

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ-5 НА ФОРМИРОВАНИЕ ЛЕГКИХ ПРИ ЛОЖНОЙ ДИАФРАГМАЛЬНОЙ ГРЫЖЕ ПЛОДОВ КРЫС

Косовцова Н. В.^{1,2,3}, Бируля Н. И.^{1,2}, Овсянников Ф. А.³,
Хацко С. Л.¹, Зеленина Е. В.¹, Федоренко А. В.¹

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Овсянников Филипп Андреевич,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: sivers1@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 25.04.2024
и принята к печати 29.08.2024.

Резюме

Актуальность. Гипоплазия легких и персистирующая легочная гипертензия при ложной диафрагмальной грыже являются причиной неблагоприятных перинатальных исходов. Неудовлетворенность исходами внутриутробной хирургической коррекции врожденной диафрагмальной грыжи (ВДГ) определяет поиск альтернативных нехирургических пренатальных методов лечения легочной гипоплазии при ВДГ. **Цель.** Изучить влияние обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа (тадалафила) на развитие легких плодов крыс в модели врожденной диафрагмальной грыжи. **Материалы и методы.** Проведено экспериментальное исследование возможности коррекции гипоплазии легких у плодов крыс при моделировании ложной диафрагмальной грыжи нитрофеном (100 мг перорально, однократно на 9-й день беременности). **Результаты.** Врожденная диафрагмальная грыжа была зафиксирована у 12,5 % потомства. Подкожное введение обратного селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа (ОСИ ФДЭ-5) беременным крысам (0,83 мг/кг тадалафила с расчетом на массу тела и коэффициент пересчета на вид лабораторного животного, в течение 10 дней, с 9-го дня беременности) увеличило количество альвеол в легких плодов (на 22 % при $p \leq 0,05$), увеличило площадь сосудов микроциркуляторного русла и объем паренхимы легких (на 1,25 % и на 1,13 % больше соответственно, при $p \leq 0,05$). **Заключение.** Полученные результаты проведенного впервые в Российской Федерации эксперимента по изучению влияния тадалафила на легкие при врожденной диафрагмальной грыже плода сопоставимы с данными авторов, использовавших силденафил, однако применение тадалафила представляется более оптимальным ввиду удобства его введения при потенциальном применении на практике.

Ключевые слова: беременность, гипоплазия легких, крысы, ложная диафрагмальная грыжа, нитрофен, тадалафил.

Для цитирования: Косовцова Н.В., Бируля Н.И., Овсянников Ф.А. и др. Влияние селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы-5 на формирование легких при ложной диафрагмальной грыже плодов крыс. Трансляционная медицина. 2024; 11(5): 456-464. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-456-464. EDN: FOVBQY

EFFECT OF TADALAFIL ON PULMONARY HYPOPLASIA IN CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIA OF RAT FETUSES

Natalia V. Kosovtsova^{1,2,3}, Natalia I. Birulya^{1,2},
Filipp A. Ovsyannikov³, Sergey L. Khatsko¹, Ekaterina V. Zelenina¹,
Anastasia V. Fedorenko¹

Corresponding author:

Filipp A. Ovsyannikov,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: sivers1@yandex.ru

¹ Ural Federal University named after the first President of Russia
B. N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

² Research Institute for Maternal and Child Health, Yekaterinburg,
Russia

³ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Received 25 April 2024, accepted 29 August
2024.

Abstract

Background. Pulmonary hypoplasia and persistent pulmonary hypertension in congenital diaphragmatic hernia are the cause of adverse perinatal outcomes. Dissatisfaction with the outcomes of intrauterine surgical correction of CDH determines the search for alternative non-surgical prenatal methods of treating pulmonary hypoplasia in CDH. **Objective.** To study the effect of a reversible selective inhibitor of specific phosphodiesterase type 5 (tadalafil) on the development of fetal lungs in rats in a model of congenital diaphragmatic hernia. **Design and methods.** An experimental study was conducted on the possibility of correcting fetal lung hypoplasia in rats when modeling a diaphragmatic hernia with nitrophen (100 mg orally, once on the 9th day of pregnancy). **Results.** Congenital diaphragmatic hernia was recorded in 12.5 % of offspring. Subcutaneous administration of tadalafil to pregnant rats (0,83 mg/kg, for 10 days, from the 9th day of pregnancy) in the lungs of fetuses increases the number of alveoli (by 22 % at $p \leq 0.05$), the area of microvasculature vessels and the volume of lung parenchyma increases (by 1.25 % and 1.13 % more (at $p \leq 0.05$)). **Conclusion.** The results obtained from the first experiment conducted in the Russian Federation to study the effect of tadalafil on the lungs in congenital diaphragmatic hernia of the fetus are comparable with the data of the authors who used sildenafil, however, the use of tadalafil seems more optimal due to the ease of its administration for potential practical use.

Key words: congenital diaphragmatic hernia, nitrophen, pregnancy, pulmonary hypoplasia, rats, tadalafil.

For citation: Kosovtsova NV, Birulya NI, Ovsyannikov FA, et al. Effect of tadalafil on pulmonary hypoplasia in congenital diaphragmatic hernia of rat fetuses. Translational Medicine. 2024; 11(5): 456-464. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-456-464. EDN: FOVBQY

Список сокращений: ВДГ — врожденная диафрагмальная грыжа, ОСИ ФДЭ-5 — таблетки, покрытые пленочной оболочкой, действующее вещество — тадалафил, ФДЕ-5 — фосфодиэстераза-5, eNOS — эндотелиальная синтаза оксида азота (endothelial nitric oxide synthase), FETO — фетоскопическая эндолюминальная баллонная окклюзия трахеи (fetoscopic endoluminal tracheal occlusion), VEGF — фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor).

Введение

Врожденная диафрагмальная грыжа (ВДГ) является дефектом, встречающимся с частотой от 0,5 до 5,0 на 10 000 новорожденных и характеризующимся неполным формированием диафрагмы на ранних сроках беременности, что вызывает перемещение органов брюшной полости в грудную клетку и создает конкуренцию за пространство в грудной полости, что приводит к гипоплазии легких с выраженной легочной гипертензией с последующими неблагоприятными исходами [1]. На сегодняшний день проблема внутриутробной коррекции гипоплазии легких при ВДГ остается нерешенной, предпочтительным методом является фетоскопическая эндолюминальная баллонная окклюзия трахеи (FETO) с использованием чрескожного доступа, но выживаемость плодов с применением данного метода увеличивается лишь на 13–15 % [2]. Многоцентровое рандомизированное исследование фетальной хирургии диафрагмальной грыжи показало, что FETO может иметь серьезные последствия как при выполнении операции, так и в послеоперационном периоде: трудности окклюзии, приводящие к смерти плода или повреждению трахеи, значительное возрастание риска родового разрыва плодных оболочек и преждевременных родов [2]. Неудовлетворенность исходами внутриутробной хирургической коррекции определяет поиск альтернативных нехирургических пренатальных методов лечения легочной гипоплазии при ВДГ.

Исследования внутриутробной медикаментозной коррекции гипоплазии легких при помощи селективных ингибиторов фосфодиэстеразы-5 представляют интерес, поскольку в клинической практике их применение у пациентов с легочной гипертензией, в том числе у беременных [3], оказывает антиремоделирующий и вазодилатирующий эффекты. У крыс с нитрофен-индуцированной ВДГ пренатальное лечение силденафилом, назначенное беременной самке, привело к значительному росту легких и улучшению морфологии дыхательных путей и сосудов легких, увеличило экспрессию фак-

тора роста эндотелия сосудов (VEGF) и эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), что позволило обеспечить надлежащий органогенез легких [4]. При этом пренатальное ингибирование ФДЭ-5 не влияет на развитие других органов, экспрессирующих ФДЭ-5 [5–7]. Последующие исследования на нитрофен-индуцированной модели ВДГ у крыс, а также на хирургических моделях кроликов и овец показали, что пренатальное лечение силденафилом эффективно ингибирует фосфодиэстеразу-5 плода, улучшает рост и развитие легочных сосудов, уменьшает ремоделирование гладкой мускулатуры сосудов и улучшает ее реактивность. Данные исследования показывают, что пренатальное лечение ингибиторами ФДЭ-5 может улучшать многие из ключевых морфологических и физиологических механизмов легочной гипертензии, связанных с ВДГ [4]. Также в экспериментах на животных используется другой фармакологический препарат из группы ингибиторов ФДЭ-5 — тадалафил. Тадалафил является более селективным ингибитором ФДЭ-5 с более длительным периодом полувыведения, что позволяет длительно поддерживать стабильную концентрацию вещества и сократить количество введений [5]. По данным литературы, проводились клинические исследования безопасности обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа при лечении преэклампсии и синдрома задержки роста плода [6, 7], в которых была показана его эффективность и отсутствие побочных эффектов в сравнении со стандартной терапией. Мы предположили, что тадалафил будет эффективно профилактировать гипоплазию легких при ложной диафрагмальной грыже.

При дальнейшем изучении антенатальное ингибирование ФДЭ-5 может стать неинвазивным внутриутробным методом лечения ВДГ.

Цель исследования — изучить влияние обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа (тадалафила) на развитие легких плодов крыс в модели врожденной диафрагмальной грыжи.

Методика

Все процедуры и протоколы были одобрены комиссией по биоэтике Института естественных наук и математики ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б. Н. Ельцина». В исследовании использовали 20 нерожавших самок крыс линии Wistar (4–6 мес., 150–200 г), животные разведения анатомо-физиологической экспериментальной лаборатории УрФУ. Предварительно все животные были промаркированы нанесением

ушной метки. Крыс размещали в группах по две-три самки в клетке с самцом, корм и вода были в свободном доступе. Самки содержались в стандартных лабораторных условиях при постоянной температуре (21° С) и 12-часовом цикле дня и ночи. Через 8 дней после спаривания самки получили эфирный наркоз в эксикаторе, их шерсть на участке передней брюшной стенки размерами 3,0 x 3,0 см была депилирована восковыми полосками («Просто шугаринг», Россия). На 9-й день крысам при дополнительной фиксации на депилированную кожу живота наносили гель и проводили ультразвуковое исследование брюшной полости (ультразвуковой аппарат Mindray DC-40) линейным датчиком (частота 3–15 МГц) для определения наличия беременности и ее срока. В случае неподтвержденной беременности УЗИ проводили ежедневно, до того момента, пока размеры плодов не будут соответствовать 9-му дню беременности.

Крысы со сроком беременности 9 дней были разделены на четыре группы: *первая группа* (контрольная группа) не подвергалась введению нитрофена и ОСИ ФДЭ-5; *вторая группа* получала только нитрофен (100 мг) на 9-й день — согласно крысиной модели ВДГ [8]; *третья группа* получала только ОСИ ФДЭ-5 (0,83 мг/кг тадалафила с расчетом на массу тела и коэффициент пересчета на вид лабораторного животного [9]) ежедневно, начиная с 9-го дня беременности в течение 10 дней; *четвертая группа* получала нитрофен (100 мг) на 9-й день и ОСИ ФДЭ-5 (0,83 мг/кг тадалафила с расчетом на массу тела и коэффициент пересчета на вид лабораторного животного) ежедневно, в течение 10 дней, начиная с 9-го дня беременности (рис. 1, 2).

В эксперименте использовали нитрофен (2,4-дихлорфенил-4-нитрофениловый эфир, «ЭКУМ», Россия), концентрация которого равна $41 \pm 3 \%$ (100мг нитрофена = 0,25 мл раствора).

0,25 мл раствора нитрофена смешивали с 1 мл оливкового масла и вводили крысам второй и четвертой группы однократно перорально на 9-й день беременности инсулиновым шприцем без иглы. После этой процедуры не было никаких признаков рефлюкса или регургитации, и все животные перенесли ее без осложнений [10].

ОСИ ФДЭ-5 (таблетки, покрытые пленочной оболочкой, действующее вещество: тадалафил, 5 мг, 10 шт., «Северная звезда НАО», Россия) измельчали в керамической ступке, 1 таблетку смешивали с 10 мл раствора натрия хлорида (раствор для инъекций 0,9 %), после чего выполняли подкожную инъекцию суспензии крысам третьей и четвертой групп (0,83 мг/кг тадалафила с расчетом на массу тела и коэффициент пересчета на вид лабораторного животного) в асептических условиях. Далее проводили ультразвуковое исследование ежедневно для оценки развития плодов и целостности их диафрагмы, при обнаружении КТР 18 мм (что соответствует 20-му дню беременности) осуществляли эвтаназию путем передозировки ингаляционного наркоза (диэтиловый эфир и хлороформ) в эксикаторе.

После прекращения сердечной деятельности крысе-самке производили кесарево сечение и извлекали плоды. Проводили торакотомию и лапаротомию последних для осмотра диафрагмы, выявления диафрагмальной грыжи.

От животных контрольной (первой) группы было получено 40 плодов, второй группы (получавшей нитрофен) — 35 плодов, третьей группы (получавшей ОСИ ФДЭ-5) — 35 плодов, четвертой группы (получавшей ОСИ ФДЭ-5 и нитрофен) — 32 плода (рис. 1).

Извлеченные плоды были зафиксированы в 10 % нейтральном забуференном растворе формалина, после 24-часовой фиксации проводили макроскопическое исследование плодов крыс (рис.



Рис. 1. Дизайн эксперимента

Figure 1. Experimental design

3). Затем проводили гистологическую проводку материалов по стандартному протоколу, заливку образцов парафином (при температуре не более 60 °C) на заливочной станции (HistoStar, Thermo FS) в парафиновые блоки. На полуавтоматическом санном микротоме (Thermo) получены гистологические срезы толщиной 4 ± 1 мкм, которые впоследствии были монтированы на предметные стекла («Минимед», СП-7105), осушены и окрашены гистологическими красителями гематок-

силином и эозином (Biovitrum). Светооптическое исследование выполнено на микроскопе Olympus (Olympus CX22) с камерой (Микромед TourCam). Исследование сосудов микроциркуляторного русла осуществлено методом компьютерной морфометрии с фотографированием при использовании программного пакета ImageJ со свободной лицензией. Была изучена площадь сосудов микроциркуляторного русла при увеличении $\times 400$ на одно поле зрения (в процентах), в пяти полях зрения каждого

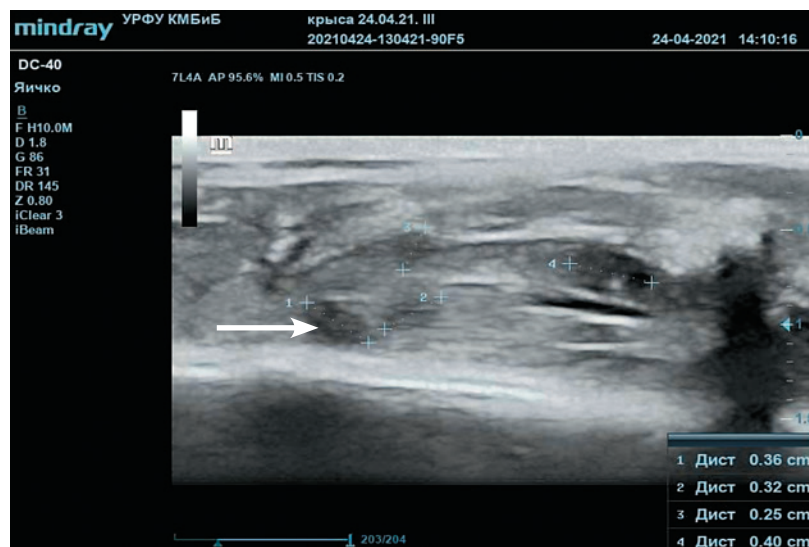


Рис. 2. УЗ-изображение, правый рог матки, плоды 1, 2, 3, 4

Figure 2. Ultrasound image, right horn of the uterus, fetuses 1, 2, 3, 4



а



б

Рис. 3. Вскрытые плоды: а — с визуализируемой диафрагмой, б — с обширным дефектом диафрагмы

Figure 3. Opened fetuses: a — with a visualized diaphragm, b — with an extensive diaphragm defect

гистологического препарата. Р-уровень значимости был рассчитан с помощью онлайн-калькулятора через t-критерий Стьюдента при сравнении средних величин.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования было получено 142 плода крыс. При микроскопическом изучении легкие плодов крыс всех исследованных групп находились на сакулярной стадии развития, что соответствовало 20–21-му дню внутриутробного развития.

У 35 плодов из третьей группы (получавших только тадалафил) и 40 плодов из первой (контрольной) группы диафрагмальная грыжа и гипоплазия легких не обнаружены. Среди 35 крысят, получавших нитрофен, диафрагмальная грыжа была выявлена у 7 (20 %). Среди 32 крысят, родившихся от самок, подвергавшихся воздействию нитрофена и тадалафила во время беременности, у 4 была выявлена диафрагмальная грыжа (12,5 %), при этом макроскопические медианные размеры легких у плодов первой группы составили 1,2 x 0,5 x 0,45 см, у плодов второй группы, получавших нитрофен, — 1,0 x 0,5 x 0,5 см, у плодов третьей группы, получавших тадалафил, — 1,2 x 0,6 x 0,5 см, у плодов четвертой группы, получавших тадалафил и нитрофен, — 1,3 x 0,6 x 0,5 см (табл. 1). Были выявлены достоверные различия между объемами легких у плодов крыс первой и третьей, второй и четвертой групп, получавших тадалафил, и контрольной группой; также между четвертой группой, получавшей тадалафил и нитрофен, и второй группой, получавшей нитрофен (табл. 1).

Линейные размеры легких плодов крыс из третьей и четвертой групп оказались больше в сравнении с образцами из контрольной и второй групп. Кроме того, при приеме тадалафила на фоне врожденной диафрагмальной грыжи (четвертая

группа) наблюдается увеличение макроскопических размеров легкого относительно плодов, получавших только нитрофен. Однако статистически значимой разницы между линейными размерами легких плодов крыс не обнаружено. Выявлены достоверные различия по объему легких между группой плодов, получавших тадалафил, и контрольной группой; также между четвертой группой, получавшей тадалафил и нитрофен, и второй группой, получавшей нитрофен.

Клеточный состав эпителиальной выстилки в легких плодов всех четырех групп представлен однослойным кубическим эпителием с монотипными округлыми ядрами, цитоплазма светлая, количество митозов эпителиального компонента: в контрольной и во второй группах — от 1 до 2 в одном поле зрения при увеличении x400, в третьей и четвертой группах — от 5 до 8 в одном поле зрения при увеличении x400. Строма легких плодов всех четырех групп представлена веретеновидными клетками с палочковидными вытянутыми ядрами и светлой цитоплазмой, при этом количество митозов в контрольной и второй группах — от 0 до 1 в поле зрения при увеличении x400, в третьей и четвертой группах — от 2 до 5 в одном поле зрения при увеличении x400.

При исследовании сосудов микроциркуляторного русла в легких плодов крыс из контрольной группы сосуды микроциркуляторного русла составляли в среднем 2,27 % от общей площади поля зрения, из второй группы (плоды с ВДГ) — 1,56 %.

При исследовании легких плодов крыс из третьей группы, получавших тадалафил, отмечается значительное увеличение площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла, — среднее значение 3,52 % — по сравнению с контрольной группой: на 1,25 %, а при приеме животными тадалафила на фоне нитрофен-индуцированной

Таблица 1. Макроскопические параметры легких плодов крыс

Table 1. Macroscopic parameters of rat fetal lungs

	Контрольная группа	Вторая группа (нитрофен)	Третья группа (тадалафил)	Четвертая группа (нитрофен, тадалафил)
Медианные размеры	1,2 x 0,5 x 0,45	1,0 x 0,5 x 0,5	1,2 x 0,6 x 0,5	1,3 x 0,6 x 0,5
Объем, см ³	0,2728 ± 0,0643	0,2319 ± 0,0314	0,3331 ± 0,1169 ^a	0,3637 ± 0,1339 ^b

Примечание: а — $p < 0,05$ по сравнению с контролем; b — $p < 0,05$ по сравнению со второй группой (получавшей нитрофен).

Note: a — $p < 0,05$ compared to the control; b — $p < 0,05$ compared with the second group (receiving nitrofen).

Таблица 2. Микроскопические показатели легких плодов крыс

Table 2. Microscopic indices of rat fetal lungs

	Плоды контрольной группы	Плоды второй группы (нитрофен)	Плоды третьей группы (тадалафил)	Плоды четвертой группы (тадалафил и нитрофен)
Процент площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла, в легких плодов крыс на одно поле зрения, при увеличении $\times 400$, %	$2,269 \pm 0,4811$	$1,562 \pm 0,5237$	$3,7019 \pm 1,0809^a$	$2,564 \pm 0,6214^b$
Количество альвеол в одном поле зрения при увеличении $\times 400$, n	$19,4 \pm 2,7568$	$12,9 \pm 1,8681$	$14,7 \pm 2,1933^a$	$21,883 \pm 1,3425^b$

Примечание: а — $p < 0,05$ по сравнению с контролем, b — $p < 0,05$ по сравнению со второй группой (получавшей нитрофен).

Note: a — $p < 0,05$ compared to the control, b — $p < 0,05$ compared with the second group (receiving nitrofen).

врожденной диафрагмальной грыжи (третья группа) у плодов наблюдается увеличение процента площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла, на 1,0 % в сравнении со второй группой (нитрофен) и составляет 2,56 %. При этом, при исследовании легких плодов крыс с диафрагмальной грыжей (вторая группа), процент площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла, достоверно меньше показателей контрольной группы в 1,4 раза и составляет 1,56 % (табл. 2).

Количество альвеол в контрольной группе составляет 19,4 на одно поле зрения; у плодов с ВДГ данный показатель в среднем меньше на 6,5 (табл. 2). При этом количество альвеол в поле зрения у плодов четвертой группы на 2,5 больше — в сравнении с контрольной группой, и на 8,99 больше, чем у плодов с ВДГ (табл. 2).

При исследовании внутренних органов плодов крыс — они соответствовали сроку гестации, не было обнаружено существенных гистологических изменений.

Таким образом, нами доказано положительное влияние обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа — тадалафила на легкие плодов крыс с ложной диафрагмальной грыжей.

За рубежом проводились многочисленные исследования по влиянию силденафила на плоды с ВДГ различных видов животных [13, 14].

У крыс с нитрофен-индуцированной ВДГ пренатальное применение силденафила, назначенное

беременной самке, привело к значительному росту легких и улучшению морфологии дыхательных путей и сосудов легких, увеличило экспрессию VEGF и эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), а также усилило постнатальный ответ на донор оксида азота, что позволило обеспечить надлежащий органогенез легких [11, 12].

Важно отметить, что пренатальное ингибирование ФДЭ-5 не влияет на развитие других органов, экспрессирующих ФДЭ-5 [11, 12].

Последующие исследования на нитрофен-индуцированной крысиной модели ВДГ, а также на хирургических моделях кроликов и овец показали, что пренатальное лечение силденафилом эффективно ингибирует фосфодиэстеразу-5 плода, улучшает рост и развитие легочных сосудов, уменьшает ремоделирование гладкой мускулатуры сосудов и улучшает реактивность гладкой мускулатуры. Результаты исследований показывают, что пренатальное лечение ингибиторами ФДЭ-5 может улучшать многие из ключевых морфологических и физиологических механизмов легочной гипертензии, связанных с ВДГ [11, 12].

Это определяет дальнейшее изучение антенатального ингибирования ФДЭ-5 для формирования/создания жизнеспособной стратегии лечения для человека.

Мы использовали в эксперименте другой фармакологический препарат из группы ингибиторов ФДЭ-5 — тадалафил. В сравнении с силденафилом это более сильный селективный ингибитор

ФДЭ-5 с более длительным периодом полувыведения (17,5 часа и 3–5 часов соответственно), что позволяет с течением времени поддерживать стабильную концентрацию вещества. Силденафил в десятки раз чаще, чем тадалафил, ингибирует ФДЭ-1, что потенциально может вызвать гипотензию, которая, в свою очередь, может стать причиной маточно-плацентарной недостаточности, однако экспериментальные подтверждения к настоящему моменту отсутствуют. Другое преимущество тадалафила состоит в возможности использования меньшей суточной дозы для достижения терапевтического эффекта, так как он является более сильным ингибитором фосфодиэстеразы-5: ингибирующая концентрация тадалафила 0,94–6,4 нмоль/л, в то время как силденафила — 3,5–8,5 нмоль/л [13].

Перспективность применения ингибиторов фосфодиэстеразы, а именно препарата тадалафил, состоит в том, что, по имеющимся данным, они безопасны для матери и плода [14].

В нашем исследовании мы применили нитрофеновую модель, которая использовалась в течение последних трех десятилетий для изучения аномалий при ВДГ. Первоначально нитрофен (2,4-дихлорфенил-п-нитрофениловый эфир) использовался в качестве гербицида. В ходе токсикологических исследований на взрослых крысах не было обнаружено никаких явных проблем, хотя введение нитрофена в середине беременности вызвало аномалии развития сердца, легких, диафрагмы и скелета эмбрионов [15]. Основываясь на последних результатах, нитрофен был исследован на предмет его эффективности для моделирования аномалий ВДГ у грызунов: он вызывал диафрагмальные грыжи, которые были подобны ВДГ у человека. Конкретное расположение и степень диафрагмальных дефектов и аномалии, связанные с ВДГ, включая ЛГ и стойкую легочную гипертензию, а также сердечно-сосудистые и скелетные дефекты схожи с человеческими [16]. При введении нитрофена беременным крысам на 9-й день беременности, когда нормальное развитие легких (11-й день беременности) и диафрагмы (13-й день беременности) только начинается, приблизительно у 70 % потомства вызывает развитие ВДГ и у 100 % — ЛГ. Но в нашем исследовании при использовании промышленного нитрофена (2,4-дихлорфенил-4-нитрофениловый эфир, изготовитель «ЭКУМ»), с концентрацией $41 \pm 3 \%$, более доступного для приобретения, мы получили более низкий процент диафрагмальной грыжи и легочной гипертензии у плодов (20 %), что требует увеличения выборки животных при продолжении эксперимента.

Продemonстрированные нашим экспериментом результаты показали, что при использовании нитрофеновой модели диафрагмальной грыжи у плодов крыс подкожное введение тадалафила привело к значительному росту легких: за счет как паренхиматозного компонента — увеличение количества альвеол, так и стромального — увеличение количества сосудов микроциркуляторного русла.

Заключение

Результаты проведенного впервые в Российской Федерации эксперимента по изучению влияния тадалафила на легкие при врожденной диафрагмальной грыже сопоставимы с данными авторов, использовавших силденафил, однако применение тадалафила представляется более оптимальным ввиду удобства его введения при потенциальном применении на практике. Введение обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа — тадалафила вызывает увеличение количества альвеол на 22 %, $p \leq 0,05$, усиливает ангиогенез в легких плодов крыс, улучшает структуру легких, что проявляется в увеличении объема паренхимы на 1,13 %, $p \leq 0,05$, и не оказывает влияния на органогенез, что требует дальнейшего изучения на больших группах экспериментальных животных и в клинической практике.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Chandrasekharan PK, Rawat M, Madappa R, et al. Congenital Diaphragmatic hernia — a review. *Maternal health, neonatology and perinatology*. 2017; 11:3:6. DOI:10.1186/s40748-017-0045-1.
2. Deprest JA, Benachi A, Gratacos E, et al. Randomized Trial of Fetal Surgery for Moderate Left Diaphragmatic Hernia. *PLJ N Engl J Med*. 2021; 385:2: 119–129. DOI: 10.1056/NEJMoa2026983.
3. De Bie FR, Basurto D, Kumar S, et al. Sildenafil during the 2nd and 3rd Trimester of Pregnancy: Trials and Tribulations. *International journal of environmental research and public health*. 2022; 19:18: 11207. DOI:10.3390/ijerph191811207.
4. Okolo F, Zhang G, Rhodes J, et al. Intra-Amniotic Sildenafil Treatment Promotes Lung Growth and Attenuates Vascular Remodeling in an Experimental Model of Congenital Diaphragmatic Hernia. *Fetal diagnosis and therapy*. 2020; 47:11: 787–799. DOI:10.1159/000508986.
5. Montalva L, Antounians L, Zani A. Pulmonary hypertension secondary to congenital diaphragmatic

hernia: factors and pathways involved in pulmonary vascular remodeling. *Pediatr Res*. 2019; 85: 754–768. DOI: 10.1038/s41390-019-0345-4.

6. Magawa S, Nii M, Tanaka H, et al. Phase-1 clinical study of tadalafil administered for selective fetal growth restriction in twin pregnancy. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*. 2021; 34:7: 1075–1082. DOI:10.1080/14767058.2019.1624717.

7. Furuhashi F, Tanaka H, Maki S, et al. Tadalafil treatment for preeclampsia (medication in preeclampsia; MIE): a multicenter phase II clinical trial. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*. 2021; 34:22: 3709–3715. DOI:10.1080/14767058.2019.1690447.

8. enbrinck R, Tibboel D, Gaillard JL, et al. Experimentally induced congenital diaphragmatic hernia in rats. *Journal of pediatric surgery*. 1999; 25:4: 426–429. DOI: 10.1016/0022-3468(90)90386-n.

9. Kubo M, Tanaka H, Maki S, et al. Safety and dose-finding trial of tadalafil administered for fetal growth restriction: A phase-I clinical study. *The journal of obstetrics and gynaecology research*. 2017; 43:7: 1159–1168. DOI:10.1111/jog.13345.

10. Kluth D, Kangah R, Reich P, et al. Nitrofen-induced diaphragmatic hernias in rats: an animal model. *J Pediatr Surg*. 1990; 25:8: 850–854. DOI: 10.1016/0022-3468(90)90190-k.

11. Lemus-Varela M de L, Soliz A, et al. Antenatal use of bosentan and/or sildenafil attenuates pulmonary features in rats with congenital diaphragmatic hernia. *World journal of pediatrics: WJP*. 2014; 10:4: 354–359. DOI: 10.1007/s12519-014-0512-y.

12. Kardon G, Ackerman KG, McCulley DJ, et al. Congenital diaphragmatic hernias: from genes to mechanisms to therapies. *Disease models & mechanisms*. 2017; 10:8: 955–970. DOI: 10.1242/dmm.028365.

13. Samangaya RA, Mires G, Shennan A, et al. A randomised, double-blinded, placebo-controlled study of the phosphodiesterase type 5 inhibitor sildenafil for the treatment of preeclampsia. *Hypertension in pregnancy*. 2009; 28:4: 369–382. DOI: 10.3109/10641950802601278.

14. Costlow RD, Manson JM. The heart and diaphragm: target organs in the neonatal death induced by nitrofen (2,4-dichlorophenyl-p-nitrophenyl ether). *Toxicology*. 1981; 20:2–3: 209–227. DOI: 10.1016/0300-483x(81)90052-4.

15. Migliazza L, Otten C, Xia H, et al. Cardiovascular malformations in congenital diaphragmatic hernia: Human and experimental studies. *Journal of pediatric surgery*. 1999; 34:9: 1352–1358. DOI: 10.1016/s0022-3468(99)90010-6.

Информация об авторах:

Косовцова Наталья Владимировна, д.м.н., заведующий отделом биофизических и лучевых методов исследований ФГБУ «НИИ охраны материнства

и младенчества» Минздрава России; профессор кафедры медицинской биохимии и биофизики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина» и кафедры акушерства и гинекологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Бируля Наталья Ильинична, ассистент кафедры медицинской биохимии и биофизики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина»;

Овсянников Филипп Андреевич, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии с клиникой лечебного факультета ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Хацко Сергей Леонидович, к.м.н., заведующий анатомо-физиологической экспериментальной лабораторией ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина»;

Зеленина Екатерина Владимировна, студент медицинского факультета ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина»;

Федоренко Анастасия Викторовна, студент медицинского факультета ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина».

Authors information:

Natalia V. Kosovtsova, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Biophysical and Radiation Research Methods of the Research Institute for Maternal and Child Health; Professor of the Department of Medical Biochemistry and Biophysics of the Ural Federal University and the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Medical Education of the Almazov National Medical Research Centre;

Natalia I. Birulya, assistant of the Department of Medical Biochemistry and Biophysics of the Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin;

Filipp A. Ovsyannikov, PhD, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology with a Clinic of the Faculty of Almazov National Medical Research Centre;

Sergey L. Khatsko, PhD, Head of the Anatomical and Physiological Experimental Laboratory of the Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin;

Ekaterina V. Zelenina, student of the medical faculty of the Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin;

Anastasia V. Fedorenko, student of the medical faculty of the Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin.