

Роль микроокружения в распространении опухолей яичников

Халикова Лариса Вячеславовна — кафедра гистологии, orcid.org/0000-0003-1266-5774

Шевлюк Николай Николаевич — д.б.н., профессор, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, orcid.org/0000-0001-9299-0571

Ганцев Шамиль Ханафиевич — д.м.н., профессор, кафедра онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИДПО, orcid.org/0000-0003-2047-963X

Халиков Айрат Анварович — д.м.н., профессор, кафедра судебной медицины, orcid.org/0000-0003-1045-5677

Хасанова Ильмира Раисовна — кафедра гистологии

Л.В. Халикова^{1,}, Н.Н. Шевлюк², Ш.Х. Ганцев¹, А.А. Халиков¹, И.Р. Хасанова¹*

¹ Башкирский государственный медицинский университет, Россия, Республика Башкортостан, Уфа,

² Оренбургский государственный медицинский университет, Россия, Оренбург

* **Контакты:** Халикова Лариса Вячеславовна, e-mail: anifas09@mail.ru

Аннотация

Введение. Метастазы являются грозным осложнением злокачественных новообразований, и терапия распространенной формы заболевания в большинстве случаев неэффективна. Метастазирование — многоэтапный процесс, включающий в себя отделение раковой клетки от первичной опухоли, интравазацию, экстравазацию и инвазию опухолевой клетки в орган-мишень. Ранние этапы метастазирования хорошо изучены. Вопрос о том, как влияет микроокружение опухоли на прогрессирование и дальнейшее распространение заболевания, является дискуссионным.

Цель исследования: изучение адаптивных и реактивных свойств большого сальника при раке яичников с метастатическим поражением большого сальника на основе иммуногистохимического анализа.

Материалы и методы. Исследованы образцы тканей больших сальников 40 пациенток с верифицированным раком яичников III а и b стадий. В работе использовались методы световой микроскопии, материал фиксировали в 10 % растворе формалина, обезвоживали и заливали в парафин, окраска гематоксилином Майера и эозином. Иммуногистохимические методы исследования проводились с использованием моноклональных антител к белкам CD7, CD4, CD8, CD 68, VEGF, D2–40, CD44. Для статистической обработки данных использовали лицензионный пакет прикладных программ Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение. В результате исследований тканей большого сальника обнаружено, что в некоторых случаях формируется лейкоцитарный вал вокруг метастатического очага. В составе лейкоцитарного вала определялось большее количество CD7⁺ и CD8⁺ клеток, что, возможно, влияло на сохранение реактивных и адаптивных свойств большого сальника. Также было выявлено увеличение клеток, экспрессирующих CD44 в тех образцах больших сальников, где отсутствовал лейкоцитарный вал. Количество клеток, экспрессирующих маркеры ангиогенеза, такие как VEGF, CD34, преобладало в тканях большого сальника без лейкоцитарного вала вокруг метастатического очага.

Заключение. В тканях микроокружения опухоли могут происходить изменения, указывающие на сохранение или снижение адаптивных свойств органа, что способствует дальнейшему прогрессированию заболевания.

Ключевые слова: иммуногистохимический анализ, рак яичников, большой сальник, микроокружение опухоли, маркеры ангиогенеза, лимфоциты, молекулы клеточной адгезии

Для цитирования: Халикова Л.В., Шевлюк Н.Н., Ганцев Ш.Х., Халиков А.А., Хасанова И.Р. Роль микроокружения в распространении опухолей яичников. Креативная хирургия и онкология. 2021;11(4):278–283. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2021-11-4-278-283>

Role of Microenvironment in Ovarian Tumourisation

Larisa V. Khalikova^{1,*}, Nikolay N. Shevlyuk², Shamil Kh. Gantsev¹, Airat A. Khalikov¹, Ilmira R. Khasanova¹

¹ Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation

² Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

* Correspondence to: Larisa V. Khalikova, e-mail: anifas09@mail.ru

Abstract

Background. Metastasis is a formidable complication of malignant neoplasms, with therapy not always effective in advanced malignancy. Metastasis is a multistep process involving the cancer cell detachment from primary tumour, intravasation, extravasation and invasion into the target organ. Early metastasis stages are well understood, whilst the impact of tumour microenvironment on the disease progression and advancement remains a matter of debate.

Aim. An immunohistochemical study of the adaptive and reactive properties of greater omentum with metastatic involvement in ovarian cancer.

Materials and methods. We examined greater omentum tissue samples from 40 patients with verified stage 3a and b ovarian cancers. For light microscopy, samples were fixed in 10 % formalin, dehydrated, paraffin-embedded and stained with Mayer's haematoxylin and eosin. Immunohistochemical assays used monoclonal antibodies against CD7, CD4, CD8, CD68, VEGF, D2-40 and CD44 proteins. Statistical data analysis was performed with Statistica v. 7.0 software.

Results and discussion. Analyses of the greater omentum tissues revealed cases of leucocyte-bank encapsulation of metastatic foci. Higher CD7⁺ and CD8⁺ cell counts were observed in encapsulation, possibly influencing the greater omentum reactive and adaptive properties. Higher CD44-expressing cell counts were also detected in greater omentum samples lacking encapsulation. Angiogenesis marker-expressing cells (e.g., VEGF and CD34) predominated in greater omentum tissues lacking leucocyte-bank encapsulation of metastatic foci.

Conclusion. Events in tumour microenvironment may be indicative of a preserved or reduced organ adaptivity, the latter facilitating disease progression.

Keywords: immunohistochemical assay, ovarian cancer, greater omentum, tumour microenvironment, angiogenesis markers, lymphocytes, cell adhesion molecules

For citation: Khalikova L.V., Shevlyuk N.N., Gantsev Sh.Kh., Khalikov A.A., Khasanova I.R. Role of microenvironment in ovarian tumourisation. *Creative Surgery and Oncology*. 2021;11(4):278–283. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2021-11-4-278-283>

Larisa V. Khalikova — Department of Histology, orcid.org/0000-0003-1266-5774

Nikolay N. Shevlyuk — Dr. Sci. (Biol.), Prof., Department of Histology, Cytology and Embryology, orcid.org/0000-0001-9299-0571

Shamil Kh. Gantsev — DDr. Sci.(Med.), Prof., Department of Oncology with Courses of Oncology and Pathological Anatomy for Advanced Professional Education, orcid.org/0000-0003-2047-963X

Airat A. Khalikov — Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Forensic Medicine, orcid.org/0000-0003-1045-5677

Ilmira R. Khasanova — Department of Histology

Введение

Рак яичников является одним из онкологических заболеваний женской половой системы с высокими показателями смертности и характеризуется поздней выявляемостью. Около 70 % первично выявленного рака яичника составляют III и IV стадии. Эффективность терапии рака яичника на продвинутых стадиях остается крайне низкой, несмотря на достижения современной онкологии. Анти-PDL-терапия доказала свою эффективность против многих видов рака, однако при распространенном раке яичников результаты были очень скромными [1, 2]. Метастатический процесс включает в себя инициацию, отделение раковой клетки, интравасацию, экстравазацию и колонизацию в органе мишени. Основным местом локализации метастазов при раке яичников является большой сальник. Он регулирует перитонеальный гомеостаз [3]. Опухолевые клетки рака яичников, оказавшиеся в перитонеальной полости, имплантируются на поверхность большого сальника. Инвазия опухолевых клеток и прогрессия метастазирования тесно связаны со взаимодействием раковых клеток и опухолевого микроокружения [4–6]. Большой сальник, учитывая его клеточный состав, должен обладать противоопухолевым иммунитетом, однако в некоторых случаях опухолевые клетки могут трансформировать клетки большого сальника в свое микроокружение [7, 8]. И механизм патогенеза этой трансформации нуждается в уточнении [9]. При этом до сих пор неизвестно, каким образом клетки микроокружения опухоли участвуют в дальнейшем прогрессировании метастазирования. Более глубокое изучение изменений микроокружения опухоли и метастатических очагов поможет

в поиске новых механизмов иммуносупрессии и новых мишеней для таргетной терапии этого грозного заболевания.

Целью нашего исследования явилось изучение адаптивных и реактивных свойств большого сальника при раке яичников с метастатическим поражением большого сальника на основе иммуногистохимического анализа.

Материалы и методы

Материалом исследований явился большой сальник пациенток, полученный во время операций по поводу рака яичников IIIa стадии ($n = 40$) в Республиканском клиническом онкологическом диспансере г. Уфы. Гистологический тип опухоли во всех исследуемых группах — низкодифференцированная аденокарцинома. Возраст пациенток находился в пределах от 50 до 67 лет. Материал фиксировали в 10 % растворе формалина, обезжизняли в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Для иммуногистохимического исследования использовали моноклональные антитела к белкам CD7, CD4, CD8, CD68, VEGF, D2–40 CD34, CD44, E-cad, CD61 (табл. 1).

При разведении антител использовали разбавитель Antibody Diluent (SPRING Bioscience, США). Система детекции — Reveal Polyvalent HRP — DAB Detection System (SPRING Bioscience, США). Окраска проводилась ручным и аппаратным способом с использованием автостейнера Ventana xt.

Морфометрию структур большого сальника проводили на условной единице площади. На препаратах, окрашенных иммуногистохимическими методами, определяли количество позитивно окрашенных клеток. Для статистической обработки данных использовали лицензионный пакет прикладных программ Statistica 7.0 (Stat Soft Inc., США). Анализ соответствия вида распределения количественных признаков по закону нормальности проводили с помощью критерия Шапиро — Уилка. Сравнительный анализ групп проводился с помощью параметрических (критерий Стьюдента) и непараметрических методов (U -критерий Манна — Уитни). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для выполнения работы было получено добровольное информированное согласие пациенток на участие в проведенном исследовании. На выполнение работы имеется разрешение локального этического комитета Оренбургского государственного медицинского университета (протокол заседания локального этического комитета № 237 от 16 октября 2019 года).

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного исследования было отмечено, что в 66 % случаев в большом сальнике пациенток формировался лейкоцитарный вал вокруг метастатического очага (рис. 1).

| Антиген (краткая характеристика) | Клон; разведение; производитель |
|--|---|
| CD 4 — маркер Т-хелперов | 1F6; 1:15 Diagnostic BioSystems, США |
| CD 7 — маркер Т-клеток | CBС.37; 1:10; Diagnostic BioSystems, США |
| CD 8 — маркер цитотоксических Т-лимфоцитов | 144B; 1:50; Diagnostic BioSystems, США |
| CD 44 — интегральный клеточный гликопротеин, играющий важную роль в межклеточных взаимодействиях, клеточной адгезии и миграции | 156–3 C11; 1:50; Diagnostic BioSystems, США |
| CD 34 — мембранный белок, молекула клеточной адгезии, маркер эндотелиоцитов кровеносных сосудов | QBEND/10; 1:50; Diagnostic BioSystems, США |
| CD 61 — мембранный белок из семейства интегринов | Y2/51; 1:100; Diagnostic BioSystems, США |
| D240 — маркер к эндотелиоцитам лимфатических сосудов | D2–40; 1:100; Dako, Дания |
| CD 68 — маркер макрофагов | Кр-1; 1:20; Cell Marque, США |
| VEGF — фактор роста сосудов | VG1; 1:10; Diagnostic BioSystems, США |
| E-cadherin | 36; 1:20; BioGenex, Нидерланды |

Таблица 1. Мышиные моноклональные антитела для иммуногистохимического исследования
Table 1. Murine monoclonal antibodies used in immunohistochemistry

Выживаемость пациенток с наличием лейкоцитарного вала оказалась выше, чем у пациенток без вала вокруг метастатического очага ($p < 0,05$). При выполнении иммуногистохимического исследования с применением моноклональных антител было обнаружено, что количество клеток, экспрессирующих CD8, было значительно выше ($p < 0,01$) у пациенток первой группы, у них в большом сальнике выявлялся лейкоцитарный вал вокруг метастатического очага. Число клеток, окрашенных позитивно маркером CD7, было статистически значимо выше в первой группе ($p < 0,02$). По числу клеток позитивных в отношении маркеров макрофагов CD68 и лимфоцитов хелперов CD4 статистически значимых различий не выявлено (табл. 2).

Снижение содержания клеток лимфоидного ряда, таких как CD8, CD7, в окружении метастатического очага способствует опухолевому росту и приводит к прогрессированию заболевания. Количество тканевых макрофагов CD68 сохраняется при опухолевом росте, но при нарушении в работе Т-лимфоцитов, возможно, не влияет на выживаемость.

При анализе результатов, полученных путем иммуногистохимического выявления клеток, экспрессирующих маркеры ангио-, лимфангиогенеза, было выявлено, что число клеток, положительно окрашенных VEGF, выше в образцах большого сальника без лейкоцитарного вала вокруг метастатического очага ($p < 0,05$). Также количество клеток, экспрессирующих D2-40 и CD34, было статистически значимо ниже в образцах тканей большого сальника с лейкоцитарным валом вокруг метастатического очага. Это согласуется с концепцией неоангиогенеза и лимфангиогенеза, стимулируемых опухолевыми клетками для их собственного роста и прогрессирования заболевания.

Из исследованных молекул адгезии статистически значимы различия по количеству клеток, экспрессирующих CD44 ($p < 0,02$). Число позитивно окрашенных клеток выше в образцах большого сальника без лейкоцитарного вала вокруг метастатического очага.

Метастазирование — это не автономный процесс и в значительной степени зависит от тканевого микроокружения. Взаимодействие между раковыми клетками, иммунными клетками, эндотелиальными клетками может приводить к прогрессированию злокачественного роста. В литературе имеются данные, что опухолевые клетки выделяют молочную кислоту (продукт анаэробного гликолиза), участвующую в сигнальных путях, индуцирующих ангиогенез, путем экспрессии сосудистого эндотелиального фактора VEGF. Вместе с тем молочная кислота может влиять на усиление экспрессии аргиназы-1 опухоль-ассоциированными макрофагами, тем самым приводя их в активное состояние [10]. Также в литературе имеются данные исследований, показывающие, что опухоль-ассоциированные макрофаги CD68 при злокачественных новообразованиях органов головы и шеи не являются прогностически значимыми и не влияют на выживаемость по сравнению с макрофагами CD163

| Маркеры | Большой сальник с лейкоцитарным валом вокруг метастатического очага | Большой сальник без лейкоцитарного вала вокруг метастатического очага | p |
|---------|---|---|-------|
| | Me (Q1–Q3) | Me (Q1–Q3) | |
| CD8 | 89,5 (77,0–100,0) | 47,0 (43,0–54,0) | 0,01* |
| CD4 | 10,5 (7,0–11,0) | 10,0 (6,0–20,0) | 0,88 |

Таблица 2. Содержание CD8⁺, CD7⁺ клеток в больших сальниках с лейкоцитарным валом вокруг метастатического очага и без лейкоцитарного вала
Table 2. CD8⁺ and CD7⁺ cell counts in greater omentum samples with and without leucocyte-bank encapsulation of metastatic foci

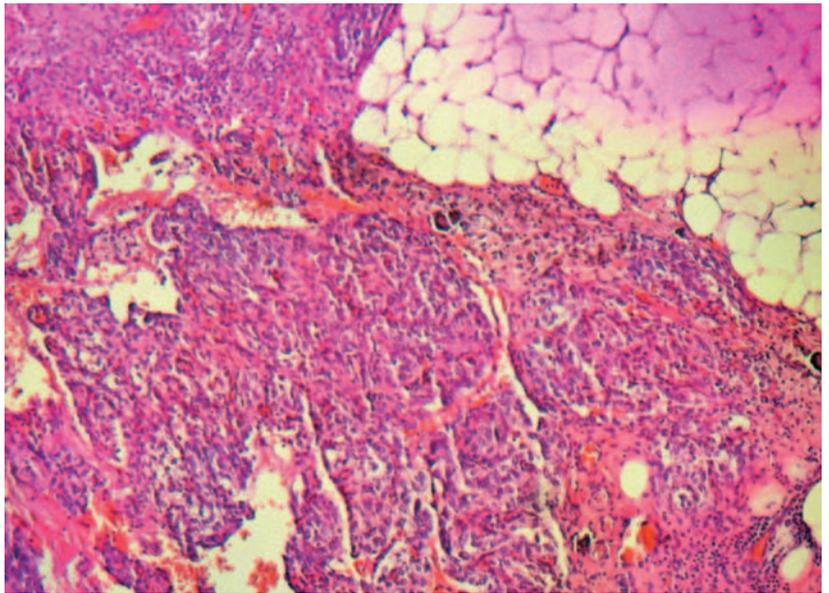


Рисунок 1. Лейкоцитарный вал вокруг метастатического очага большого сальника. Окраска гематоксилин-эозин Майера. Увеличение $\times 100$
Figure 1. Leucocyte-bank metastatic focus encapsulation in greater omentum. Mayer's haematoxylin and eosin, 100x

[11]. Рак яичников сопровождается системной иммуносупрессией, однако пациенты с хорошим иммунным ответом имеют более высокие показатели выживаемости и демонстрируют хороший ответ на химиотерапию. В иммунном ответе участвуют Т-лимфоциты, экспрессирующие CD8 и CD4 на поверхности клеток. CD8⁺ — это цитотоксические лимфоциты, уничтожающие чужеродные антигены при помощи специфических ферментов перфорина и гранзима В. CD4⁺ клетки способны рекрутировать и активировать другие клетки, такие как макрофаги, В-лимфоциты, дендритные и иные [12].

Наличие CD8⁺ лимфоцитов коррелирует с хорошей выживаемостью [13, 14]. Результаты наших исследований подтверждают, что ткани большого сальника, пораженного метастазами, в составе которого повышается количество CD8⁺, CD7⁺ клеток, сохраняют свои реактивные свойства и могут задерживать прогрессию опухолевого роста. Также увеличение количества клеток, экспрессирующих маркеры ангио- и лимфангиогенеза, на фоне уменьшения количества клеток, экспрессирующих

CD8⁺ и CD7⁺, может указывать на снижение адаптивных свойств большого сальника, приводящих к распространению опухолевого процесса.

Увеличение количества CD44⁺ клеток в образцах большого сальника без лейкоцитарного вала вокруг метастатического очага может указывать на снижение реактивных свойств большого сальника, что приводит к имплантации большого числа опухолевых клеток на мезотелии большого сальника. Имеются исследования, доказывающие, что интегральный гликопротеид CD44, экспрессируемый на поверхности опухолевой клетки, способствует прикреплению ее к поверхности мезотелия путем секретирования матриксных металлопротеаз. Выявленная экспрессия данного белка коррелирует с плохим прогнозом [15].

Заключение

В нашем исследовании выявлено, что в 66 % случаев формировался лейкоцитарный вал вокруг метастатического очага. Формирование лейкоцитарного вала вокруг метастатического очага большого сальника может указывать на сохранение его адаптивных и реактивных свойств, которые проявляются повышением количества CD8⁺ и CD7⁺ клеток, снижением количества клеток, экспрессирующих маркеры ангиогенеза и молекулы адгезии клетки CD44. Нарушение в работе клеток Т-лимфоидного ряда и макрофагов в условиях опухолевого роста приводит к изменению микроокружения метастатического очага большого сальника, что может способствовать развитию ангио- и лимфангиогенеза и дальнейшему снижению защитных свойств большого сальника.

Информация о конфликте интересов. Конфликт интересов отсутствует.

Информация о спонсорстве. Данная работа не финансировалась.

Список литературы

- Westergaard M.C.W., Milne K., Pedersen M., Hasselager T., Olsen L.R., Anglesio M.S., et al. Changes in the tumor immune microenvironment during disease progression in patients with ovarian cancer. *Cancers (Basel)*. 2020;12(12):3828. DOI: 10.3390/cancers12123828
- Blanc-Durand F., Genestie C., Galende E.Y., Gouy S., Morice P., Pautier P., et al. Distribution of novel immune-checkpoint targets in ovarian cancer tumor microenvironment: a dynamic landscape. *Gynecol Oncol*. 2021;160(1):279–84. DOI: 10.1016/j.ygyno.2020.09.045
- Krishnan V., Tallapragada S., Schaar B., Kamat K., Chanana A.M., Zhang Y., et al. Omental macrophages secrete chemokine ligands that promote ovarian cancer colonization of the omentum via CCR1. *Commun Biol*. 2020;3(1):524. DOI: 10.1038/s42003-020-01246-z
- Tahmasebi Birgani M., Carloni V. Tumor microenvironment, a paradigm in hepatocellular carcinoma progression and therapy. *Int J Mol Sci*. 2017;18(2):405. DOI: 10.3390/ijms18020405
- Friedl P., Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell*. 2011;147:992–1009. DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.016
- Бриллиант Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Эпителиальные кадгеринны и ассоциированные с ними молекулы при инвазивном дольковом раке молочной железы. *Архив патологии*. 2017;79(1):12–8. DOI: 10.17116/ptol201779112-18
- Cao L., Hu X., Zhang Y., Sun X.T. Omental milky spots in screening gastric cancer stem cells. *Neoplasma*. 2011;58(1):20–6. DOI: 10.4149/neo_2011_01_20

- Auer K., Bachmayr-Heyda A., Sukhbaatar N., Aust S., Schmetterer K.G., Meier S.M., et al. Role of the immune system in the peritoneal tumor spread of high grade serous ovarian cancer. *Oncotarget*. 2016;7(38):61336–54. DOI: 10.18632/oncotarget.11038
- Liu J., Geng X., Li Y. Milky spots: omental functional units and hotbeds for peritoneal cancer metastasis. *Tumour Biol*. 2016;37(5):5715–26. DOI: 10.1007/s13277-016-4887-3
- Colegio O.R., Chu N.Q., Szabo A.L., Chu T., Rherbergen A.M., Jairam V., et al. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature*. 2014;513(7519):559–63. DOI: 10.1038/nature13490
- Troiano G., Caponio V.C.A., Adipietro I., Tepedino M., Santoro R., Laino L., et al. Prognostic significance of CD68⁺ and CD163⁺ tumor associated macrophages in head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol*. 2019;93:66–75. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2019.04.019
- Turner T.B., Buchsbaum D.J., Straughn J.M., Randall T.D., Arend R.C. Ovarian cancer and the immune system — the role of targeted therapies. *Gynecol Oncol*. 2016;142(2):349–56. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.05.007
- Santoiemma P.P., Reyes C., Wang L.P., McLane M.W., Feldman M.D., Tanyi J.L., et al. Systematic evaluation of multiple immune markers reveals prognostic factors in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2016;143(1):120–7. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.07.105
- Sato E., Olson S.H., Ahn J., Bundy B., Nishikawa H., Qian F., et al. Intraepithelial CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8⁺/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(51):18538–43. DOI: 10.1073/pnas.0509182102
- Nakamura K., Sawada K., Kinose Y., Yoshimura A., Toda A., Nakatsuka E., et al. Exosomes promote ovarian cancer cell invasion through transfer of CD44 to peritoneal mesothelial cells. *Mol Cancer Res*. 2017;15(1):78–92. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-16-0191

References

- Westergaard M.C.W., Milne K., Pedersen M., Hasselager T., Olsen L.R., Anglesio M.S., et al. Changes in the tumor immune microenvironment during disease progression in patients with ovarian cancer. *Cancers (Basel)*. 2020;12(12):3828. DOI: 10.3390/cancers12123828
- Blanc-Durand F., Genestie C., Galende E.Y., Gouy S., Morice P., Pautier P., et al. Distribution of novel immune-checkpoint targets in ovarian cancer tumor microenvironment: a dynamic landscape. *Gynecol Oncol*. 2021;160(1):279–84. DOI: 10.1016/j.ygyno.2020.09.045
- Krishnan V., Tallapragada S., Schaar B., Kamat K., Chanana A.M., Zhang Y., et al. Omental macrophages secrete chemokine ligands that promote ovarian cancer colonization of the omentum via CCR1. *Commun Biol*. 2020;3(1):524. DOI: 10.1038/s42003-020-01246-z
- Tahmasebi Birgani M., Carloni V. Tumor microenvironment, a paradigm in hepatocellular carcinoma progression and therapy. *Int J Mol Sci*. 2017;18(2):405. DOI: 10.3390/ijms18020405
- Friedl P., Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell*. 2011;147:992–1009. DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.016
- Brilliant Yu.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Epithelial cadherins and associated molecules in invasive lobular breast cancer. *Архив Патологии*. 2017;79(1):12–8 (In Russ.). DOI: 10.17116/ptol201779112-18
- Cao L., Hu X., Zhang Y., Sun X.T. Omental milky spots in screening gastric cancer stem cells. *Neoplasma*. 2011;58(1):20–6. DOI: 10.4149/neo_2011_01_20
- Auer K., Bachmayr-Heyda A., Sukhbaatar N., Aust S., Schmetterer K.G., Meier S.M., et al. Role of the immune system in the peritoneal tumor spread of high grade serous ovarian cancer. *Oncotarget*. 2016;7(38):61336–54. DOI: 10.18632/oncotarget.11038
- Liu J., Geng X., Li Y. Milky spots: omental functional units and hotbeds for peritoneal cancer metastasis. *Tumour Biol*. 2016;37(5):5715–26. DOI: 10.1007/s13277-016-4887-3
- Colegio O.R., Chu N.Q., Szabo A.L., Chu T., Rherbergen A.M., Jairam V., et al. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature*. 2014;513(7519):559–63. DOI:10.1038/nature13490
- Troiano G., Caponio V.C.A., Adipietro I., Tepedino M., Santoro R., Laino L., et al. Prognostic significance of CD68⁺ and CD163⁺ tumor associated macrophages in head and neck squamous cell carcinoma:

- a systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol.* 2019;93:66–75. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2019.04.019
- 12 Turner T.B., Buchsbaum D.J., Straughn J.M., Randall T.D., Arend R.C. Ovarian cancer and the immune system — the role of targeted therapies. *Gynecol Oncol.* 2016;142(2):349–56. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.05.007
- 13 Santoiemma P.P., Reyes C., Wang L.P., McLane M.W., Feldman M.D., Tanyi J.L., et al. Systematic evaluation of multiple immune markers reveals prognostic factors in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2016;143(1):120–7. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.07.105
- 14 Sato E., Olson S.H., Ahn J., Bundy B., Nishikawa H., Qian F., et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(51):18538–43. DOI: 10.1073/pnas.0509182102
- 15 Nakamura K., Sawada K., Kinose Y., Yoshimura A., Toda A., Nakatsuka E., et al. Exosomes promote ovarian cancer cell invasion through transfer of CD44 to peritoneal mesothelial cells. *Mol Cancer Res.* 2017;15(1):78–92. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-16-0191