ноготь с заостренным кончиком. Для эксперимента, отвечающего на вопрос, влияет ли сдавление на исход регенерации, сравнения проводили с помощью точного пермутационного статистического теста: исходная матрица состояла из векторов-строк $x_i = \{M_i, L_i, S_i\}$, где M_i — идентификатор животного, L_i — идентификатор экспериментального воздействия, S_i — оценка исхода в баллах. Нулевая гипотеза: распределение исходов в рамках одной мыши не зависит от экспериментального воздействия, то есть от того, предшествовало ли ампутации сдавление или нет, то есть $P(S|L, M) = P(S|M)$. Тестирование данной гипотезы выполнялось следующим образом:

1) Для исходной матрицы данных вычислялось значение статистики: разность средних ранговых

баллов между сравниваемыми группами (группа 1: после сдавления и группа 0: без сдавления):

$$T_{obs} = \frac{1}{n_1} \sum_{j:L_j=1} S_j - \frac{1}{n_0} \sum_{j:L_j=0} S_j. \quad (1)$$

2) Проводилась стратификация (блокировка) выборки: вся матрица данных разбивалась на 9 изолированных блоков (страт) по числу индивидуальных животных, где каждый блок содержал строго те строки, для которых $M_i = m$.

3) Проводилась генерация 1999 псевдовыборок путем внутримышечных перестановок. Запускался итерационный цикл из 1999 шагов. На каждой r -й итерации внутри каждого из блоков вектор меток экспериментального воздействия $L^{(m)}$ подвергался случайной перестановке без возвращения, в то время как вектор исходов $S^{(m)}$ оставался неизменным. Таким образом, разрушалась связь между воздействием и исходом, но полностью сохранялся внутренний баланс групп и размер выборки для каждого животного. Сформированные блоки объединялись обратно в единую псевдо-матрицу данных $X_{\text{permutation}, r}$. На основе рассчитывалось псевдо-значение статистики по формуле (1).

4) P -значение определялось как доля псевдостатистик, которые по своему абсолютному значению были равны или превышали наблюдаемую статистику, с поправкой Дэвисона — Хинкли:

$$P = \frac{\sum_{r=1}^N I(|T_{perm,r}| \geq |T_{obs}|) + 1}{N + 1}, \quad (2)$$

где I — индикатор, принимающий значение 1, если условие верно, и 0 в ином случае. Уровень значимости принимался за 0,05.

Множественные сравнения проводили с использованием пермутационного омнибус-теста:

1. Для исходной матрицы данных вычислялось значение статистики между сравниваемыми группами. В качестве тестовой статистики использовался коэффициент детерминации, выражающий долю общей дисперсии зависимой переменной, объясняемую исследуемым фактором:

$$R^2 = \frac{SS_{\text{межгрупповая}}}{SS_{\text{общая}}}. \quad (3)$$

2. Проводилась стратификация (блокировка) выборки: вся матрица данных разбивалась на 5 изолированных блоков (страт) по числу ин-

дивидуальных животных, где каждый блок содержал строго те строки, для которых $M_i = m$.

3. Проводилась генерация 1999 псевдовыборок путем внутримышечных перестановок. Запускался итерационный цикл из 1999 шагов. На каждой r -й итерации внутри каждого из блоков вектор меток экспериментального воздействия $L^{(m)}$ подвергался случайной перестановке без возвращения, в то время как вектор исходов $S^{(m)}$ оставался неизменным. Сформированные блоки объединялись обратно в единую псевдо-матрицу данных $X_{\text{permutation}, r}$. На основе рассчитывалось псевдо-значение статистики по формуле (3).

4. P -значение определялось как доля псевдо-статистик, которые по своему абсолютному значению были равны или превышали наблюдаемую статистику, с поправкой Дэвисона — Хинкли:

$$P = \frac{\sum_{r=1}^N I(R_{perm,r}^2 \geq R_{obs}^2) + 1}{N + 1}, \quad (4)$$

где I — индикатор, принимающий значение 1, если условие верно, и 0 в ином случае. Уровень значимости принимался за 0,05.

Для оценки зависимости между баллом регенерации и днем после ампутации, когда ноготь мог быть обнаружен, использовался критерий Кохрана — Мантеля — Хэнзеля; уровень значимости принимался за 0,05. Для оценки корреляции между баллом регенерации и днем после ампутации, когда ноготь мог быть обнаружен, использовалась корреляция Спирмена.

3. Результаты

3.1 Прекондиционирование сдавлением ногтевого ложа смещает баланс от нерегенеративного заживления к частично регенеративным исходам после субкритической ампутации кончика пальца

Для достижения субкритического уровня при сохранности основных структурных элементов кончика пальца ампутацию выполняли по линии, проходящей косо от середины подушечки до корня ногтя (рис. 1).

Прекондиционирование проводили сдавлением с помощью иглодержателя, бранши которого располагали поперек видимой поверхности ногтевой пластинки перед смыканием. Возникающая при этом компрессия вызывала локальное повреждение мягких тканей между ногтевой пластинкой и дистальной фалангой,

что подтверждалось незначительным кровоизлиянием в мезенхиму ногтя, причем подлежащая кость оставалась интактной (рис. 2А). Сама процедура сдавливания не приводила к заметным изменениям общего объема ампутации (рис. 2Б), что подкрепляет корректность последующего сравнительного анализа исходов.

Макроскопическая оценка выявила переменные результаты: среди исходов встречались пальцы без ногтей, с плоскими ногтями и с ногтями выпуклой, но более естественной внешней морфологии. Гистологическая оценка в конечной точке (42 ДПА) выявила закономерность: чем естественнее выглядел ноготь, тем больше выявлялось костной ткани дистальной фаланги (рис. 3Г). Примечательно, что подушечка пальца присутствовала во всех случаях, независимо от других частей кончика пальца, хотя ее форма и структура несколько отличались от исходной.

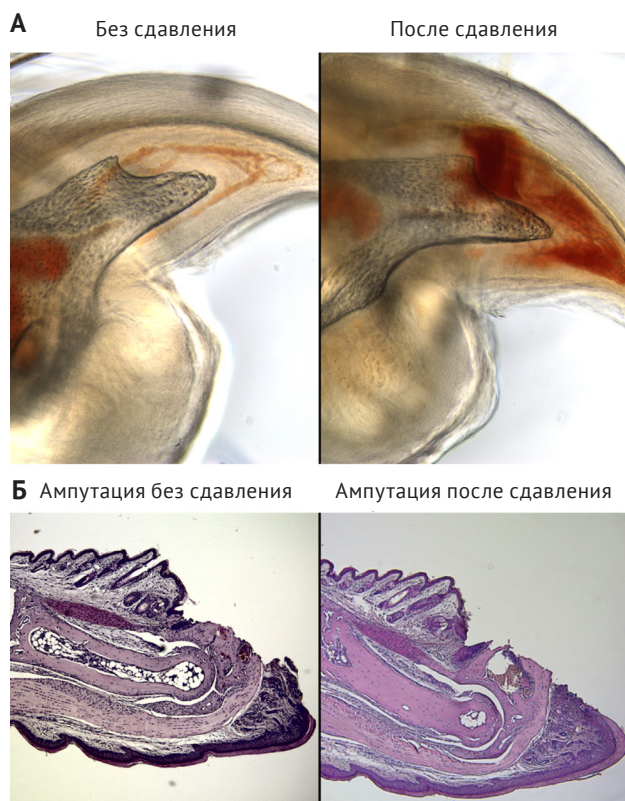


Рис. 2. Эффект и последствия сдавливания и субкритической ампутации кончика пальца: А — просветленный кончик пальца; Б — гистологическая оценка кончика пальца после ампутации с и без сдавливания (ГЭ, 5х Об.)

Fig. 2. Effect and consequences of occlusion and subcritical digit tip amputation. А — Cleared digit tip, Б — Histology evaluation of digit tip after amputation after occlusion and with no occlusion (H&E, 5x Obj.)

На основании этих данных нами была введена шкала балльной оценки для описания степени частичной регенерации (см. раздел «Материалы и методы»). Пальцы с наивысшими баллами (3, 4) имели морфологию, более близкую к исходному состоянию, где кость играла роль опоры для ногтевой пластинки, придавая ей выпуклую, а не плоскую форму (рис. 3А, 3Г).

Сравнительный анализ показал, что прекондиционирование увеличивало частоту частично регенеративных исходов и улучшало их качество в целом. В частности, в отсутствие прекондиционирования в 83% случаев наблюдалось нерегенеративное заживление, тогда как после прекондиционирования частота нерегенеративного заживления снижалась до 44% (рис. 3Б). Кроме того, частично регенеративные исходы с более высокой степенью восстановления (баллы 3 и 4) были обнаружены только после прекондиционирования сдавливанием.

При макроскопической оценке морфологии в динамике был отмечен еще один интересный тренд: чем выше был балл регенерации, тем раньше появлялся ноготь. Например, для пальцев с баллом 1 у большинства мышей ногти были обнаружены только к 42 ДПА, в то время как для пальцев с баллом 4 ногти могли быть обнаружены у большинства уже на ранних этапах, то есть к 7–14 ДПА (рис. 3А, S1). Таким образом, раннее начало регенеративного ответа ассоциировалось с лучшими исходами процесса восстановления после ампутации.

3.2 Сила сдавливания, но не интервал между прекондиционированием и ампутацией, определяет исход

В первоначальном эксперименте ампутацию выполняли через 3 дня после сдавливания. Для исследования влияния временного интервала между прекондиционированием и ампутацией на исход были оценены три дополнительных интервала: 1 час, 1 день и 5 дней. Оказалось, что доля нерегенеративных исходов была сопоставима с результатами для 3 ДПА: 38, 50 и 38% соответственно. Во всех группах были также обнаружены пальцы, достигшие 3–4 баллов, что указывало на сохранение положительного эффекта прекондиционирования на регенеративный исход. Скольких-нибудь значимых различий между группами не наблюдалось ($p = 0,987$), что указывало на быструю инициализацию и длительное сохранение эффекта прекондиционирования (рис. 4).

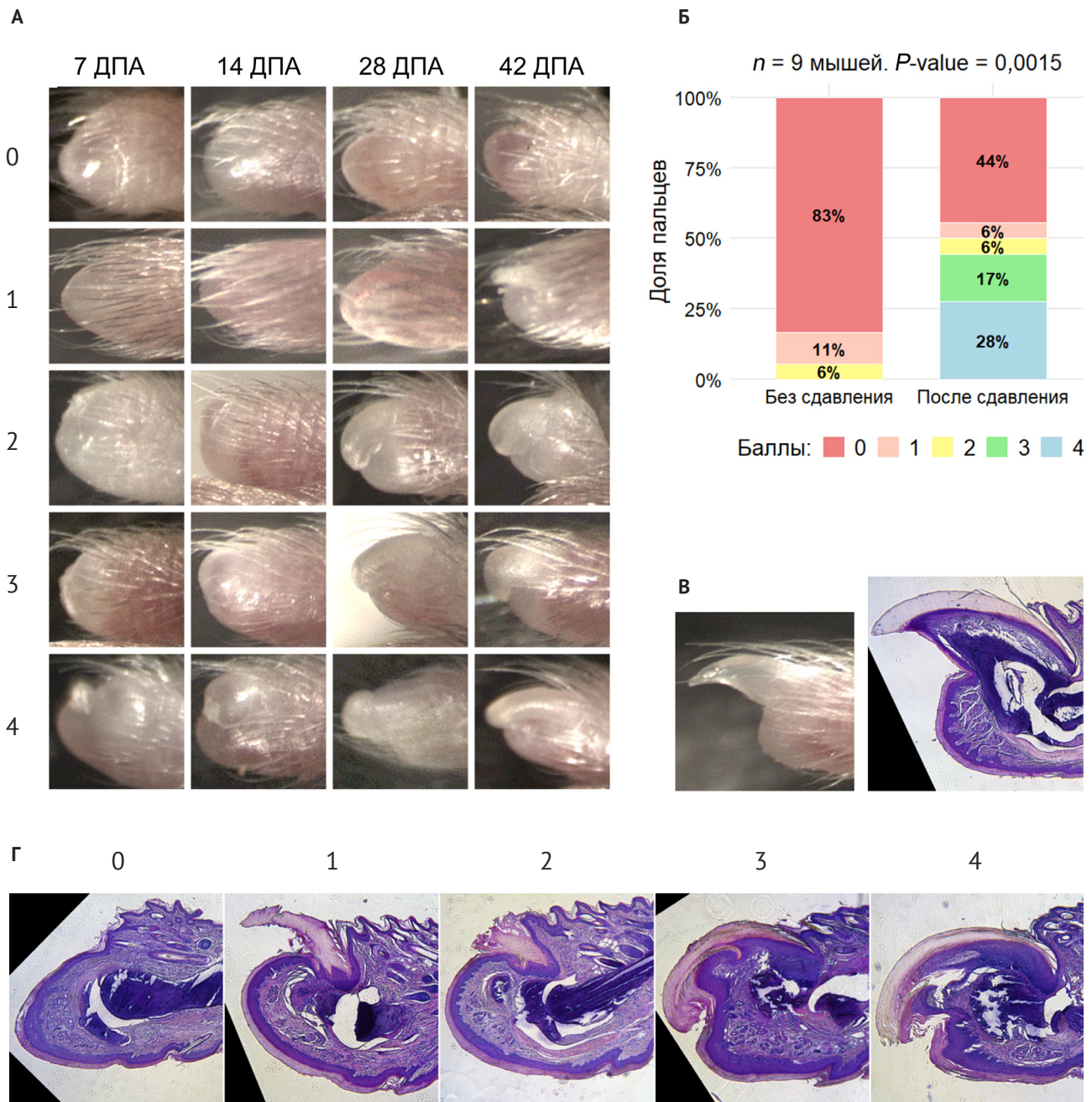


Рис. 3. Характеристики исходов после субкритической ампутации кончика пальца с preconditionированием и без него: А – динамика внешней морфологии кончика пальца после ампутации для различных баллов регенерации, 0, 1, 2, 3, 4 – баллы регенерации кончика пальца, ДПА – день после ампутации; Б – статистика различных исходов после сдавления и без него; В – внешняя морфология и гистология (ГЭ, 5х Об.) контрольного (неампутированного) кончика пальца; Г – гистология кончика пальца после ампутации для различных баллов регенерации, 0, 1, 2, 3, 4 – баллы регенерации кончика пальца. (ГЭ, 5х Об.)

Fig. 3. Characteristics of outcomes following subcritical digit tip amputation with or without pre-conditioning. (A) – Dynamics of digit tip external morphology following amputation for different regeneration scores, 0, 1, 2, 3, 4 – digit tip regeneration scores, DPA – day post amputation, (B) – statistics of different outcomes with or without occlusion, (C) – external morphology and histology (H&E, 5x Obj.) of control (unamputated) digit tip, (D) – Histology (H&E, 5x Obj.) of digit tip external morphology following amputation for different regeneration scores, 0, 1, 2, 3, 4 – digit tip regeneration scores

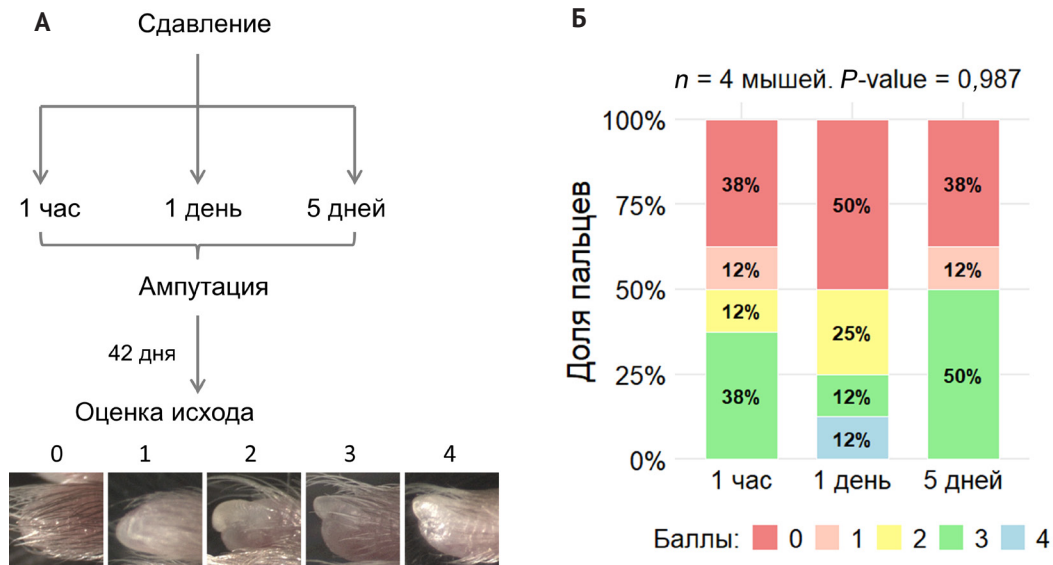


Рис. 4. Влияние временного интервала между сдавливанием и ампутацией на регенеративные исходы: А – дизайн эксперимента с интервалами 1 час, 1 и 5 дней между сдавливанием и субкритической ампутацией; Б – распределение регенеративных исходов по группам с различными временными интервалами, оцененное на 42-й день после ампутации (ДПА) ($n = 4$ мыши, общий $p = 0,987$). 0, 1, 2, 3, 4 – баллы регенерации кончика пальца

Fig. 4. Impact of the time interval between occlusion and amputation on partially regenerative outcomes. (A) – Experimental design with 1-hour, 1-day, and 5-day intervals between occlusion and subcritical amputation. (B) Statistical visualization of regeneration outcomes distributions across different time interval groups assessed at 42 days post-amputation (DPA) ($n = 4$ mice, omnibus p -value = 0.987). 0, 1, 2, 3, 4 – digit tip regeneration scores

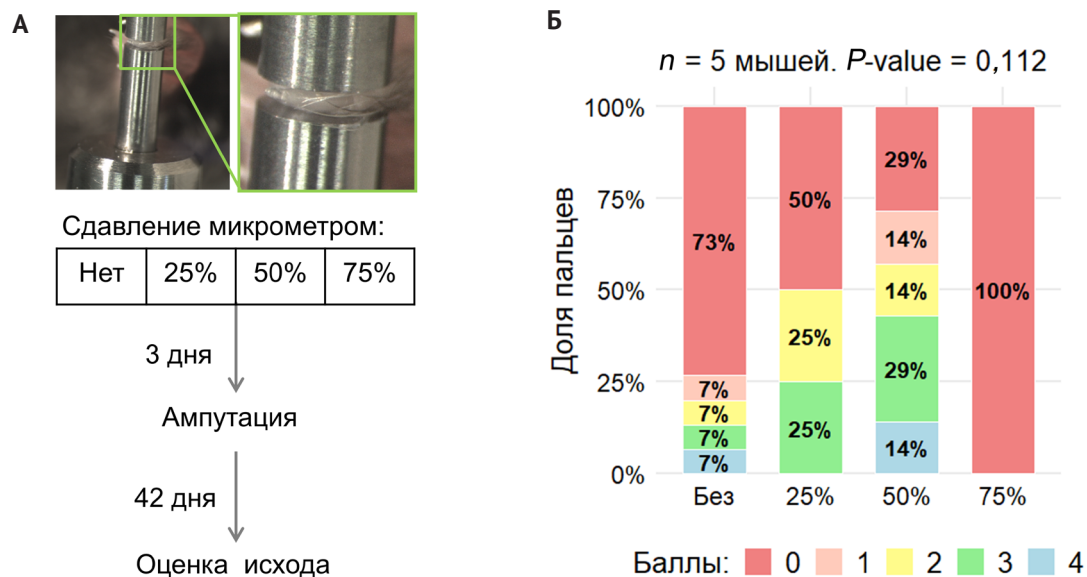


Рис. 5. Влияние силы сдавливания на частично регенеративные исходы: А – дизайн эксперимента без сдавливания, со сдавливанием 25, 50 и 75% и наглядная демонстрация использования микрометра в эксперименте; Б – распределение регенеративных исходов, оцененное на 42-й день после ампутации (ДПА), по группам с различной степенью сдавливания: без сдавливания, 25, 50 и 75% ($n = 5$ мышей, общий $p = 0,112$)

Fig. 5. Effect of occlusion strength on partially regenerative outcomes. (A) – Experimental design with no occlusion, 25%, 50% and 75% occlusion and visual demonstration of occlusion protocol using a micrometer. (B) – Distribution of regeneration outcomes assessed 42 days post-amputation (DPA) across groups subjected to varying initial tissue occlusion degrees: no occlusion, 25%, 50%, and 75% ($n = 5$ mice, omnibus p -value = 0.112)

Напротив, влияние силы сдавления на исходы было достаточно явным, хотя результаты статистической оценки были пограничными ($p = 0,112$) из-за размера выборки, ограниченно-го технической сложностью процедуры (рис. 5). В частности, при степени окклюзии 75% регенеративные исходы полностью отсутствовали, тогда как в группе с 50% степенью сдавления частичная регенерация встречалась чаще, чем в группе с 25% степенью. Также следует отметить, что после сдавления в 25 и 50% частота частично регенеративных исходов была сопоставима со значениями после преко кондиционирования с использованием иглодержателя (рис. 3Б, 4Б).

В этом эксперименте наблюдались исходы с 3 и 4 баллами и в группе без сдавления, однако их процент был небольшим, в то время как количество нерегенеративных исходов (73%) оставалось сопоставимым с предыдущими результатами (рис. 3Б). Таким образом, для достижения положительного эффекта преко кондиционирования сила сдавления должна быть достаточной, но не чрезмерной.

3.3 Пространственная близость костных структур дистальной фаланги к эпителию ассоциирована с ростом ногтевой пластины

Гистологическая оценка исходов показала, что регенеративный ответ воспроизводимо ассоциировался с устойчиво близким расположением части костной ткани дистальной фаланги с эпителием, дающим начало ногтевой пластине. При этом нерегенеративные исходы неизменно характеризовались пространственным разобщением этих структур (рис. 6). В большинстве случаев оно было обусловлено редукцией остаточной кости P3 и ее последующим смещением в нижние отделы кончика пальца. В одном случае кость сохранила свое исходное положение, однако между ней и эпителием сформировался плотный слой соединительной ткани, что также привело к пространственному разобщению указанных структур (рис. S2).

4. Обсуждение

На модели субкритической ампутации кончика пальца у мышей мы показали возможность смещения баланса от нерегенеративного заживления к частично регенеративным исходам путем преко кондиционирования путем сдавления ногтевого ложа. Прорегенеративный ответ был тесно связан с сохранением пространственного контакта между эпителием ногтевого матрикса

и костью P3 (рис. 6), что подчеркивало необходимость тесного взаимодействия между этими структурами как одной из важных детерминант успешной регенерации кончика пальца. В ходе нерегенеративного заживления наблюдалось разобщение эпителия и кости P3, которое ассоциировалось с потерей способности к образованию ногтевой пластинки и, вероятно, было обусловлено избыточным гистолизом кости P3.

Исходы с высокими баллами регенерации наблюдались преимущественно после преко кондиционирования (рис. 3Б), а степень восстановления кончика пальца существенно коррелировала со временем появления ногтя: чем раньше появлялся ноготь, тем лучше был исход (рис. 3А, S1). Следовательно, преко кондиционирование приводило к ускорению начала регенеративного ответа, возможно, через переход резидентных клеток в прорегенеративное состояние. Наши данные указывают на то, что этот переход может происходить непосредственно после преко кондиционирования сдавлением ногтевого ложа.

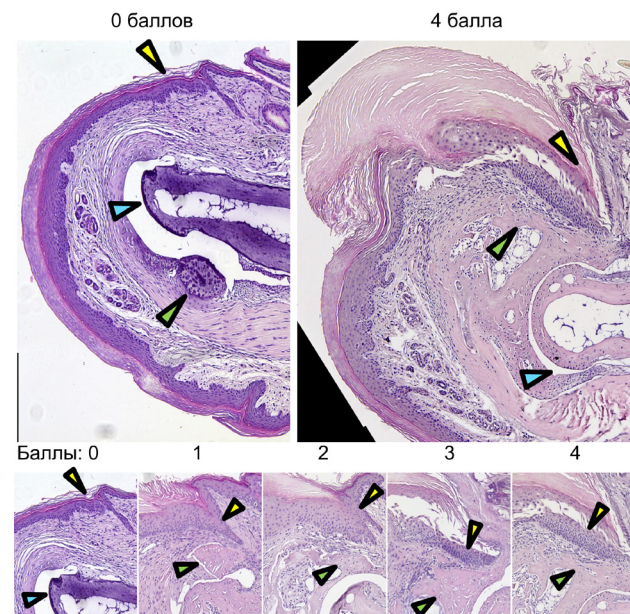


Рис. 6. Гистологическая оценка кончиков пальцев с различными баллами регенерации (ГЭ, 10х Об.). 0, 1, 2, 3, 4 – баллы регенерации, синий треугольник – кость P2 (вторая фаланга пальца), зеленый треугольник – кость P3 (костные структуры дистальной, третьей фаланги), желтый треугольник – эпителий

Fig. 6. Histological evaluation of digit tips with different regenerative scores (H&E, 10x Obj). 0, 1, 2, 3, 4 – regenerative scores, blue triangle – P2 bone (second finger's phalanx), green triangle – P3 bone (bone structures of distal, third phalanx), yellow triangle – epithelium

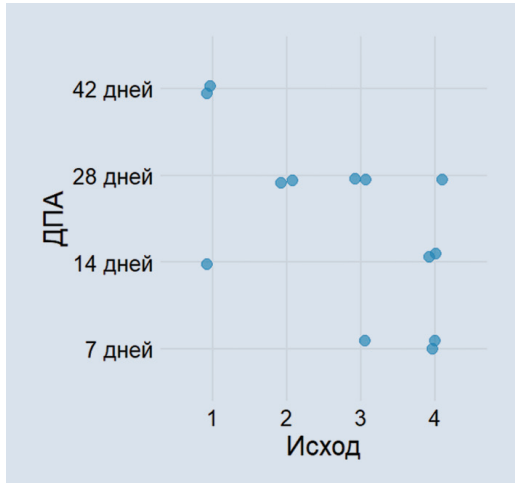


Рис. S1. Степень регенерации коррелирует с ранним появлением ногтя. Точечная диаграмма, характеризующая связь между днем после ампутации, когда может быть обнаружен ноготь (ДПА), и баллом регенерации, коэффициент корреляции Спирмена $r = -0,61$, критерий Кохрана – Мантеля – Хензеля, $p = 0,025$

Fig. S1. Regenerative score correlates with early nail appearance. Scatter plot, characterizing relationship of days post amputation, when nail can be detected (DPA) and regenerative score, Spearman $r = -0.61$, Cochran–Mantel–Haenszel test p -value=0.025

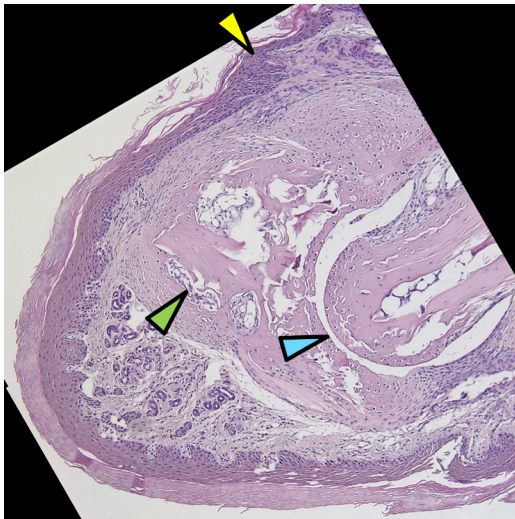


Рис. S2. Гистологическая оценка кончика пальца с сохраненной костью P3 и нерегенеративным исходом (ГЭ, 10x Об.). Синий треугольник – кость P2 (вторая фаланга пальца), зеленый треугольник – кость P3 (костные структуры дистальной, третьей фаланги), желтый треугольник – эпителий

Fig. S2. Histological evaluation of digit tip with saved P3 bone and non-regenerative outcome (H&E, 10x Obj). Blue triangle – P2 bone (second finger's phalanx), green triangle – P3 bone (bone structures of distal, third phalanx), yellow triangle – epithelium

Сдвиг к частично регенеративным исходам успешно индуцировался независимо от временного интервала между механической окклюзией и ампутацией. Интервалы в 1 час, 1, 3 или 5 дней давали сопоставимый процент частично регенеративных ответов (рис. 3Б, 4Б, 5Б). Эта хронологическая однородность указывает на то, что механизм прекондиционирования обусловлен немедленным острым ответом, запускаемым самой физической травмой. В частности, он может быть связан с быстрым высвобождением ассоциированных с повреждением молекулярных паттернов (DAMPs) или других аларминов [8]. Также мы обнаружили строгую зависимость исходов от силы воздействия — т.е. профиль ответа определялся степенью прекондиционирующего сдавливания. В частности, умеренные уровни сдавливания (25 и 50%) увеличивали частоту частично регенеративных исходов, а чрезмерная компрессия (75%) полностью подавляла возможность регенерации (рис. 5Б).

Выраженная поляризация исходов в ответ на разную силу горметического воздействия подчеркивает, что точный состав, концентрация и пространственное распределение высвобождаемых DAMPs могут иметь решающее значение [10]. В то время как умеренный стрессовый импульс действует как необходимый эндогенный адъювант для мобилизации резидентных прогениторов [11], чрезмерное повреждение превышает критический порог, индуцируя массовый некроз и некроптоз [12, 13], которые, как правило, не ассоциированы с регенерацией.

Следует отметить и опыт отечественных исследователей Л.В. Полежаева и М.И. Ефимова, в работах которых активно исследовалась и экспериментально подтверждалась концепция «разблокировки» регенераторного потенциала тканей у млекопитающих с помощью повреждения, являющегося мощным физическим и регуляторным стимулом, меняющим тканевые и клеточные программы. Именно «разрушение ткани» зачастую рассматривалось как метод перевода ее в компетентное к регенерации состояние, в т.ч. и на моделях травмы конечности.

Представленные в работе гипотезы, таким образом, могут в дальнейшем быть основой ценных наблюдений в соответствующих экспериментах. Для картирования специфических профилей DAMPs и клеточных ответов, генерируемых

при прекондиционировании, необходимы дальнейшие исследования. Ограничениями работы остаются в ряде случаев описательный характер наблюдений и отличия анатомии мыши от человекообразных приматов, однако расшифровка сигнальных путей и ответов различных клеточных типов, вовлеченных в эту реакцию, расши-

рит наше понимание механизмов эпиморфной регенерации у млекопитающих. В перспективе развитие предлагаемого направления может дать практическую пользу в плане создания методов про-регенеративной фармакологической подготовки перед хирургическими вмешательствами.

Литература

1. Quijano LM, Lynch KM, Allan CH, Badylak SF, Ahsan T. Looking Ahead to Engineering Epimorphic Regeneration of a Human Digit or Limb. *Tissue Eng Part B Rev.* 2016;22(3):251–262. DOI: 10.1089/ten.TEB.2015.0401. PMID: 26603349; PMCID: PMC4892205.
2. Jou V, Lehoczy JA. Toeing the line between regeneration and fibrosis. *Front Cell Dev Biol.* 2023;11:1217185. DOI: 10.3389/fcell.2023.1217185. PMID: 37325560; PMCID: PMC10267333.
3. Yu L, Yan M, Scaturro KZ, et al. Digit regeneration in mice is stimulated by sequential treatment with FGF2 and BMP2. *Nat Commun.* 2026;17:5346. DOI: 10.1038/s41467-026-72066-8.
4. Mui BWH, Wong JJY, Dumas CE, Wang JH, Bray T, Hirose K, et al. Hyaluronic acid and tissue mechanics orchestrate mammalian digit tip regeneration. *Science.* 2026;392(6794):eady3136. DOI: 10.1126/science.ady3136. PMID: 41955369; PMCID: PMC7619039.
5. Jou V, Semelsberger SD, Smerczynski J, Lehoczy JA. Mouse digit AAV gene delivery into fibroblasts regulates regenerative outcome. *Sci Adv.* 2026;12(2):eadz0229. DOI: 10.1126/sciadv.adz0229. PMID: 41499500; PMCID: PMC12778066.
6. Ran R, Xu H, Lu A, Bernaudin M, Sharp FR. Hypoxia preconditioning in the brain. *Dev Neurosci.* 2005;27(2–4):87–92. DOI: 10.1159/000085979. PMID: 16046841.
7. Chacko SM, Ahmed S, Selvendiran K, Kuppusamy ML, Khan M, Kuppusamy P. Hypoxic preconditioning induces the expression of prosurvival and proangiogenic markers in mesenchymal stem cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2010;293:C1562–C1570. DOI: 10.1152/ajpcell.00221.2010.
8. Vénéreau E, Ceriotti C, Bianchi ME. DAMPs from Cell Death to New Life. *Front Immunol.* 2015;6:422. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00422. PMID: 26347745; PMCID: PMC4539554.
9. Poss KD, Tanaka EM. Hallmarks of regeneration. *Cell Stem Cell.* 2024;31(9):1244–1261. DOI: 10.1016/j.stem.2024.07.007. PMID: 39163854; PMCID: PMC11410156.
10. Calabrese EJ, Baldwin LA. Hormesis: the dose-response revolution. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003;43:175–197. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140223. PMID: 12195028.
11. Garg K, Corona BT, Walters TJ. Therapeutic strategies for targeting DAMPs in muscle injury and regeneration. *J Immunol Res.* 2015;2015:827014.
12. Chen S, Lv X, Hu B, Shao Z, Wang B, Ma K, et al. RIPK1/RIPK3/MLKL-mediated necroptosis contributes to compression-induced rat nucleus pulposus cells death. *Apoptosis.* 2017;22(5):626–638. DOI: 10.1007/s10495-017-1358-2. PMID: 28289909.
13. Gafar Abubakir Osman H, Elfatih Elbadri M, Hamadelniel Alhadi IA, Ibrahim AS, Ayyub A, Mohamed A, et al. Crush Syndrome and Systemic Necrosis in Trauma Patients: A Systematic Review of Pathophysiology, Anatomical Impact, and Renal Outcomes. *Cureus.* 2025;17(8):e89592. DOI: 10.7759/cureus.89592. PMID: 40922840; PMCID: PMC12414133.

Об авторах

Цветков Роман Игоревич — лаборант-исследователь Лаборатории медицинской биотехнологии Медицинского научно-образовательного института МГУ имени М.В. Ломоносова.

Попов Владимир Сергеевич — к.б.н., заведующий Межфакультетской научно-исследовательской лабораторией трансляционной медицины Медицинского научно-образовательного института МГУ имени М.В. Ломоносова.

Шилова Алёна Александровна — лаборант-исследователь Межфакультетской научно-исследовательской лаборатории трансляционной медицины Медицинского научно-образовательного института МГУ имени М.В. Ломоносова.

Еремичев Роман Юрьевич — к.м.н., старший научный сотрудник Лаборатории медицинской биоинженерии Медицинского научно-образовательного института МГУ имени М.В. Ломоносова.

Макаревич Павел Игоревич — д.м.н., профессор РАН, заведующий лабораторией медицинской биоинженерии Медицинского научно-образовательного института МГУ имени М.В. Ломоносова; доцент кафедры биохимии и регенеративной биомедицины Факультета фундаментальной медицины Медицинского научно-образовательного института МГУ имени М.В. Ломоносова.

Authors

Roman I. Tsvetkov — Research Lab Assistant, Laboratory of Medical Bioengineering, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University.

Vladimir S. Popov — Cand. Sci. (Biology), Head of Laboratory, Interfaculty Research Laboratory of Translational Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University.

Alyona A. Shilova — Assistant Researcher, Interfaculty Research Laboratory of Translational Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University.

Roman Yu. Eremichev — Cand. Sci. (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Medical Bioengineering, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University.

Pavel I. Makarevich — Dr. Sci. (Medicine), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of Laboratory of Medical Bioengineering, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University

Вклад авторов

Р.И. Цветков — сбор, анализ и интерпретация данных, составление статьи.

В.С. Попов — концепция или дизайн работы, сбор данных.

А.А. Шилова — сбор, анализ и интерпретация данных.

Р.Ю. Еремичев — концепция или дизайн работы, анализ и интерпретация данных, составление и итоговая переработка статьи.

П.И. Макаревич — концепция или дизайн работы, составление статьи, окончательное утверждение версии для публикации.

Author contribution statement

R.I. Tsvetkov — data collection, analysis and interpretation, drafting the article.

V.S. Popov — study conception or design, data collection.

A.A. Shilova — data collection, analysis and interpretation.

R.Yu. Eremichev — study conception or design, data analysis and interpretation, drafting and final revision of the article.

P.I. Makarevich — study conception or design, drafting the article, final approval of the manuscript.