



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/497 (2023.02); A61P 11/00 (2023.02); G09B 23/28 (2023.02)

(21)(22) Заявка: 2022124818, 21.09.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.09.2022

Дата регистрации:
11.08.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 21.09.2022

(45) Опубликовано: 11.08.2023 Бюл. № 23

Адрес для переписки:

620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 1, ФГБУ
"НИИ ОММ" Минздрава Росси, патентный
отдел

(72) Автор(ы):

Косовцова Наталья Владимировна (RU),
Бируля Наталья Ильинична (RU),
Хацко Сергей Леонидович (RU),
Зеленина Екатерина Владимировна (RU),
Федоренко Анастасия Викторовна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Уральский
научно-исследовательский институт охраны
материнства и младенчества" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ "НИИ ОММ" Минздрава России)
(RU),
Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Уральский федеральный
университет имени первого Президента
России Б.Н. Ельцина" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2669727 C2, 15.10.2018.

КОСОВЦОВА Н.В. и др. Пренатальные
нехирургические методы лечения легочной
гипоплазии при врожденной диафрагмальной
грыже / РОССИЙСКИЙ ВЕСТНИК
АКУШЕРА-ГИНЕКОЛОГА, 2019, т. 19, N 1,
стр. 46-53. ГАФАРОВ Р.Р. и др.
ИНГИБИТОРЫ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 5
ТИПА - ПЕРВАЯ ЛИНИЯ ТЕРАПИИ
ЭРЕКТИЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ /
Достижения науки и (см. прод.)

(54) СПОСОБ КОРРЕКЦИИ ГИПОПЛАЗИИ ЛЕГКИХ ПРИ ВРОЖДЕННОЙ ДИАФРАГМАЛЬНОЙ ГРЫЖЕ ПЛОДОВ КРЫС С ПРИМЕНЕНИЕМ СЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ФДЭ-5 ЦГМФ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, к области акушерства и гинекологии, пульмонологии, а именно к способу коррекции гипоплазии легких при врожденной диафрагмальной грыже плода

крыс. Способ включает моделирование гипоплазии легких путем перорального введения 100 мг нитрофена на 9-й день беременности и применение ингибитора специфической

фосфодиэстеразы 5 циклического гуанозинмонофосфата - ФДЭ-5 цГМФ для ее коррекции. В качестве ингибитора специфической ФДЭ-5 цГМФ используют тадалафил, который вводят подкожно, начиная с 9-го дня беременности в дозировке 3,3 мг каждые сутки

до 20-го дня беременности. Изобретение обеспечивает улучшение васкуляризации межальвеолярных перегородок и увеличение количества альвеол после применения тадалафила на нитрафен-индуцированной модели ВДГ у крыс. 3 табл.

(56) (продолжение):

образования, 2020, стр. 103-108. ALIPOUR M.R. et al. Comparison of Tadalafil and Sildenafil in Controlling Neonatal Persistent Pulmonary Hypertension / Iran J Pediatr, 2017; 27(1):e6385, 4 pages. SHIVA A. et al. Oral Tadalafil in Children with Pulmonary Arterial Hypertension / Drug Res, 2016; 66, pages 7-10.

RU 2801604 C1

RU 2801604 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 31/497 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 31/497 (2023.02); A61P 11/00 (2023.02); G09B 23/28 (2023.02)(21)(22) Application: **2022124818, 21.09.2022**(24) Effective date for property rights:
21.09.2022Registration date:
11.08.2023

Priority:

(22) Date of filing: **21.09.2022**(45) Date of publication: **11.08.2023 Bull. № 23**

Mail address:

**620028, g. Ekaterinburg, ul. Repina, 1, FGBU "NII
OMM" Minzdrava Rossi, patentnyj otдел**

(72) Inventor(s):

**Kosovtsova Natalia Vladimirovna (RU),
Birulia Natalia Ilinichna (RU),
Khatsko Sergei Leonidovich (RU),
Zelenina Ekaterina Vladimirovna (RU),
Fedorenko Anastasiia Viktorovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe
uchrezhdenie «Uralskii nauchno-issledovatel'skii
institut okhrany materinstva i mladenchestva»
Ministerstva zdravookhraneniia Rossiiskoi
Federatsii (FGBU «NII OMM» Minzdrava
Rossii) (RU),
Federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia «Uralskii federalnyi universitet
imeni pervogo Prezidenta Rossii B.N. Eltsina»
(RU)****(54) METHOD FOR CORRECTION OF PULMONARY HYPOPLASIA IN FETUS CONGENITAL
DIAPHRAGMATIC HERNIA IN RATS USING SELECTIVE INHIBITOR OF SPECIFIC PDE-5 CGMP**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; obstetrics; gynecology;
pulmonology.SUBSTANCE: invention relates to medicine, to the
field of obstetrics and gynecology, pulmonology, and
specifically to a method for pulmonary hypoplasia
correction in fetus congenital diaphragmatic hernia in
rats. The method includes lung hypoplasia simulation
by oral administration of 100 mg of nitrofen on the 9th
day of pregnancy and use of inhibitor of specific
phosphodiesterase 5 cyclic guanosine monophosphate- PDE-5 cGMP for its correction. Use tadalafil as an
inhibitor of specific PDE-5 cGMP, which is
administered subcutaneously, starting from the 9th day
of pregnancy at a dosage of 3.3 mg every day until the
20th day of pregnancy.EFFECT: invention provides improvement of
vascularization of interalveolar septa and increase in
the number of alveoli after the use of tadalafil in a
nitrofen-induced VDH model in rats.

1 cl, 3 tbl

Изобретение относится к медицине, к области акушерства и гинекологии, пульмонологии. Предназначено для антенатальной коррекции состояния жизни и здоровья плода при гипоплазии легких. Применение лекарственного препарата по новому назначению.

- 5 Врожденная диафрагмальная грыжа (ВДГ) – порок развития, характеризующий наличием дефекта диафрагмы, через который в период гестации органы брюшной полости: петли кишечника, желудок, селезенка, часть печени перемещаются в грудную клетку.

- По данным разных авторов, частота встречаемости данной аномалии развития
10 составляет 1 случай на 3000 живорожденных младенцев [1- 1. Gallot D, Boda C, Ughetto S, Perthus I, Robert-Gnansia E, Francannet C, Laurichesse-Delmas H, Jani J, Coste K, Deprest J, et al. Prenatal detection and outcome of congenital diaphragmatic hernia: a French registry-based study. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2007;29(3):276–83.].

- При выраженной степени патологии летальный исход наступает в 71-95% случаев
15 [2- Щеголев А.И. 1 Туманова У.Н. 1 Ляпин В.М. 1 ГИПОПЛАЗИЯ ЛЕГКИХ: ПРИЧИНЫ РАЗВИТИЯ И ПАТОЛОГОАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2017. – № 4 (часть 3) – С. 530-534]].

- Особый интерес представляет ассоциированная с ВДГ патология – гипоплазия легких.
20 Гипоплазией легких обозначают недоразвитие всех структурных элементов легких: бронхов, паренхимы, кровеносных сосудов. Патология возникает на этапах органогенеза, вследствие чего возникает двусторонняя гипоплазия и сжатие легких. Данные процессы приводят к уменьшению ветвления бронхиол и легочных сосудов, развивается ацинарная гипоплазия. Конечные бронхиолы редуцируются, утолщаются
25 альвеолярные перегородки [3- Kirby E, Keijzer R. Congenital diaphragmatic hernia: current management strategies from antenatal diagnosis to long-term follow-up. *Pediatr Surg Int*. 2020 Apr; 36(4):415-429. doi: 10.1007/s00383-020-04625-z. Epub 2020 Feb 18. PMID: 32072236, 4- Caldeira I, Fernandes-Silva H, Machado-Costa D, Correia-Pinto J, Moura RS. Developmental Pathways Underlying Lung Development and Congenital Lung Disorders. *Cells*. 2021 Nov 2;10
30 (11):2987. doi: 10.3390/cells10112987. PMID: 34831210; PMCID: PMC8616556.]. В свою очередь, гипоплазия легочных сосудов приводит к легочной гипертензии, что способствует развитию дисфункции левого и правого желудочков сердца [5- Dao DT, Kamran A, Wilson JM, Sheils CA, Kharasch VS, Mullen MP, Rice-Townsend SE, Zalieckas JM, Morash D, Studley M, Staffa SJ, Zurakowski D, Becker RE, Smithers CJ, Buchmiller TL.
35 Longitudinal Analysis of Ventilation Perfusion Mismatch in Congenital Diaphragmatic Hernia Survivors. *J Pediatr*. 2020 Apr;219:160-166.e2. doi: 10.1016/j.jpeds.2019.09.053. Epub 2019 Nov 5. PMID: 31704054]. [6- Dao DT, Patel N, Harting MT, Lally KP, Lally PA, Buchmiller TL. Early Left Ventricular Dysfunction and Severe Pulmonary Hypertension Predict Adverse Outcomes in "Low-Risk" Congenital Diaphragmatic Hernia. *Pediatr Crit Care Med*. 2020 Jul;21(7):637-646.
40 doi: 10.1097/PCC.0000000000002318. PMID: 32168302; PMCID: PMC7335317.].

- В настоящее время единственным методом пренатальной коррекции гипоплазии легких при ВДГ остается хирургическое лечение, а именно: баллонная окклюзия трахеи плода. Данный метод является инвазивным, трудоемким, недостаточно эффективным. Кроме того, при баллонной окклюзии трахеи плода возможен ряд постоперационных
45 осложнений, в том числе: преждевременные роды, трахеомегалия у плода, неудачные попытки окклюзии трахеи, что в свою очередь, может привести к гибели новорожденного и плода. Поэтому рациональным является поиск альтернативных методов лечения данной патологии.

Данные исследований свидетельствуют о перспективности фармакологических препаратов в качестве коррекции гипоплазии легких при врожденной диафрагмальной грыже. Тем не менее, несмотря на положительные результаты применения некоторых лекарственных средств в экспериментах на животных, внедрение этих методов в

5 клиническую практику на данный момент не может быть осуществлено. Причинами являются тератогенность и другие нежелательные эффекты одних веществ, а также недостаточная изученность других препаратов.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому эффекту к заявляемому способу является способ внутримышечного введения силденафила - препарата той же

10 группы, ингибиторы ФДЭ-5 цГМФ.

Указанный препарат позволяет достичь положительных результатов, а именно, улучшения состояния легочной сосудистой системы, в применении на животной модели гипоплазии легких при ВДГ [7- Gupta VS, Harting MT. Congenital diaphragmatic hernia-associated pulmonary hypertension. Semin Perinatol. 2020 Feb;44(1):151167. doi: 10.1053/j.semperi.2019.07.006. Epub 2019 Jul 30. PMID: 31519366]. У крыс с нитрофен-

15 индуцированной ВДГ пренатальное лечение силденафилом, назначенное беременной матери, привело к значительному росту легких, улучшению морфологии дыхательных путей и сосудов легких [8- Okolo F, Zhang G, Rhodes J, Gittes GK, Potoka DA. Intra-Amniotic Sildenafil Treatment Promotes Lung Growth and Attenuates Vascular Remodeling in an

20 Experimental Model of Congenital Diaphragmatic Hernia. Fetal Diagn Ther. 2020 Jul 14:1-13. doi: 10.1159/000508986. Epub ahead of print. PMID: 32663823].

Последующие исследования на нитрофен-индуцированной крысиной модели ВДГ, а также на хирургических моделях кроликов и овец также показали, что пренатальное лечение силденафилом эффективно ингибирует фосфодиэстеразу 5 плода, улучшает

25 рост и развитие легочных сосудов, уменьшает ремоделирование гладкой мускулатуры сосудов и улучшает реактивность гладкой мускулатуры [9-Montalva L, Antounians L, Zani A. Pulmonary hypertension secondary to congenital diaphragmatic hernia: factors and pathways involved in pulmonary vascular remodeling. Pediatr Res. 2019 May;85(6):754-768. doi: 10.1038/s41390-019-0345-4. Epub 2019 Feb 19. PMID: 30780153].

Задачей настоящего изобретения является дальнейшее изучение патогенеза заболевания и разработка альтернативного патогенетически обоснованного метода

30 медикаментозной коррекции с целью минимизации риска опасной для жизни патологии в период новорожденности, начав лечение пренатально.

Технический результат: улучшение васкуляризации межальвеолярных перегородок

35 и увеличение количества альвеол после применения селективного ингибитора ФДЭ-5 цГМФ на нитрофен-индуцированной модели ВДГ у крыс.

Заявляется способ коррекции гипоплазии легких при врожденной диафрагмальной грыже плода крыс, включающий моделирование гипоплазии легких путем перорального введения 100 мг нитрофена на 9-й день беременности и применение ингибитора

40 специфической фосфодиэстеразы 5 циклического гуанозинмонофосфата - ФДЭ-5 цГМФ для ее коррекции, отличающийся тем, что в качестве ингибитора специфической ФДЭ-5 цГМФ используют тадалафил, который вводят подкожно, начиная с 9-го дня беременности в дозировке 3,3 мг каждые сутки до 20-го дня беременности.

Используемый нами в эксперименте ингибитор ФДЭ-5 тадалафил, является аналогом

45 силденафила. Преимуществом препарата тадалафил является возможность использования меньшей суточной дозы для достижения терапевтического эффекта, так как тадалафил 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, он имеет более длительный период выведения (17,5 часов и 3-5 часов, соответственно), что позволяет с течением времени поддерживать стабильную концентрацию вещества.

Кроме того, важно отметить, что у человека в различных органах встречаются другие типы ФДЭ. При этом известно, что ингибиторы ФДЭ, помимо ингибирования ФДЭ-5, в различной степени влияют на ФДЭ1, ФДЭ6, ФДЭ10 и ФДЭ11. По известным данным, сидленафил в десятки раз чаще, чем тадалафил ингибирует ФДЭ-1, что может вызвать гипотензию, которая, в свою очередь может стать причиной маточно-плацентарной недостаточности [10-Walton RB, Reed LC, Estrada SM, Schmiedecke SS, Villazana-Kretzer DL, Napolitano PG, Ieronimakis N. Evaluation of Sildenafil and Tadalafil for Reversing Constriction of Fetal Arteries in a Human Placenta Perfusion Model. Hypertension. 2018 Jul;72 (1):167-176. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10738. Epub 2018 May 7. PMID: 29735634].

Эксперимент:

Для апробации способа 15 самок крыс линии Wistar возраст 4-6 мес., масса 150-200 г со сроком беременности 9 дней были рандомизированы в одну из трех следующих групп:

1. Контрольная группа: не подвергалась введению нитрофена и тадалафила.
2. Группа ТДЛФ, получавшая только тадалафил 3,3 мг ежедневно, начиная с 9-го дня беременности.
3. Группа ТДЛФ+НТФ, получавшая тадалафил 3,3 мг ежедневно, начиная с 9-го дня беременности, нитрофен 100 мг на 9-й день и, если беременность не наступила, на 15-й день.

Для коррекции гипоплазии легких при ВДГ использовали экспериментальную модель гипоплазии легких, полученную путем перорального введения нитрофена. Начиная с 9-го дня беременности выполняли подкожное введение обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа (ФДЭ5) циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) в дозировке 3,3 мг каждые сутки.

Для определения срока беременности использовали ультразвуковое исследование (ультразвуковой аппарат Mindray DC-40). Исследование проводили каждые 7 дней линейным датчиком (частота 3-15 МГц). Предварительно животные подвергались седации диэтиловым эфиром, при исследовании фиксировали сердечную деятельность эмбрионов и измеряли показатель копчико-теменного размера (КТР).

При КТР, равном 18 мм, что соответствует 20-му дню беременности, осуществляли эвтаназию путем передозировки ингаляционным наркозом диэтилового эфира и хлороформа в эксикаторе. После прекращения сердечной деятельности производили кесарево сечение. Извлечённые плоды, а также органы взрослых крыс из контрольной группы и группы ТДЛФ: сердце, печень, легкие, селезенка, почки фиксировали в 10%-ом нейтральном забуференном растворе формалина. После 24-часовой фиксации проводили гистологическое исследование паренхиматозных органов и плодов крыс.

В результате получили достоверно значимое улучшение васкуляризации, увеличение количества альвеол, а также увеличение митотической активности альвеолоцитов (I, II типа) в группе с применением тадалафила на фоне нитрофен-индуцированной ВДГ, предположительно из-за улучшения кровотока и оксигенации, что позволило обеспечить надлежащий органогенез легких. При этом органы и системы здоровых плодов под воздействием препарата развивались нормально, мы наблюдали достоверно значимое увеличение площади сосудов микроциркуляторного русла (Таблицы 1, 2, 3).

Исследование сосудов микроциркуляторного русла осуществлено методом компьютерной морфометрии с фото, используя программный пакет «ImageJ» со

свободной лицензией. Мы изучали площадь сосудов микроциркуляторного русла при увеличении х400 на одно поле зрения (в процентах), в пяти полях зрения каждого гистологического препарата.

В легких плодов крыс контрольной группы сосуды микроциркуляторного русла составляли в среднем 2,27 % от общей площади поля зрения; При исследовании легких плодов крыс группы ТДЛФ заметно значительное увеличение площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла – среднее значение 3,52 %, а при приеме животными тадалафила на фоне нитрофен-индуцированной врожденной диафрагмальной грыжи (группа ТДЛФ+НТФ) у плодов наблюдается увеличение процента площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла на 0,29% в сравнении с нормой и составляет 2,56% (Таблицы 1, 3).

Процент площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла легких в группе плодов с диафрагмальной грыжей меньше показателей контрольной группы в 1,4 раза, и составляет 1, 56% ($p=0.008995$).

Таблица 1 – Площадь микроциркуляторного русла легких (%; на одно поле зрения, увеличение Х400)

Контрольная группа	Группа ТДЛФ	Группа ТДЛФ+НТФ	Р
1,94	3,13	2,22	P (контроль-ТДЛФ) = 0.000036 P (контроль-ТДЛФ+НТФ) = 0.000189 P (ТДЛФ-ТДЛФ+НТФ) = 0.003470
1,95	3,20	2,90	
2,28	4,37	2,26	
2,09	3,02	2,08	
1,94	4,24	3,97	
3,38	2,44	3,06	
2,45	3,48	1,75	
2,76	5,21	2,43	
2,05	3,55	2,51	
1,85	2,85	2,46	
	3,05		
	2,45		
	4,36		
	3,44		
	3,81		
	6,63		

Другим критерием оценки состояния легких плодов крыс для нас послужило количество альвеол в одном поле зрения.

В легких плодов крыс контрольной группы количество альвеол составляло в среднем 19,4 на одно поле зрения, у плодов с ВДГ данный показатель меньше на 6,5. При исследовании легких плодов крыс группы ТДЛФ+НТФ определяется увеличение количества альвеол в поле зрения в среднем на 2,5 в сравнении с контрольной группой и на 8,99 в сравнении с легкими плодов с ВДГ (Таблица 2,3).

Таблица 2 – Количество альвеол в легких (в одном поле зрения, увеличение х400)

Контрольная группа	Группа ТДЛФ	Группа ТДЛФ+НТФ	Р
21	15,4	21,5	P (контроль-ТДЛФ) = 0. 000240 P (контроль-ТДЛФ+НТФ) = 0.026928 P (ТДЛФ-ТДЛФ+НТФ) = 0
14	20	20,5	
17	15,4	22	
23	16,2	23	
21	17,2	24	
21	15,4	20	
19	16,4	21,5	
22	14,2	22,33	

17	15,4	23,5
19	14,4	20,5
	12,8	
	12,6	
	12,2	
	13,6	
	11,6	
	12,4	

Таблица 3 – Гистологические параметры легких ($M \pm SD$)

	Контрольная группа	Группа ТДЛФ	Группа ТДЛФ+НТФ
Макроскопические размеры легких, см ³	0,2728±0,0643	0,3331±0,1169	0,3637±0,1339
Процент занимаемой площади сосудами микроциркуляторного русла в легких плодов крыс на одно поле зрения, при увеличении x400, %	2,269±0,4811	3,7019±1,0809	2,564±0,6214
Количество альвеол в одном поле зрения при увеличении x400, n	19,4±2,7568	14,7±2,1933	21,883±1,3425

Гипоплазия легких и изменения легочных сосудов, наблюдаемые в нитрофен-индуцированной модели врожденной диафрагмальной грыжи у крыс, аналогичны изменениям при заболевании человека.

В результате проведенного исследования негативного влияния препарата Тадалафил на материнский организм, а именно на: почки, легкие, сердце, печень, селезенку самки, выявлено не было.

Подкожное введение тадалафила привело к значительному росту легких и улучшению морфологии дыхательных путей в легких плодов, обработанных нитрофеном, предположительно из-за улучшения кровотока и оксигенации, что позволило обеспечить надлежащий органогенез легких. Кроме того, органы и системы здоровых плодов под воздействием препарата развивались нормально, мы выявили увеличение площади сосудов микроциркуляторного русла.

Кроме того, при исследовании органов самок: почки, легкие, сердце, печень, селезенка, негативного влияния препарата тадалафил на материнский организм выявлено не было.

Исходя из чего можно сделать заключение, что после дополнительных исследований лечение тадалафилом может быть использовано в качестве пренатальной терапии ВДГ у человека. Стимулирование органогенеза легких и ослабление ремоделирования сосудов под воздействием данного препарата, возможно, станет более эффективным и безопасным методом коррекции ВДГ, чем современная фетальная терапия.

Список литературы

1. Gallot D, Boda C, Ughetto S, Perthus I, Robert-Gnansia E, Francannet C, Laurichesse-Delmas H, Jani J, Coste K, Deprest J, et al. Prenatal detection and outcome of congenital diaphragmatic hernia: a French registry-based study. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2007;29(3):276–83.

2. Щеголев А.И. 1 Туманова У.Н. 1 Ляпин В.М. 1 ГИПОПЛАЗИЯ ЛЕГКИХ: ПРИЧИНЫ РАЗВИТИЯ И ПАТОЛОГОАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2017. – № 4 (часть 3) – С. 530-534]

3. Kirby E, Keijzer R. Congenital diaphragmatic hernia: current management strategies from antenatal diagnosis to long-term follow-up. *Pediatr Surg Int*. 2020 Apr;36(4):415-429. doi: 10.1007/s00383-020-04625-z. Epub 2020 Feb 18. PMID: 32072236.

4. Caldeira I, Fernandes-Silva H, Machado-Costa D, Correia-Pinto J, Moura RS. Developmental Pathways Underlying Lung Development and Congenital Lung Disorders. *Cells*. 2021 Nov 2;10(11):2987. doi: 10.3390/cells10112987. PMID: 34831210; PMCID: PMC8616556.

5. Dao DT, Kamran A, Wilson JM, Sheils CA, Kharasch VS, Mullen MP, Rice-Townsend SE, Zalieckas JM, Morash D, Studley M, Staffa SJ, Zurakowski D, Becker RE, Smithers CJ, Buchmiller TL. Longitudinal Analysis of Ventilation Perfusion Mismatch in Congenital Diaphragmatic Hernia Survivors. *J Pediatr*. 2020 Apr;219:160-166.e2. doi: 10.1016/j.jpeds.2019.09.053. Epub 2019 Nov 5. PMID: 31704054.

6. Dao DT, Patel N, Harting MT, Lally KP, Lally PA, Buchmiller TL. Early Left Ventricular Dysfunction and Severe Pulmonary Hypertension Predict Adverse Outcomes in "Low-Risk" Congenital Diaphragmatic Hernia. *Pediatr Crit Care Med*. 2020 Jul;21(7):637-646. doi: 10.1097/PCC.0000000000002318. PMID: 32168302; PMCID: PMC7335317.

7. Gupta VS, Harting MT. Congenital diaphragmatic hernia-associated pulmonary hypertension. *Semin Perinatol*. 2020 Feb;44(1):151-167. doi: 10.1053/j.semperi.2019.07.006. Epub 2019 Jul 30. PMID: 31519366.

8. Okolo F, Zhang G, Rhodes J, Gittes GK, Potoka DA. Intra-Amniotic Sildenafil Treatment Promotes Lung Growth and Attenuates Vascular Remodeling in an Experimental Model of Congenital Diaphragmatic Hernia. *Fetal Diagn Ther*. 2020 Jul 14:1-13. doi: 10.1159/000508986. Epub ahead of print. PMID: 32663823.

9. Montalva L, Antounians L, Zani A. Pulmonary hypertension secondary to congenital diaphragmatic hernia: factors and pathways involved in pulmonary vascular remodeling. *Pediatr Res*. 2019 May;85(6):754-768. doi: 10.1038/s41390-019-0345-4. Epub 2019 Feb 19. PMID: 30780153.

10. Walton RB, Reed LC, Estrada SM, Schmiedecke SS, Villazana-Kretzer DL, Napolitano PG, Ieronimakakis N. Evaluation of Sildenafil and Tadalafil for Reversing Constriction of Fetal Arteries in a Human Placenta Perfusion Model. *Hypertension*. 2018 Jul;72(1):167-176. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10738. Epub 2018 May 7. PMID: 29735634.

(57) Формула изобретения

Способ коррекции гипоплазии легких при врожденной диафрагмальной грыже плода крыс, включающий моделирование гипоплазии легких путем перорального введения 100 мг нитрофена на 9-й день беременности и применение ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 циклического гуанозинмонофосфата - ФДЭ-5 цГМФ для ее коррекции, отличающийся тем, что в качестве ингибитора специфической ФДЭ-5 цГМФ используют тадалафил, который вводят подкожно, начиная с 9-го дня беременности в дозировке 3,3 мг каждые сутки до 20-го дня беременности.