

УДК 616.619-092.616-092.11

РОЛЬ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОГО ДИСБАЛАНСА ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ СТРЕССОВОМ РАССТРОЙСТВЕ В ПРОТИВООПУХОЛЕВОМ ИММУННОМ ОТВЕТЕ. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

© 2023 г. М. В. Кондашевская^{1,*}, К. А. Артемьева¹, В. В. Алексанкина¹, В. В. Куделькина¹,
А. М. Косырева¹, Д. А. Арешидзе¹, М. А. Козлова¹, член-корреспондент РАН Л. М. Михалева¹

Поступило 20.02.2023 г.

После доработки 03.03.2023 г.

Принято к публикации 10.03.2023 г.

Целью исследования было изучение особенности роста и развития меланомы B16 у половозрелых самцов мышей C57Black/6 при моделировании посттравматического стрессового расстройства (ПТСР). Использованы поведенческие, иммуногистохимические, морфометрические методы, иммуноферментный анализ. Установлено характерное для ПТСР форсированное снижение уровня кортикостерона с последующей интенсификацией выработки клетками иммунной системы повышенных концентраций провоспалительных интерлейкинов и, одновременно, сокращение секреции противовоспалительных цитокинов. Получены приоритетные данные: нейрогуморальный дисбаланс, формирующийся при ПТСР, является сдерживающим фактором роста меланомы B16, по крайней мере, на начальных этапах развития онкологического процесса.

Ключевые слова: мыши, меланома B16, посттравматическое стрессовое расстройство, интерлейкины, кортикостерон

DOI: 10.31857/S2686738923600127, **EDN:** IYYKGS

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные новообразования являются второй по значимости причиной смертности населения в мире (данные ВОЗ), фактором, формирующим отрицательный демографический баланс в Российской Федерации [1]. Меланома считается одной из наиболее агрессивных опухолей, отличается ранним и множественным метастазированием, часто непредсказуемым течением опухолевого процесса, многообразием клиникo-морфологических форм и неудовлетворительными результатами лечения. Ежегодный рост заболеваемости меланомой в Европе составляет 3–7%; в России – 2% от всех злокачественных опухолей человека. Летальность больных с этой опухолью в течение первого года с момента установления диагноза достигает 16.4% и более [2–4]. Процесс канцерогенеза индуцирует триада фак-

торов: снижение иммунологической реактивности организма, воздействие канцерогенного агента (экзогенной или эндогенной природы), нарушение функции органа или ткани [2]. Общепризнанными факторами риска онкологических заболеваний считаются: генетические факторы, иммунодепрессия, нарушенный эндокринный фон, хронические воспалительные и вялотекущие пролиферативные процессы, пожилой возраст [2]. Способствуют развитию злокачественных новообразований такие эндогенные факторы, как повышение содержания в крови кортизола у людей, кортикостерона у лабораторных грызунов, инсулина, холестерина, усиление пролиферации соматических клеток и торможения деления лимфоцитов, что в свою очередь вызывает метаболическую иммунодепрессию [2].

Механизмы стресса, не являясь непосредственной причиной активизации опухолевого процесса, оказывают на него существенное влияние. В частности, стресс увеличивает чувствительность организма к воздействию токсичных, мутагенных и канцерогенных агентов и воздействий. Выраженность влияния стресса определяется силой и продолжительностью действия стрессора, а также фенотипическими особенностями индивида (особи) [5]. Достаточно давно из-

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского”, Москва, Россия

*E-mail: marivladiko@mail.ru

вестно, что экстраординарный стресс и/или хроническое воздействие стрессоров обуславливают неблагоприятные иммунологические последствия, объясняющиеся стресс-индуцированной иммуносупрессией. В связи с этим люди, испытывавшие высокие уровни стресса, слабее реагируют на вакцинацию и инфекцию [6]. В настоящее время сформировалось твердое мнение, что стресс связан со снижением, или нарушением регуляции противоопухолевого иммунитета [6]. Согласно проспективным эпидемиологическим исследованиям, состояние стресса обуславливает повышенную частоту возникновения злокачественных опухолей и смертность от них у ранее здоровых людей, а также усугубляет прогноз у пациентов с предсуществующими опухолями [5].

Реакция на стресс запускается через скоординированную активацию симпатической нервной системы (СНС) и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГА). В результате активации ГГА оси происходит быстрое, значительное и долговременное повышение уровня циркулирующих глюкокортикоидов, которые оказывают существенное ингибирующее действие на иммунную систему [5]. К примеру, кортизол (кортикостерон у лабораторных грызунов) индуцирует апоптоз Т-хелперных (CD4+) и цитотоксических (CD8+) тимоцитов, а также зрелых Т-лимфоцитов [7].

Практически единственное стрессовое заболевание, характеризующееся снижением уровня кортизола (кортикостерона) у значительной части индивидов (особей) — посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР). В то время, как большинство разновидностей стресса приводит к гиперактивации ГГА системы, развивающейся в результате десенситизации глюкокортикоидной отрицательной обратной связи, только при ПТСР формируется ее сенситизация. R. Yehuda и соавт. установили, что при ПТСР наблюдается инактивация ГГА системы, объясняющаяся развитием патологически быстро развивающейся отрицательной обратной связи в результате форсированного торможения выброса глюкокортикоидов — кортизола у людей и кортикостерона у лабораторных грызунов [8]. В настоящее время растет интерес к взаимосвязи между ПТСР и онкологическими заболеваниями. Пока что, наиболее очевидно показано, что при онкологических заболеваниях у людей может развиваться ПТСР [9]. В то время как вопрос о том, является ли ПТСР фактором риска развития онкологических заболеваний, практически не разработан.

Цель исследования — изучить особенности роста или развития меланомы B16 у половозрелых самцов мышей C57Black/6 при моделировании посттравматического стрессового расстройства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на половозрелых самцах мышей C57Black/6 ($n = 20$), полученных из УКФ “Виварий и группа содержания животных отдела скрининга и доклинических исследований Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии РАН” в возрасте 8 нед, с массой тела 21–22 г. Мыши содержались в клетках для мелких грызунов по 10 особей в стандартных условиях вивария при температуре 20–22°C и относительной влажности 60–70%. Животные имели свободный доступ к питьевой воде и стандартному гранулированному корму.

Все экспериментальные процедуры проводились в соответствии с Директивой Европейского парламента 2010/63/ЕС “О защите животных, используемых в экспериментальных целях” (от 22.09.2010). Исследование одобрено Комитетом по биоэтике Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского” (протокол № 34, 2022 г.).

Мышей C57Black/6 разделили случайным образом на 2 равные группы: 1 — мыши, которым после моделирования посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) подкожно имплантировали суспензию клеток линии меланомы B16, ($n = 10$, опыт, группа ПТСР); 2 — группа без воздействия стрессовых факторов, животные которым имплантировали суспензию клеток меланомы B16 в одно время с 1-й группой ($n = 10$, контроль).

Моделирование ПТСР

Использовалась модель ПТСР, описанная M.A. Matar, H. Cohen и J. Zohar (2013), модифицированная в наших исследованиях [10, 11]. Предаторный стресс индуцировали, подвергая мышей воздействию запаха кошачьей мочи в течение 10 мин ежедневно в течение 10 сут. Затем мышей помещали в обычные условия вивария на 14 сут. Контрольная группа мышей в течение всех этих 24 сут находилась в состоянии покоя (табл. 1).

Тестирование поведения

Оценку развития ПТСР-подобного состояния производили с помощью теста приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ), который регулярно использовался в наших предыдущих исследованиях [10, 11] и имеет большую популярность у других исследователей [12]. Этот тест проводили у обеих групп мышей (1 и 2) после периода отдыха животных с ПТСР-подобным состоянием (табл. 1).

Таблица 1. Дизайн эксперимента

ПТСР – Группа 1					
Моделирование ПТСР		Тестирование в ПКЛ	Имплантация суспензии клеток меланомы B16	Рост опухоли	Конец эксперимента
Предаторный стресс (предъявление мочи кошек) 10 мин 10 сут	Обычное содержание в виварии 14 сут	В конце периода моделирования ПТСР	На следующий день после тестирования в ПКЛ	10 сут	Декапитация, забор материала для исследований
Контроль – Группа 2					
Обычное содержание в виварии		Тестирование в ПКЛ	Имплантация суспензии клеток меланомы B16	Рост опухоли 10 сут	Декапитация, забор материала для исследований

Общая продолжительность теста составляет 600 с. Всех мышей тестировали слепым методом. Поведение мышей в ПКЛ регистрировали и отслеживали с помощью видеосистемы SMART (Китай), анализировали с помощью программного обеспечения SMART 3.0. Фиксировали количество заходов в открытые и закрытые рукава ПКЛ, а также время нахождения в открытых и закрытых рукавах. На основании этих измерений рассчитывали индекс тревожности (ИТ) [13]:

$$\text{ИТ} = 1 - \left[\left(\frac{\text{ВОР}}{\text{ВТ}} + \frac{\text{ЧЗОР}}{\text{СЗ}} \right) / 2 \right]$$

ВОР – время в открытых рукавах, ВТ – время тестирования, ЧЗОР – число заходов в открытые рукава, СЗ – сумма всех заходов.

Имплантация клеточной линии меланомы B16

Клеточную линию меланомы B16 мышей, полученную из коллекции экспериментальных опухолей нервной системы и нейрональных опухолевых клеточных линий НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ “РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского”, субкультивировали общепринятым методом.

В нашем эксперименте имплантацию мышам суспензии клеток опухоли проводили в асептических условиях с применением ингаляционного наркоза (chloroform). Кожу обрабатывали 70% спиртом. Клеточную суспензию меланомы B16 имплантировали подкожно каждому животному обеих групп. Суспензию клеток опухоли в культуральной среде 199 вводили по 0.1 мл (1.44×10^6 клеток) на мышь в область левой лопатки (табл. 1). Наблюдение за животными проводили ежедневно.

Гистологические исследования

Через 10 сут после имплантации суспензии клеток меланомы, животных под наркозом под-

вергали декапитации (табл. 1), опухоль иссекали в пределах непораженных тканей. При помощи штангенциркуля измеряли длину, ширину и толщину опухоли. Затем по стандартным методикам кусочки опухоли фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили по толуолам и спиртам, заливали в парафин, изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм, которые после рутинного проведения по спиртам окрашивали ГОФП-методом по J.T. Lie. Название метода окраски по ГОФП произошло от первых букв используемых красителей: гематоксилин–основной фуксин–пикриновая кислота. Под названием “фуксинорагический метод” он был описан Lie и соавторами в 1971 г. Окраска исходно разработана для выявления деструктивных (ишемических) изменений миокарда, в настоящее время методика широко применяется для детекции очагов альтерации различного генеза [14].

Окрашенные гистологические срезы исследовали, получая микрофотографии при помощи микроскопа “AxioPlan 2 imaging” с системой обработки изображений (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия) и морфометрической программы “AxioVision”. Подсчитывали количество клеток на 1 мм² площади гистологического среза. Определяли число капилляров и мимикрических сосудов в 100 полях зрения при увеличении 400. Численную плотность опухолевых клеток измеряли в 10 полях зрения. Митотический индекс вычисляли по формуле: МИ (%) = (c/d) × 100, где c – митотически делящиеся клетки; d – 1000 интерфазных клеток. Клетки с признаками апоптоза идентифицировали по морфологическим признакам [15, 16] и вычисляли апоптотический индекс (АИ) по формуле АИ (%) = (a/b) × 100, где a – количество апоптотических клеток; b – общее количество исследованных клеток.

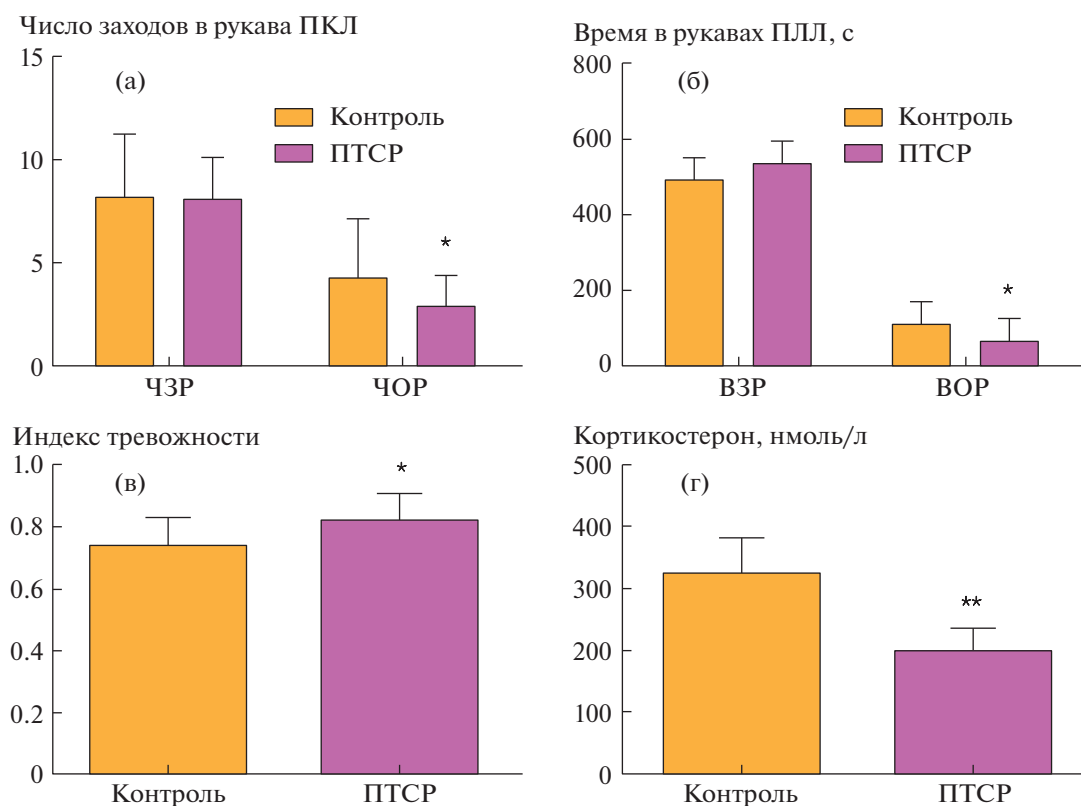


Рис. 1. Поведенческие характеристики мышей, доказывающие развитие ПТСР-подобного состояния. а — число заходов в закрытые (ЧЗР) и открытые (ЧОР) рукава ПКЛ; б — время, проведенное в закрытых (ВЗР) и открытых (ВОР) рукавах ПКЛ; в — индекс тревожности; г — уровень кортикостерона в плазме крови. * $p < 0.05$ ** $p < 0.0001$

Иммуноферментный анализ (ИФА)

Используя иммуноферментные наборы, с помощью микропланшетного иммуноферментного анализатора “ANTHOS 2010” (Австрия), в плазме крови определяли уровень кортикостерона (“IBL”, Германия) и цитокинов: интерлейкина-2 (IL-2), IL-6, IL-4, IL-10 (“Bender MedSystems”, Австрия).

Статистический анализ

Статистический анализ и построение графиков осуществлялось в программе Graph Pad Prism 6.0 (США). Распределение показателей, оцениваемое по критерию Колмогорова—Смирнова, оказалось нормальным. Для сравнения экспериментальных групп использовали t-критерий Стьюдента. Результаты выражали в виде средних значений $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). Различия считали значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Продолжительность жизни всех групп мышей была одинакова, ни одна особь не погибла до

окончания эксперимента. Масса тела мышей опытной и контрольной групп не различалась ни до подсадки опухоли (23.72 ± 1.89 г), ни в конце эксперимента — через 10 сут после имплантации опухоли (24.79 ± 1.56 г).

О развитии ПТСР-подобного состояния судили по традиционным для данной модели признакам поведения, проявляющимся при тестировании стрессированных животных в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) [11, 12]: снижению числа заходов в открытые рукава ПКЛ (на 32.6%) и времени, проведенном в этих рукавах (на 59.5%), а также увеличению репрезентативного показателя — индекса тревожности (на 10.8%) по сравнению с контролем (рис. 1). Кроме указанных критериев, наблюдалось снижение уровня кортикостерона в крови мышей (на 38.6%), считающееся характерной чертой развития ПТСР-подобного состояния у животных, или ПТСР у людей (рис. 1) [11, 17].

При морфологическом исследовании в контроле и опыте отмечено типичное строение меланомы B16, которую образовывали эпителиоидно-подобных клеток. Расположение этих клеток было как плотным, так и фрагментированным,

Таблица 2. Морфометрические показатели опухоли мышей C57Black/6 при моделировании ПТСР ($M \pm \sigma$)

Показатели	Контроль	ПТСР
Объем опухоли, см ³	0.70 $\pm$ 0.33	0.41 $\pm$ 0.18*
Толщина опухоли, мм	6.20 $\pm$ 2.31	4.32 $\pm$ 0.51*
Число опухолевых клеток в 1 мм ²	17514.31 $\pm$ 1610.52	14511.22 $\pm$ 1331.21**
Площадь опухолевых клеток, мкм ²	42.24 $\pm$ 9.19	62.97 $\pm$ 11.43**
Митотический индекс, ‰	4.64 $\pm$ 0.97	1.38 $\pm$ 0.16*
Апоптотический индекс, %	2.11 $\pm$ 1.23	2.06 $\pm$ 0.91
Число капилляров	3.12 $\pm$ 1.53	2.04 $\pm$ 0.98
Число мимикрических сосудов	11.23 $\pm$ 5.81	6.7 $\pm$ 3.59
Наличие метастазов	отсутствуют	отсутствуют

* $p < 0.05$ ** $p < 0.0001$

иногда перемежаясь кровоизлияниями и лейкоцитарной инфильтрацией. Некрозов и зон гипоксии обнаружено не было. Тем не менее опухоль стрессированных мышей была меньше как по объему (на 51.5%), так и по толщине (30.4%) (табл. 2). Последнее считается важным фактором в прогнозировании прогрессирования заболевания по Бреслоу [18]. Кроме того, в тканях меланомы стрессированных мышей зарегистрированы меньшее число клеток на 1 мм² (на 17.2%) и снижение митотического индекса (на 71.3%), что в сочетании с небольшой толщиной опухоли считается более благоприятным прогнозом по Бреслоу (табл. 2). В то время, как площадь клеток опухоли в группе ПТСР оказалась значительно больше (на 49.1%), чем в контроле (табл. 2, рис. 2). Вместе с тем различий между контрольной и опытной группой не наблюдалось по показателям апоптотического индекса, числу капилляров и мимикрических сосудов на 1 мм².

Как известно, при ПТСР наблюдаются выраженные признаки воспалительного процесса с появлением в кровотоке провоспалительных интерлейкинов [19]. Считается, что провоспалительные интерлейкины играют важную роль в защите организма от роста и метастазирования опухолей, тогда как противовоспалительные интерлейкины обладают противоположными эффектами [20]. Имеются сведения, что IL-2 одобрен для лечения меланомы в связи с тем, что он является сильнодействующим активатором естественных клеток-киллеров и CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов, практически аналогичными свойствами обладает и IL-6 [20].

В нашем эксперименте установлено, что в крови стрессированных мышей концентрация провоспалительных интерлейкинов IL-6 и IL-2 была значительно выше, чем в контроле на 37.6% и 39.8% соответственно (рис. 3). Тогда как уровень противовоспалительных цитокинов IL-10 и

IL-4 оказался ниже на 13.7 и 29.3% соответственно (рис. 3).

Таким образом, в настоящей работе впервые показано, что в отличие от других стрессовых ре-

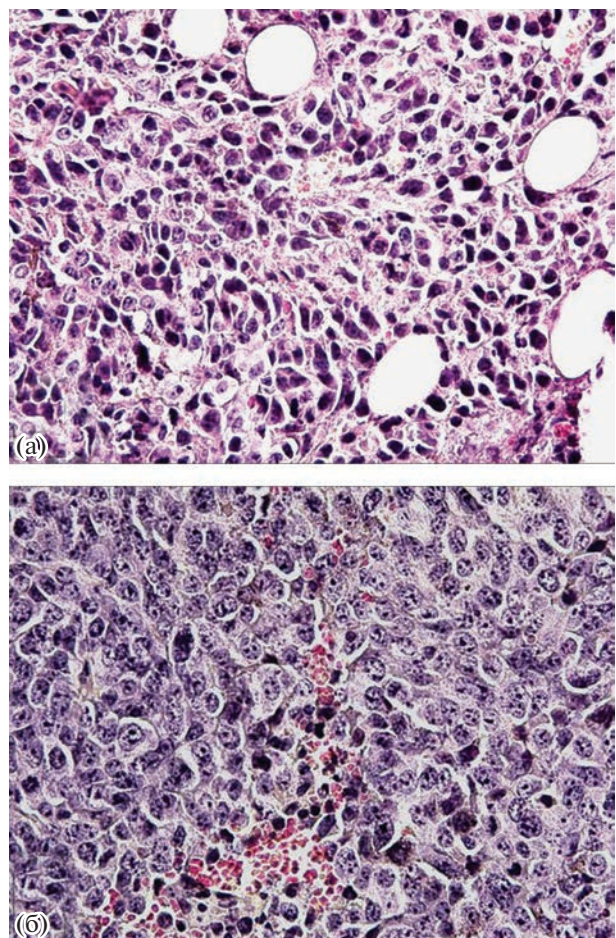


Рис. 2. Меланома контрольных мышей (а) и после моделирования ПТСР (б) $\times 400$. Хорошо заметно, что клетки опухоли стрессированных мышей крупнее, чем в контроле. На фотографии Б видны мимикрические сосуды, не заполненные кровью.

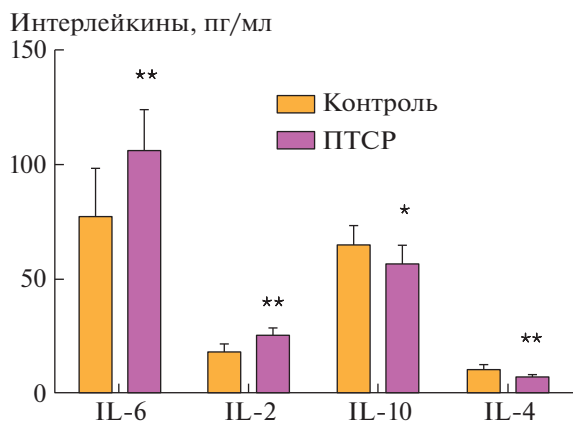


Рис. 3. Уровень провоспалительных IL-6, IL-2 и противовоспалительных интерлейкинов IL-10, IL-4 при моделировании ПТСР и последующей имплантации меланомы B16.

акций, характерное для ПТСР форсированное снижение уровня кортикостерона с последующей интенсификацией выработки клетками иммунной системы повышенных концентраций провоспалительных интерлейкинов и, одновременно, сокращение секреции противовоспалительных цитокинов, отражающие нейрогуморальный дисбаланс при ПТСР, являются решающими сдерживающими факторами роста меланомы B16, по крайней мере на начальных этапах развития онкологического процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе изучали развитие меланомы B16 у половозрелых самцов мышей C57Black/6 после моделирования посттравматического стрессового расстройства (ПТСР). Доказательствами формирования характерного психоэмоционального и метаболического состояния ПТСР служили: тревожно/депрессивное поведение, выявляемое при тестировании мышей в приподнятом крестообразном лабиринте, снижение уровня кортикостерона в плазме крови, а также повышение уровня провоспалительных и падение концентрации противовоспалительных интерлейкинов. В данной работе впервые установлено, что при имплантации клеток меланомы B16 мышам после развития ПТСР-подобного состояния, значения размера опухоли и митотического индекса ее клеток было меньше, чем в контроле. Авторы выдвигают гипотезу: специфическое для ПТСР снижение уровня провоспалительных интерлейкинов на фоне повышения концентрации противовоспалительных цитокинов, а также низкий уровень кортикостерона, способствуют торможению роста перевиваемой меланомы B16, по край-

ней мере на начальных этапах развития онкологического процесса.

БЛАГОДАРНОСТИ

М.В. Кондашевская задумала исследование, разработала и осуществила эксперимент, написала статью; К.А. Артемьева и В.В. Алексанкина помогли в сборе данных, В.В. Куделькина и А.М. Косырева перевивали меланому B16, Д.А. Арешидзе участвовала в статистической обработке данных и построении гистограмм, М.А. Козлова помогала в осуществлении эксперимента и переводе частей статьи на английский язык, Михалева Л.М. редактировала рукопись.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания лаборатории патологии клетки Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия» № 122030200535-1.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ferlay J., Ervik M., Lam F., et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today // Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020 <https://gco.iarc.fr/today>. Ссылка активна на 15 февраля 2023 г.
2. Cabaço L.C., Tomás A., Pojo M., et al. The Dark Side of Melanin Secretion in Cutaneous Melanoma Aggressiveness // Front Oncol. 2022. V. 12. P. 887366.
3. Rebecca V.W., Somasundaram R., Herlyn M. Pre-clinical modeling of cutaneous melanoma // Nat Commun. 2020. V. 11. № 1. P. 2858.
4. Schmidberger H., Rapp M., Ebersberger A et al. Long-term survival of patients after ipilimumab and hypofractionated brain radiotherapy for brain metastases of malignant melanoma: sequence matters // Strahlenther Onkol. 2018. V. 194. № 12. P. 1144–1151. <https://doi.org/10.1007/s00066-018-1356-5>
5. Russell G., Lightman S. The human stress response // Nat Rev Endocrinol. 2019. V. 15. № 9. P. 525–534.
6. Shin K.J., Lee Y.J., Yang Y.R., et al. Molecular Mechanisms Underlying Psychological Stress and Cancer // Curr Pharm Des. 2016. V. 22. № 16. P. 2389–402.
7. Rudak P.T., Choi J., Parkins K.M., et al. Chronic stress physically spares but functionally impairs innate-like invariant T cells // Cell Rep. 2021. Vol. 35. № 2. P. 108979.
8. Yehuda R., Seckl J. Minireview: Stress-related psychiatric disorders with low cortisol levels: a metabolic hypothesis // Endocrinology. 2011. V. 15212. P. 4496–503.

9. *Brown L.C., Murphy A.R., Lalonde C.S., et al.* Posttraumatic stress disorder and breast cancer: Risk factors and the role of inflammation and endocrine function // *Cancer*. 2020. V. 126. № 14. P. 3181–3191.
10. *Кондашевская М.В., Цейликман В.Э., Комелькова М.В., и др.* Соотношение физической усталости и морфофункционального состояния миокарда при экспериментальном хроническом стрессе // *Доклады РАН*. 2019. Т. 485. № 2. С. 247–250.
11. *Кондашевская М.В., Комелькова М.В., Цейликман В.Э., и др.* Новые нейробиологические критерии профиля устойчивости при моделировании посттравматического стрессового расстройства // *Доклады РАН. Науки о жизни*, 2021. Т. 501. № 1. С. 522–527.
12. *Nahum K., Todder D., Zohar J., et al.* The Role of Microglia in the (Mal) adaptive Response to Traumatic Experience in an Animal Model of PTSD // *Int J Mol Sci*. 2022. V. 23. № 13. P. 7185.
13. *Cohen H., Matar M.A., Joseph Z.* Animal models of post-traumatic stress disorder // *Curr Protoc Neurosci*. 2013. Ch. 9. Unit 9.45.
14. *Янин В.Л., Бондаренко О.М., Сазонова Н.А.* Методы исследования в цитологии и гистологии: учебно-методическое пособие для аспирантов заочной формы обучения к практическим занятиям по дисциплине. Ханты-Мансийск: БУ “Ханты-Мансийская государственная медицинская академия”, 2015.
15. *Kerr J.F.R., Gobe G.C., Winterford C.M., et al.* // *Meth. Cell Biol*. 1995. V. 46. P. 1–27.
16. *Banfalvi G.* Methods to detect apoptotic cell death // *Apoptosis*. 2017. V. 22. № 2. P. 306–323.
17. *Eswarappa M., Neylan T.C., Whooley M.A., et al.* Inflammation as a predictor of disease course in posttraumatic stress disorder and depression: A prospective analysis from the Mind Your Heart Study // *Brain Behav Immun*. 2019. V. 75: 220–227.
18. *Dickson P.V., Gershenwald J.E.*, Staging and Prognosis of Cutaneous Melanoma // *Surg Oncol Clin N Am*. 2011. V. 20. № 1. P. 1–17.
19. *Aliev G., Beeraka N.M., Nikolenko V.N., et al.* Neurophysiology and Psychopathology Underlying PTSD and Recent Insights into the PTSD Therapies-A Comprehensive Review // *J Clin Med*. 2020. V. 9. № 9. P. 2951.
20. *Lee H.K., Shin H.J., Koo J., et al.* Blockade of transforming growth factor $\beta 2$ by anti-sense oligonucleotide improves immunotherapeutic potential of IL-2 against melanoma in a humanized mouse model // *Cytherapy*. 2021. V. 23. № 7. P. 599–607.

THE ROLE OF NEUROHUMORAL IMBALANCE AT POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER IN THE ANTITUMOR IMMUNE RESPONSE. EXPERIMENTAL STUDY

**M. V. Kondashevskaya^{a, #}, K. A. Artemieva^a, V. V. Aleksankina^a, V. V. Kudelkina^a, A. M. Kosyreva^a,
D. A. Areshidze^a, M. A. Kozlova^a, and Corresponding Member of the RAS L. M. Mikhaleva^a**

^a*Avtsyn Research Institute of human morphology of Federal State Budgetary Scientific Institution “Petrovsky National Research Centre of surgery”, Moscow, Russian Federation*

[#]*E-mail: marivladiko@mail.ru*

The aim of the study was to investigate the growth and development of B16 melanoma in mature male C57Black/6 mice with a post-traumatic stress disorder (PTSD) model. Behavioral, immunohistochemical, morphometric methods, enzyme immunoassay were used. A forced decrease in the level of corticosterone, which is characteristic for PTSD, was established, followed by an intensification of the production of increased concentrations of pro-inflammatory interleukins by the cells of the immune system and, at the same time, a decrease in the secretion of anti-inflammatory cytokines. Priority data were obtained: the neurohumoral imbalance that develops in PTSD is a limiting factor to the growth of B16 melanoma, at least at the initial stages of the oncological process.

Keywords: mice, B16 melanoma, post-traumatic stress disorder, interleukins, corticosterone