Rev Esp Patol. 2010;43(1):24–32

Patología

www.elsevier.es/patologia

Revisión

La matriz extracelular: de la mecánica molecular al microambiente tumoral (parte II)

Tomás Álvaro [a,*], Rosa Noguera-Salvá [b] y Fernando Fariñas-Guerrero [c]

[a] *Servicio de Patología, Hospital Verge de la Cinta, Tortosa, Tarragona, España*
[b] *Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Valencia, España*
[c] *Instituto de Patología y Enfermedades Infecciosas, Málaga, España*

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:
Recibido el 19 de octubre de 2009
Aceptado el 28 de diciembre de 2009
On-line el 20 de febrero de 2010

Palabras clave:
Matriz extracelular
Sistema básico de Pischinger
Tensegridad
Integrinas
Desmoplasia
Cáncer

RESUMEN

Introducción: La matriz extracelular (MEC) representa una red tridimensional que engloba todos los órganos, tejidos y células del organismo. Constituye un filtro biofísico de protección, nutrición e inervación celular y el terreno para la respuesta inmune, angiogénesis, fibrosis y regeneración tisular. También representa el medio de transmisión de fuerzas mecánicas a la membrana basal, que a través de las integrinas soporta el sistema de *tensegridad* y activa los mecanismos epigenéticos celulares.

Método y resultados: La revisión de la literatura y actualización del tema muestran como la alteración de la MEC supone la pérdida de su función de filtro eficaz, nutrición, eliminación, denervación celular, pérdida de la capacidad de regeneración y cicatrización y alteración de la transmisión mecánica o mecanotransducción. También la pérdida del sustrato para una correcta respuesta inmune ante agentes infecciosos, tumorales y tóxicos.

Esta segunda parte de revisión de la MEC considera los tumores como tejidos funcionales conectados y dependientes del microambiente. El microambiente tumoral, constituido por la MEC, células del estroma y la propia respuesta inmune son determinantes de la morfología y clasificación tumoral, agresividad clínica, pronóstico y respuesta al tratamiento del tumor.

Conclusión: Tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, la comunicación recíproca entre células del estroma y el parénquima dirige la expresión génica. La capacidad oncogénica del estroma procede tanto de los fibroblastos asociados al tumor como de la celularidad de la respuesta inmune y la alteración de la *tensegridad* por la MEC. La transición epitelio-mesenquimal es el cambio que transforma una célula normal o «benigna» en «maligna». El citoesqueleto pseudomesenquimal otorga las propiedades de migración, invasión y diseminación, y viceversa, el fenotipo maligno es reversible a través de la corrección de las claves que facilita el microambiente tumoral.

© 2009 SEAP y SEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

The extracellular matrix: From the molecular mechanics to the tumoral microenvironment (part II)

Keywords:
Extracelular matrix
Pischinger basic system
Tensegrity
Integrins
Desmoplasia
Cancer

ABSTRACT

Introduction: The extracellular matrix (ECM) is a three-dimensional network that envelopes all the organs, tissues and cells of the body. A biophysical filter that provides protection, nutrition and cell innervation, it is the site for the immune response, angiogenesis, fibrosis and tissue regeneration. It is also the transport medium for mechanical forces to the basal membrane through integrins that support the tensegrity system, activating cellular epigenetic mechanisms.

Method and results: The review of the literature shows how the disruption of the ECM leads to a functional loss of nutrition, elimination, cell innervation, regenerative capacity and wound healing as well as alterations in mechanical transduction. This loss also disrupts the immune response to pathogens, tumour cells and toxins.

The second part of our revision of the ECM considers tumours as interconnected, functional tissues dependant on their microenvironment. The tumoural microenvironment, which is comprised of the ECM, stromal cells and the immune response, determines the morphology of the tumour and its classification as well as its clinical aggressivity, prognosis and response to treatment.

Conclusions: Both in physiological and pathological conditions, the reciprocal communication between the cells of the stroma and the parenchyma direct the genetic expression. The onocogenic capacity of the stroma depends not only on the fibroblasts associated with the tumour but also on the cellularity of

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: talvaro.ebre.ics@gencat.cat (T. Álvaro).

1699-8855/$ - see front matter © 2009 SEAP y SEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.
doi:10.1016/j.patol.2009.12.002

the immune response and the alteration in the tensegrity model of the ECM. The epithelial-mesenchymal transition is the change which transforms a normal, or benign, cell into a malignant one. The "pseudomesenchymal" cytoskeleton provides the properties of migration, invasion and dissemination, and vice-versa: the malignant phenotype is reversible by correction of the key factors that create the tumoural microenvironment.

© 2009 SEAP y SEC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

En honor a Alfred Pischinger, padre de la histoquímica y creador del concepto de sistema básico o tercer sistema, lugar de asiento de la función transmisora de materia, energía e información para todo el organismo (fig. 1).

Introducción

La primera parte de este trabajo[1] se ha dedicado al concepto de matriz extracelular (MEC) como red tridimensional que engloba de una vez todos los órganos, tejidos y células del organismo. La MEC constituye un filtro biofísico, a través del cual las células se protegen, se nutren y se inervan. Estructurada sobre la base de un colágeno firme y una elastina flexible, accesibles a estudio in vivo mediante microscopía multifotónica, incluye entre sus múltiples funciones la de servir de reservorio para diferentes moléculas de la información, como neurotransmisores, hormonas o citocinas. Constituye el lugar de encuentro para las diversas subpoblaciones celulares que constituyen la respuesta inmune, el proceso de angiogénesis, la fibrosis y la regeneración tisular. Representa el medio de transmisión de fuerzas mecánicas a la membrana basal y a todo el aparato de mecanotransducción celular, que a través del sistema de las integrinas pone en marcha el sistema de *tensegridad* y la activación de los mecanismos epigenéticos celulares. Finalmente, la MEC tiene unas características electromagnéticas cuyas propiedades resultan clave en el mantenimiento de su función, con un potencial eléctrico de 240 μV, oscilante con el ritmo circadiano y que aumenta en la fase ácida de un proceso inflamatorio y tiende a disminuir en la fase alcalina. La alteración de la MEC supone en primer lugar la pérdida de su función de filtro eficaz, tanto de nutrición como de eliminación, con las consiguientes repercusiones para las células parenquimatosas. Asimismo, supone la denervación celular, la pérdida de la capacidad de regeneración y cicatrización y la alteración de la transmisión mecánica o mecanotransducción. También la pérdida del sustrato para una correcta respuesta inmune ante agentes infecciosos, tumorales y tóxicos.

Esta segunda parte de revisión de la MEC considera los tumores como tejidos funcionales conectados y dependientes del microambiente (fig. 2). Tanto en condiciones fisiológicas como

Figura 1. Alfred Pischinger, padre de la histoquímica y creador del concepto de sistema básico o tercer sistema, lugar de asiento de la función transmisora de materia, energía e información para todo el organismo.

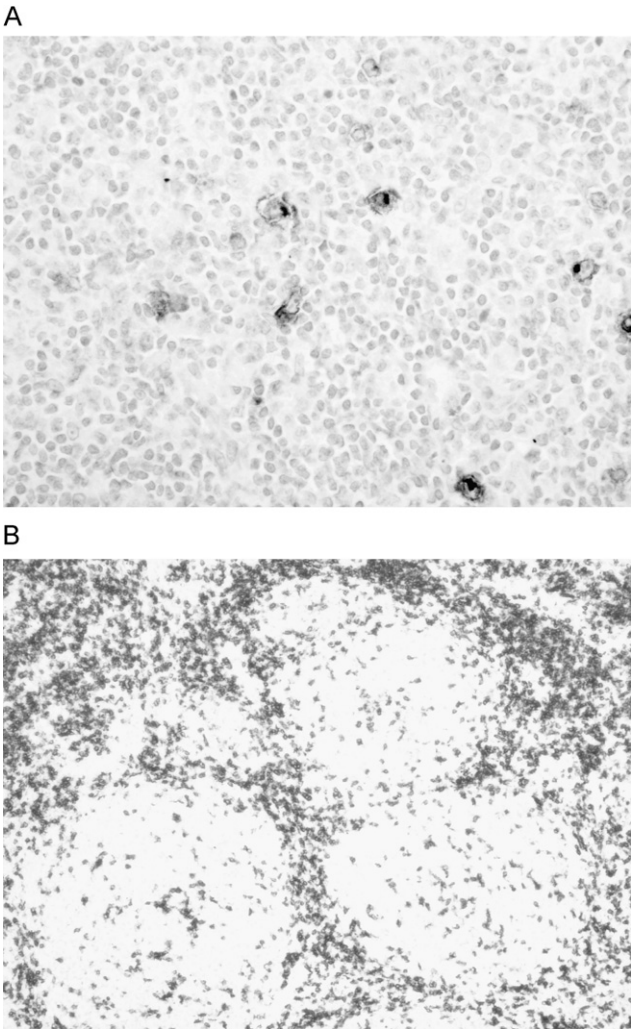

Figura 2. A) Linfoma de Hodgkin, CD30. B) Linfoma folicular, CD3. Estos dos síndromes linfoproliferativos constituyen buenos ejemplos que permiten considerar a los tumores como tejidos funcionales conectados y dependientes del microambiente. El microambiente tumoral está constituido por la MEC, células del estroma y la propia respuesta inmune, todos ellos determinantes de la morfología y clasificación tumoral, agresividad clínica, pronóstico y respuesta al tratamiento.

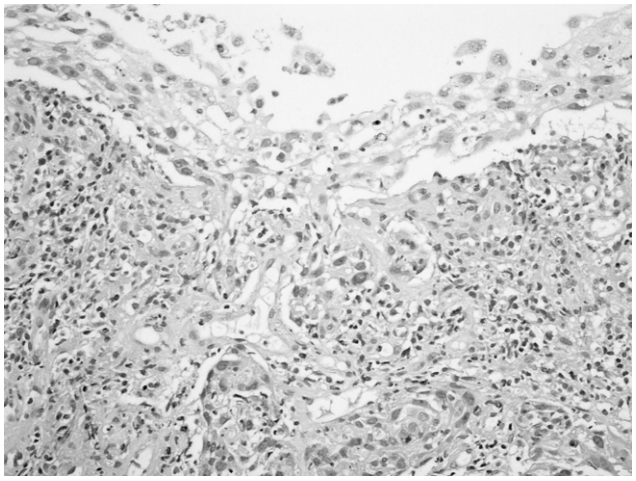

Figura 3. Carcinoma de cérvix. La transición epitelio-mesenquimal es el cambio que transforma una célula normal o «benigna» en «maligna». El citoesqueleto pseudomesenquimal otorga a la célula epitelial transformada las propiedades de migración, invasión y diseminación, y viceversa, el fenotipo maligno puede ser reversible a través de la corrección de las claves que facilita el microambiente tumoral.

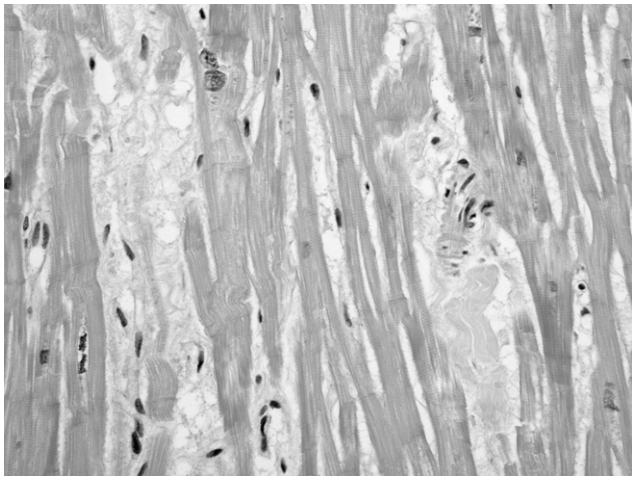

Figura 4. En el corazón, la interacción entre la MEC y los miocitos determina la remodelación miocárdica. Esta se acompaña de alteraciones en la estructura y la función, afectando la perfusión, el metabolismo cardíaco y la comunicación de los miocitos. Las manifestaciones clínicas de estos cambios son la pérdida de la capacidad de reparación, la disfunción sistólica o diastólica y el fallo cardíaco. Ello hace de la MEC una potencial diana terapéutica en patología cardíaca.

patológicas, la comunicación recíproca entre células del estroma y el parénquima dirige la expresión génica. El microambiente tumoral, constituido por la MEC, las células del estroma y la propia respuesta inmune son determinantes, no solo de la morfología y clasificación tumoral, sino también de la agresividad clínica, el pronóstico y la respuesta al tratamiento del tumor. La capacidad oncogénica del estroma procede tanto de los fibroblastos asociados al tumor como de las células linfoides que constituyen la respuesta inmune, y del estímulo mecánico de *tensegridad* de la MEC. La evidencia de que la suerte de una célula no se decide por sus genes de manera lineal, en contra del determinismo genético y la capacidad de considerar el conjunto de miles de moléculas, genes, proteínas, iones, lípidos, etc., que confluyen para realizar una única función celular o tisular, ha dado lugar al concepto de hiperestructuras y a la idea de atractores, sacada de las matemáticas del caos y aplicadas ahora al cáncer[2].

La definición de cáncer como una enfermedad de la proliferación celular está en revisión, ya que la desregulación del crecimiento celular no es suficiente para hacer un tejido maligno, como ocurre en una simple verruga, o para constituir una amenaza para la vida del paciente, como no es capaz de conseguir un carcinoma basocelular. El cambio que transforma una célula proliferativa normal o «benigna» en «maligna» consiste en el cambio fenotípico de la transición epitelio-mesenquimal (fig. 3), fruto de cambiar el citoesqueleto epitelial por un fenotipo pseudomesenquimal, que otorga las propiedades de migración, invasión y diseminación. La interacción mesénquima-epitelio, influenciada por señales reguladoras extracelulares que proceden del microambiente tumoral, conforman el marco epigenético y la consideración de las células tumorales como atractores que constituyen las bases no genéticas de la progresión tumoral. La inducción de cambios en la MEC es suficiente para inducir el fenotipo tumoral, y viceversa, ciertos tumores pueden regresar restaurando una MEC que permita una correcta interacción entre el epitelio y el estroma. El hecho experimental que el fenotipo maligno es reversible a través de la corrección de las claves que facilita el microambiente tumoral abre las puertas a un nuevo enfoque para avanzar en un tratamiento del cáncer, más amigable y respetuoso con la consideración del organismo como un todo. Asimismo, invita a considerar el cáncer como una enfermedad del desarrollo, más que como una enfermedad de la proliferación celular.

Fisiopatología de la MEC

La MEC es responsable de determinar la especificidad tisular y, asimismo, se asocia de manera específica a todo tipo de enfermedades. Por ejemplo, en tejidos normales participa activamente en el desarrollo y la maduración del SNC, su remodelación, la guía axonal, la regeneración tras lesión y la capacidad de plasticidad neural[3], función de la célula de Schwann[4] o el embarazo[5]. En enfermedades autoinmunes podemos mencionar la glándula lacrimal y el aumento de la degradación de la MEC en relación con el síndrome de Sjögren[6]. En enfermedad cardiovascular la MEC determina alteraciones cardíacas como disfunción sistólica o diastólica, la remodelación y el fallo cardíaco[7] (fig. 4) o renales como la glomeruloesclerosis[8].

La MEC puede suponer tanto un estímulo de supervivencia para la célula como afectar su viabilidad de manera negativa. Las moléculas de la MEC están en relación con los procesos de vida y muerte celular, a través del equilibrio entre las metaloproteinasas y sus inhibidores, y pueden jugar un importante papel en la progresión tumoral, induciendo o suprimiendo la apoptosis[9]. Constituyen en la actualidad potenciales dianas terapéuticas en procesos tan dispares como los inflamatorios[10] o la enfermedad neoplásica[11]. En el proceso de metástasis podemos mencionar el cáncer de próstata y su estrecha asociación con los cambios de la MEC[12] (fig. 5). Las alteraciones genéticas de las células tumorales prostáticas no son suficientes para conferir el potencial metastático al hueso y otros órganos, que el tumor obtiene del microambiente celular[13]. En la mama determina tanto la morfología como la función glandular a través de la interacción entre el epitelio ectodérmico y el mesénquima mesodérmico; además, su colaboración es necesaria en la disrupción de la organización tisular para la progresión de los carcinomas de este órgano[14]. Aquí, como en el melanoma[15] y en tantos otros tumores, el estadiaje se elabora en base a cómo de alterada se encuentra la arquitectura del órgano donde se desarrolla el tumor. En melanoma la degradación de la membrana basal y la remodelación de la MEC están producidas tanto por las metaloproteinasas como por sus inhibidores, los cuales son

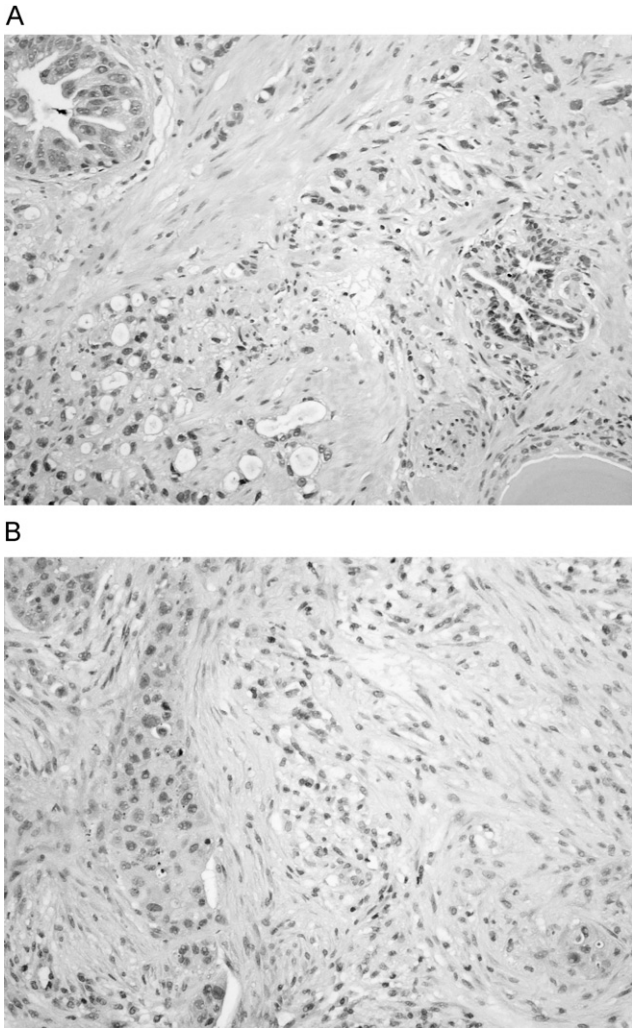

Figura 5. A) Carcinoma de próstata. B) Carcinoma de mama. La comunicación recíproca entre células del estroma y el parénquima tisular dirige la expresión génica. En estos tumores la capacidad oncogénica del estroma procede de los fibroblastos asociados al tumor, de la respuesta inmune y de la alteración de la *tensegridad*. La pérdida de la arquitectura tisular convierte a la lesión en un tumor maligno y la rigidez de la MEC, la neoangiogenesis y la desmoplasia producen un aumento de consistencia que permite la detección clínica del tumor. Existe una estrecha asociación entre los cambios de la MEC y el proceso de metástasis.

sintetizados no solo por las células tumorales, sino también por las células del estroma, las cuales contribuyen así a la progresión del melanoma[16].

Sin embargo, la pregunta interesante y que a fecha de hoy permanece sin respuesta es si dichos cambios son causa o efecto, esto es: ¿son las células tumorales las que sufren primero los cambios que las convierten en agentes de destrucción de la arquitectura tisular?, o bien ¿está alterada la arquitectura tisular antes de la aparición de las células malignas? Si bien parece que ambas cosas suceden, sorprendentemente para los supuestos manejados de forma habitual hasta hoy, las evidencias disponibles apuntan a que es la pérdida tisular y de la arquitectura del órgano lo que convierte a la lesión en tumor maligno (fig. 5). La homeostasis tisular depende del equilibrio entre las células de los tejidos y su microambiente estromal. Las células parenquimatosas se anclan de forma tridimensional a través de las interacciones con la MEC. Este contacto es esencial para la supervivencia celular, hasta el punto de que cuando una célula se despega de la red y queda sin referencias de localización, ello conlleva un tipo particular de muerte celular programada llamada anoikis[17]. Solo las células tumorales metastásicas escapan a esta ley, que como veremos tiene repercusiones importantes en patología oncológica.

La mayoría de los tumores malignos presentan un aumento de consistencia que se debe a la rigidez de su MEC (fig. 5). La alteración mecánica de la matriz activa las integrinas, que además de promover la proliferación celular a través de la vía Ras y Erk, afecta la contractilidad celular a través de Rho[18], lo que conforma una pescadilla que se muerde la cola, en la que a más rigidez mayor estímulo de las integrinas que, al activarse, acaban produciendo mayor rigidez, lo que se concreta a la postre en el fenotipo maligno de los tumores epiteliales.

La MEC, nodriza del microambiente tumoral

Se conocen más de 25 metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP)[19], con un importante papel fisiopatológico en diferentes situaciones clínicas que van desde enfermedades autoinmunes hasta el cáncer[20]. Del balance entre MMP y sus inhibidores (MMPI), estos últimos encargados de reducir la excesiva actividad proteolítica en la MEC de los primeros, dependen diversos procesos fisiológicos y patológicos, incluyendo carcinogénesis, angiogénesis e implantación embrionaria[5].

La misma comunicación recíproca entre células del estroma y el epitelio que se encarga de dirigir la expresión génica y mantener la función normal de los órganos actúa en el cáncer[21]. Ya son varias décadas en las que la mayoría de estudios sobre el cáncer están centrados sobre las consecuencias de las mutaciones de diferentes genes críticos implicados en la proliferación, apoptosis y diferenciación celular tumoral, oncogenes y genes supresores de tumor. En la actualidad este determinismo genético está ya en revisión ante la evidencia de que los tumores son entidades celulares heterogéneas, cuyo crecimiento depende de la interacción entre dichas células genéticamente alteradas y el microambiente tumoral en el que se desarrollan[22]. Dicho microambiente está constituido por la MEC, las células del estroma y la propia respuesta inmune, determinantes no solo de la morfología y clasificación del tumor, sino también de su agresividad clínica, su pronóstico y su respuesta al tratamiento[23,24] (fig. 2). Podría considerarse, pues, a un tumor como un tejido funcional conectado y dependiente del microambiente que le envía señales y recoge las emitidas por el propio parénquima tumoral. No es posible seguir considerando un tejido canceroso básicamente como un desorden de la proliferación celular, ya que lo que verdaderamente confiere el fenotipo tumoral maligno es: 1) la destrucción de la integridad de la arquitectura tisular, 2) la invasión de los límites histológicos y anatómicos y 3) la metástasis a distancia. Esto es lo mismo que decir que el cáncer es realmente una enfermedad del desarrollo, cuyo crecimiento anómalo podría ser normalizado a través del mesénquima, otros tejidos embrionarios o la propia MEC[25], y viceversa: los cambios en la MEC y la arquitectura normal del tejido son tan oncogénicos como la radiación o los virus[26].

Igual que en condiciones fisiológicas, en los tumores el microambiente estromal que contribuye a la homeostasis tisular incluye una fracción celular compuesta por fibroblastos, miofibroblastos, la célula glial, células de tejido adiposo, vascular, músculo liso y células inmunes, todas ellas dispuestas sobre una compleja red de soporte formada por las proteínas colágenas, lamininas, fibronectina y proteoglicanos de la MEC[27]. La alteración de la composición de la MEC desencadena la aparición de diversas enfermedades, incluyendo el cáncer, donde puede desencadenar un papel primordial. La capacidad oncogénica del estroma procede del efecto tanto de los fibroblastos asociados al tumor,

como de las células linfoides que constituyen la respuesta inmune y del estímulo mecánico de *tensegridad* de la MEC, incluyendo las alteraciones de la membrana basal y la composición de la matriz intersticial, junto con los elementos químicos y citocinas, para los que sirve de reservorio.

Ya a finales del siglo XIX, Paget propuso que el crecimiento tumoral dependía de la interacción de las células tumorales con las células del estroma. Los estudios actuales muestran que las células del estroma tumoral derivan de progenitores de la médula ósea, que son movilizados a través de la circulación hasta incorporarse al microambiente tumoral[28], donde se desarrollarán a través de diferentes líneas celulares en endotelios, fibroblastos, histiocitomacrófagos y constituirán el estroma tumoral. Dicho microambiente tumoral está implicado en la regulación del crecimiento celular tumoral, configura el potencial metastásico del tumor y es determinante en la respuesta al tratamiento[27]. La colaboración de una de estas células en particular, los macrófagos, resulta imprescindible en el proceso de migración, invasión y metástasis tumoral[29], pero son las células madre mesenquimales residentes en el estroma tumoral las que empujan a las células epiteliales del cáncer de mama a metastatizar[30]. Las células madre derivadas de la médula ósea son las precursoras de las metástasis en órganos a distancia, siendo ellas las que se encargan de activar un microambiente adecuado, de preparar un nicho óptimo para acoger a las células del tumor que más tarde llegarán[31,32]. Los fibroblastos, potentes productores de proteoglucanos y glucosaminoglucanos en cuestión de minutos, que durarán varios meses, son los principales tejedores de la MEC. Su función se ve seriamente alterada cuando son portadores de mutaciones congénitas, como ocurre en la poliposis juvenil, o de mutaciones adquiridas, y entonces desempeñan un papel fundamental en la carcinogénesis[33]. Poseen la capacidad de cambiar su fenotipo y su función tanto en un contexto fisiológico como patológico. En el contexto tumoral podemos encontrar los fibroblastos como miofibroblastos, fibroblastos peritumorales, células estromales reactivas y fibroblastos asociados a carcinoma (CAF) (fig. 5), que característicamente muestran un elevado índice proliferativo, actina-α y están rodeados de abundantes fibras colágenas, constituyendo el cuadro morfológico de la desmoplasia. Los fibroblastos constituyen una fuerza de primer orden a la hora de potenciar el desarrollo tumoral[34], pudiendo constituir tanto un estímulo positivo como negativo y actuando tanto sobre las células tumorales como sobre el resto del microambiente tumoral[35].

Las células del estroma y sus productos poseen la capacidad de transformación oncogénica de las células del órgano donde asientan[36]. Esto lo consiguen a través de la alteración de la regulación homeostática del tejido, que en condiciones normales se encarga de mantener la arquitectura, la adhesión, las indicaciones de muerte celular programada y la proliferación celular. Si las células del órgano que sea dejan de recibir esa información procedente de la MEC, se alterarán la función, luego la estructura y finalmente se producirá el cambio oncogénico. La propia progresión tumoral supone una interacción continuada entre las células del parénquima y del estroma, del que se derivarán las características histológicas y el comportamiento clínico del tumor[23]. La remodelación del microambiente tumoral supone la liberación de factores de crecimiento asociados a la MEC con capacidad de estimular tanto a las células endoteliales como a la línea celular del tumor. Finalmente el microambiente celular determinará tanto la respuesta al tratamiento citotóxico como el pronóstico del tumor.

Respuesta inmune sobre el lecho tumoral

El papel de la respuesta inmune en la progresión tumoral abarca una gran cantidad de frentes, que incluyen: a) la colaboración de las células dendríticas que se encargan de presentar los antígenos procedentes de los primeros estadios del desarrollo tumoral; b) la presencia constante de inflamación crónica, presente en mayor o menor grado en todos los tumores y factor crítico que propicia el desarrollo tumoral; c) la modulación de la expresión génica de las células tumorales a modo de respuesta epigenética al estímulo de las células inmunes; d) la producción de mediadores proangiogénicos claves para el desarrollo de la vasculatura que permita el desarrollo tumoral, y e) la producción de proteasas celulares que permiten la remodelación tisular en el avance del tumor, invasión y metástasis.

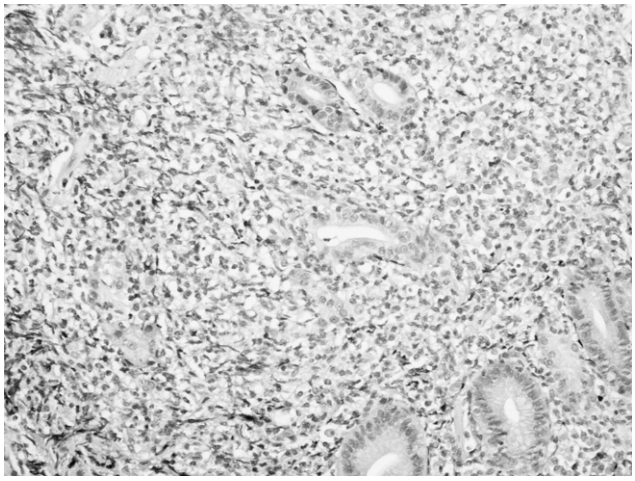

Figura 6. Estómago, linfoma tipo MALT. El crecimiento del linfoma gástrico asociado a las mucosas depende del estímulo que la clona B recibe de los linfocitos T que responden a la infección por *Helycobacter pylorii.* El tratamiento antibiótico elimina el *H. pylorii,* entonces la respuesta inflamatoria y los linfocitos T desaparecen, y sin ellos la clona tumoral B regresa.

Ya Virchow anunció que el cáncer se origina en sitios de inflamación crónica. La cantidad de datos clínicos y experimentales que relacionan inflamación y cáncer es abrumadora. Tumores en el pulmón, mesotelioma, vejiga, colon, aparato genital masculino y femenino, páncreas, esófago, glándula salival, linfomas, próstata, hígado, vesícula biliar, estómago, ovario y, prácticamente, cualquier otra localización del organismo disponen de suficientes evidencias como para acreditar, sin lugar a dudas, el papel de la inflamación en el desarrollo de tumores[35] (fig. 6). Los agentes etiológicos primarios pueden ser tan variados como virus, bacterias, estímulos mecánicos, agentes tóxicos, fibras de asbesto o gusanos. El mínimo común denominador de todos ellos es el estímulo inflamatorio crónico sobre el tejido de asiento con la consiguiente alteración de la MEC. Ello ha conducido a la propuesta de considerar muchos tumores simplemente como parte de la respuesta normal del huésped a la infección y la inflamación.

Inflamación y cáncer comparten numerosos procesos y están estrechamente relacionados. Especialmente polinucleares neutrófilos, células dendríticas, macrófagos, células NK y mastocitos desempeñan un importante papel funcional en tejidos preneoplásicos y ya tumorales. Cada estadio del desarrollo tumoral avanza de acuerdo a señales específicas, de tal forma que mientras la activación de la respuesta inmune en estadios avanzados puede ser beneficiosa para el huésped, su activación durante estadios tempranos puede alentar el desarrollo del tumor. El microambiente tumoral está constituido por una mezcla específica de células inmunes que expresan un perfil característico para cada tipo tumoral[23] y del que se deriva la eficacia o ineficacia de la respuesta inmune ante el tumor. Aunque las células linfoides que infiltran los tumores se suelen considerar como citotóxicas para las células que constituyen el tumor, lo cierto es que con

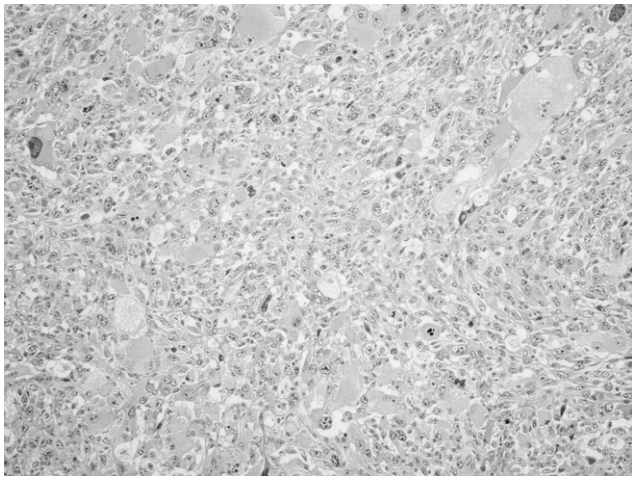

Figura 7. Tumor maligno a pequeño aumento. Ni la suerte de una célula y mucho menos de un tumor se deciden por sus genes de manera lineal. En el seno del tejido tumoral coinciden de forma simultánea miles de moléculas, genes activados, afinidades proteolipídicas, iones y muchos otros elementos que confluyen para realizar una única función tisular. Una lectura de nivel superior de estos miles de cambios la dan las llamadas hiperestructuras, que tratan de manejar la avalancha de datos procedentes de los diversos campos de la genómica, la proteómica y toda la fisiología celular.

frecuencia dichas células contribuyen al proceso oncogénico, al crecimiento tumoral y a su diseminación, además de desencadenar una respuesta de inmunosupresión asociada al tumor. Algunas células concretas se encargan de activar procesos específicos dentro del tejido tumoral, como es el caso de los mastocitos y la neovascularización tumoral. Asimismo, células dendríticas y macrófagos pueden aportar factores de crecimiento a las células malignas, a veces instigadas por secuencias virales que solo afectan a estas células del estroma y no a las células tumorales propiamente dichas. La misma célula, en microambientes distintos, actúa de manera diferente[37], como corresponde a su facultad de diálogo y respuesta dinámica al estímulo procedente del ambiente estromal.

Biología del caos

Los mediadores derivados del proceso inflamatorio con capacidad para favorecer la proliferación celular, la inestabilidad genómica y las metástasis son prácticamente innumerables. La liberación de citocinas y quimocinas, la liberación de mediadores citotóxicos incluyendo especies de oxígeno reactivo, la secreción de proteasas—especialmente metaloproteasas–, mediadores solubles de muerte y proliferación celular como TNF, interleucinas, interferones y un largo etcétera. Son tantos, y con tantas posibles funciones, que el estudio individualizado de cualquiera de esos agentes, en un mar de posibles influencias, ha mostrado hasta al momento un alcance limitado. Ello invita a una lectura de un nivel superior, las llamadas hiperestructuras, que tratan de manejar la avalancha de datos procedentes de los diversos campos de la genómica, la proteómica y toda la fisiología celular[38] (fig. 7). La idea es ser capaz de considerar el conjunto de miles de moléculas, genes, proteínas, iones, lípidos, etc., que confluyen para realizar una única función celular o tisular, por ejemplo, las hiperestructuras responsables de la iniciación de la replicación de ADN, o la idea de atractores, sacada de las matemáticas del caos y aplicadas ahora al cáncer en busca de nuevas respuestas, ante la evidencia de que la suerte de una célula no se decide por sus genes de manera lineal[39,40].

El mensaje, desde luego, es estimulante, porque supone cambiar la idea de cáncer como proceso celular autónomo por la de cáncer como una enfermedad del desarrollo, que incluye una alteración de la interacción mesénquima-epitelio en el caso del carcinoma (ver más adelante). Esta interacción está influenciada por señales reguladoras extracelulares que proceden del microambiente y de las células no neoplásicas del estroma tumoral. Todo ello compone un marco epigenético y la consideración de las células tumorales como atractores que constituyen las bases no genéticas de la progresión tumoral[41].

De la transición epitelio-mesenquimal a la desmoplasia

A nivel celular individual y como si se tratase de leucocitos en un proceso inflamatorio, las células tumorales adherentes sufren diapédesis, emitiendo pseudopodios que les permiten penetrar por las uniones intercelulares de los endotelios, con los consecuentes ordenamientos fibrilares citoesqueléticos[1]. La invasión, el marcador por excelencia de malignidad, supone la capacitación celular de infiltrar los tejidos vecinos y penetrar el endotelio vascular, apareciendo elementos celulares independientes de la masa proliferativa principal, al otro lado de la membrana basal; pero, ¿qué es lo que capacita a una de esas células o pequeño grupo de ellas para encontrarse aisladas dentro de la matriz intersticial estromal? Pues parece ser que ese cambio que transforma una célula proliferativa normal o «benigna» en «maligna» consiste en un cambio fenotípico peculiar, que se conoce como transición epitelio-mesenquimal[42] (fig. 3). Este cambio consiste en la adquisición por parte de dicha célula de la capacidad de romper el contacto con sus células hermanas y aumentar su motilidad, lo cual es el fruto de cambiar su citoesqueleto epitelial con sus correspondientes propiedades por un fenotipo pseudomesenquimal, que le permite la migración, la invasión y la diseminación[43]. Mientras que las células normales se adhieren a su entorno a través de las integrinas y el cuerpo celular presenta un grado de consistencia normal, las células tumorales pierden dicha consistencia y *tensegridad,* quedando como elementos fácilmente deformables (causa del pleomorfismo), con elevada elasticidad (facilitando la infiltración) y con un acentuado grado de movilidad (permitiendo las metástasis)[44]. En líneas celulares de cáncer de mama, es precisamente el perfil génico de expresión basal predominantemente mesenquimal el que presenta mayor capacidad invasiva[45], en comparación con los perfiles predominantemente luminal y mixto basal/luminal.

En los linfomas, los reguladores de la MEC y muy especialmente la matrix metallopeptidase 9 (MMP-9) afectan la actividad angiogénica tanto a nivel local, de los tejidos infiltrados por el tumor, como a distancia, de la médula ósea[46]. La vasculatura anómala en el estroma, así como la fibrosis y el aumento de presión intersticial, confieren la rigidez del tumor a la palpación (fig. 5). Este efecto depende directamente de las señales alteradas procedentes de las integrinas que a través del proceso de la desmoplasia promueve, asimismo, la transformación de las células tumorales en un circuito de retroalimentación positiva. En condiciones de homeostasis, las fibrillas de colágeno están sometidas a un escaso recambio, pero este se acelera de manera notable bajo condiciones de remodelación tisular y desarrollo tumoral, tal y como se puede estudiar a través de los niveles séricos de sus productos de degradación, especialmente de colágeno tipo I, el componente principal del estroma neoplásico.

La reacción desmoplástica es de observación común en numerosos tumores sólidos, como la mama, la próstata, el colon o el pulmón (fig. 5). Esta reacción supone un cambio fenotípico particular dependiente de un estroma funcional y estructuralmente alterado. En el se encuentran elevados niveles de TGF-β y

PDGF producidos por las células mesenquimales del estroma tumoral e inductores de los cambios inmunofenotípicos. Estos son observables al MO con el estudio de actina-α, miosina, vimentina, desmina y la producción alterada de varias proteínas de la MEC, como la colágena, laminina, tenascina, MMP y sus inhibidores y varios factores de crecimiento[36]. Curiosamente, dichos cambios propios del estroma tumoral son también expresados de la misma manera en respuesta a cambios inflamatorios y de cicatrización.

El estudio de la MEC ha permitido dar todavía un paso más allá, al comprobar como los componentes del microambiente celular tumoral no solo son fundamentales en la regulación de la progresión tumoral[35,47], sino que ya lo son antes de que el tumor aparezca. En efecto, las células estromales pueden producir la transformación de las células adyacentes a través de la alteración de la regulación homeostática tisular que incluye el control de la arquitectura, la adhesión, la muerte celular y la proliferación[36]. La sobreexpresión de las propias moléculas de la MEC, que en condiciones fisiológicas promueven la supervivencia celular, puede también aumentar la proliferación tumoral y conferir resistencia al tratamiento quimioterápico, como ocurre en el carcinoma de célula pequeña de pulmón. Además, el propio tumor puede mostrar capacidad de síntesis de alguna de estas moléculas de la MEC. En el carcinoma escamoso de cabeza y cuello, uno de los tumores humanos con mayor capacidad de infiltración, es la MEC la que interviene ya sea acelerando o retardando el desarrollo, y la progresión del tumor[48].

Mecánica molecular

La transformación maligna se acompaña de una pérdida progresiva de la homeostasis local y la alteración de la arquitectura tisular. Este hecho culmina con la invasión celular tumoral y la producción de metástasis a distancia. A lo largo de todo ese proceso, se producen una serie de cambios ligados a la *tensegridad* celular y tisular, que se traducen en un cambio del fenotipo mecánico tanto de la célula tumoral como de su microambiente[1]. Las alteraciones micromecánicas de la MEC, así como la remodelación del estroma por parte de la célula tumoral, están ligadas a los fenómenos de displasia, infiltración y metástasis[49]. El conocimiento de los mecanismos moleculares gracias a los cuales una célula percibe, procesa y responde a los estímulos mecánicos abre una perspectiva completamente nueva de abordaje a la biología del cáncer y su tratamiento.

Entre las propiedades celulares críticas para el fenotipo maligno se encuentran la morfología y estructura celular, la motilidad, la capacidad de proliferación y la disminución de la diferenciación. Las alteraciones en la interacción mecánica entre las células y su microambiente contribuyen a la displasia celular. En el epitelio mamario in vitro, conforme aumenta la rigidez de la membrana basal, se altera la expresión de integrinas, aumenta la fuerza de las adhesiones focales, se desorganiza la arquitectura acinar y se produce la invasión de la MEC[50,51]. Y viceversa, la regulación homeostática de la fuerza tensional celular es capaz de revertir el fenotipo maligno[50].

La emisión de proyecciones similares a filopodios pero con una elevada densidad de actina, conocidos como invadopodios, son las proyecciones que la célula tumoral utiliza para facilitar la digestión e invasión de la MEC, remodelando la matriz existente y estableciendo nuevas vías o caminos como raíles en la MEC que servirán de soporte a la invasión celular tumoral[52]. En la acción la célula tumoral sufrirá importantes deformaciones citoplásmicas y nucleares, con los correspondientes cambios en la organización del citoesqueleto, al atravesar un estroma que en el caso del cáncer de mama es hasta 20 veces más rígido que la MEC de la glándula normal. A su vez, la expansión tumoral comprime la MEC adyacente, con la consecuente obstrucción al flujo vascular, linfático y del espacio intersticial. La expansión tumoral se asocia, por un lado, a un incremento del depósito de matriz y densificación de la MEC adyacente al tumor y, por otro, a secreción masiva de MMP y digestión matricial peritumoral. Si bien no es este el lugar de profundizar en cada uno de estos pasos, si deseamos dejar constancia de este nuevo enfoque que aúna los campos de conocimiento y experimentación de la biología celular, la biofísica, la bioingeniería y la imagen, entre otros, dando lugar al naciente campo de estudio de lo que podríamos llamar «mecánica molecular».

Consecuencias terapéuticas de la regulación del tercer sistema

En la primera parte de este trabajo[1] hemos revisado la constitución de integrinas y moléculas de adhesión celular (CAM). Los defectos en la síntesis de integrinas pueden originar graves trastornos, como la deficiencia de adhesión leucocitaria tipo I, enfermedad autosómica recesiva que provoca un defecto en las integrinas de tipo beta-2. Actualmente, se han aprobado 2 fármacos que actúan sobre las interacciones de las integrinas, anticuerpos monoclonales humanizados, el efalizumab, que interacciona con la integrina lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1) y se aplica en el tratamiento de las placas cronificadas de enfermos con psoriasis, y el natalizumab, que interacciona con VLA-4 y se emplea en el tratamiento de la esclerosis múltiple.

Con respecto a las CAM, más del 3% de los genes de los vertebrados codifican moléculas de adhesión, cuyos cambios en estas moléculas tienen importantes consecuencias en el comportamiento celular. En los últimos años, gran cantidad de investigaciones otorgan a las CAM un papel relevante en patología, como el establecimiento de metástasis, la angiogénesis de tumores o las enfermedades autoinmunes. Estos nuevos datos están generando numerosos proyectos para la investigación de nuevas terapias que tienen a las CAM como dianas terapéuticas, generalmente, a través de anticuerpos frente a CAM para modular su acción.

La perspectiva de la transición epitelio-mesenquimal en tumores epiteliales ha abierto la puerta a una línea de tratamiento que considera los mecanismos genéticos y epigenéticos ligados a la resistencia a la quimioterapia[53]. En el cáncer de mama, el tratamiento con doxorubicina produce un aumento de fibulina-1, una proteína de la MEC, así como sus proteínas de unión, fibronectina y laminina-1, lo cual supone un motivo de quimiorresistencia[54]. Los anticuerpos monoclonales contra fibulina-1 son capaces de revertir dicha quimioresistencia y la inhibición de la metaloproteinasa parece tener efecto terapéutico[55].

En cáncer, la mayoría de los tratamientos disponibles en la actualidad tienen como objetivo la eliminación de las células tumorales que han perdido su programa de función normal. El problema es que la radioterapia o la quimioterapia destruyen también las células normales, y los propios oncólogos explican que estos tratamientos no curan[56]. Los agentes quimioterápicos a menudo basan su acción citotóxica en la modificación de las membranas celulares y el citoesqueleto. Por ejemplo, la doxorubicina produce peroxidación de las membranas celulares, el taxol incrementa la polimerización de la tubulina y la vincristina impide la adición de monómeros a los microtúbulos suprimiendo así la posibilidad de mitosis[44]. En linfoma folicular y linfoma difuso de células grandes, el tratamiento con lenalidomida afecta las sinapsis inmunes de los linfocitos T intratumorales[57]. Por la misma razón, los agentes quimioterápicos alteran la mecánica celular, lo cual aumenta el riesgo de complicaciones vasculares, como ocurre en el tratamiento de las leucemias. En ellas, los linfocitos tumorales tratados ven su rigidez incrementada debido

a la reorganización de los filamentos de actina, lo cual conlleva una disminución de la deformabilidad celular con la consiguiente leucostasis, obstrucción de la microcirculación y complicaciones vasculares[58].

Necesitamos un enfoque nuevo para avanzar en el tratamiento del cáncer, más amigable y respetuoso con el organismo global. El descubrimiento de que el fenotipo maligno es reversible a través de la corrección de las claves que facilita el microambiente tumoral[25] abre una nueva vía de conocimiento y experimentación a un nuevo y diferente nivel que los tratamientos citoreductores clásicos. Ciertamente, la inducción de cambios en la MEC, in vivo o in vitro, es suficiente para inducir el fenotipo tumoral y existen evidencias experimentales de cómo el efecto hormonal cancerígeno sobre un epitelio ocurre a través de la alteración de la interacción estromal-epitelial. Sin embargo, lo que es más extraordinario es que lo contrario también es verdad: ciertos tumores pueden regresar restaurando una MEC que permita una correcta interacción entre el epitelio y el estroma[22], es decir, el descubrimiento de que muchos comportamientos celulares son controlados por interacciones puramente físicas permiten el inicio de una nueva era que nos lleve a integrar los conocimientos actuales sobre la MEC y su función, la bio*tensegridad*, mecanotransducción, flujo energético, respuesta inmune, transición epitelio-mesenquimal, hiperestructuras y tantos otros avances de diversos campos que aportan una auténtica visión integral del proceso neoplásico y su correspondiente abordaje terapéutico.

Agradecimientos

A Lucía Álvaro, por su excelente colaboración en la transcripción del texto.

Bibliografía

1. Álvaro T, Noguera R, Fariñas F. La matriz extracelular: Morfología, función y *biotensegridad* (parte I). Rev Esp Pat. 2009;42:249–61.
2. Huang AC, Hu L, Kauffman SA, Zhang W, Shmulevich I. Using cell fate attractors to uncover transcriptional regulation of HL60 neutrophil differentiation. BMC Syst Biol. 2009;3:20.
3. Zimmermann DR, Dours-Zimmermann MT. Extracellular matrix of the central nervous system: from neglect to challenge. Histochem Cell Biol. 2008;130: 635–653.
4. Chernousov MA, Yu WM, Chen ZL, Carey DJ, Strickland S. Regulation of Schwann cell function by the extracellular matrix. Glia. 2008;56:1498–507.
5. Huang SC, Sheu BC, Chang WC, Cheng CY, Wang PH, Lin S. Extracellular matrix proteases-cytokine regulation role in cancer and pregnancy. Front Biosci. 2009;14:1571–88.
6. Schenke-Layland K, Xie J, Angelis E, Starcher B, Wu K, Riemann I, et al. Increased degradation of extracellular matrix structures of lacrimal glands implicated in the pathogenesis of Sjogren's syndrome. Matrix Biol. 2008;27:53–66.
7. Miner EC, Miller WL. A look between the cardiomyocytes: the extracellular matrix in heart failure. Mayo Clin Proc. 2006;81:71–6.
8. De Cavanagh EM, Ferder M, Inserra F, Ferder L. Angiotensin II, mitochondria, cytoskeletal, and extracellular matrix connections: an integrating viewpoint. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2009;296:H550–8.
9. Marastoni S, Ligresti G, Lorenzon E, Colombatti A, Mongiat M. Extracellular matrix: a matter of life and death. Connect Tissue Res. 2008;49:203–6.
10. Korpos E, Wu C, Song J, Hallmann R, Sorokin L. Role of the extracellular matrix in lymphocyte migration. Cell Tissue Res. 2009.
11. Denys H, Braems G, Lambein K, Pauwels P, Hendrix A, De Boeck A, et al. The extracellular matrix regulates cancer progression and therapy response: implications for prognosis and treatment. Curr Pharm Des. 2009;15:1373–84.
12. Stewart DA, Cooper CR, Sikes RA. Changes in extracellular matrix (ECM) and ECM-associated proteins in the metastatic progression of prostate cancer. Reprod Biol Endocrinol. 2004;2:2.
13. Morrissey C, Vessella RL. The role of tumor microenvironment in prostate cancer bone metastasis. J Cell Biochem. 2007;101:873–86.
14. Ghajar CM, Bissell MJ. Extracellular matrix control of mammary gland morphogenesis and tumorigenesis: insights from imaging. Histochem Cell Biol. 2008;130:1105–18.
15. Miller AJ, Mihm Jr MC. Melanoma. N Engl J Med. 2006;355:51–65.
16. Hofmann UB, Houben R, Brocker EB, Becker JC. Role of matrix metalloproteinases in melanoma cell invasion. Biochimie. 2005;87:307–14.
17. Gilmore AP. Anoikis. Cell Death Differ. 2005;12(Suppl 2):1473–7.
18. Huang S, Ingber DE. Cell tension, matrix mechanics, and cancer development. Cancer Cell. 2005;8:175–6.
19. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. Nat Rev Cancer. 2002;2:161–74.
20. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. Annu Rev Cell Dev Biol. 2001;17:463–516.
21. Bissell MJ, Aggeler J. Dynamic reciprocity: how do extracellular matrix and hormones direct gene expression? Prog Clin Biol Res. 1987;249:251–62.
22. Ingber DE. Can cancer be reversed by engineering the tumor microenvironment? Semin Cancer Biol. 2008;18:356–64.
23. Alvaro T, Lejeune M, Escriva P, Pons LE, Bosch R, Jaen J, et al. Appraisal of immune response in lymphoproliferative syndromes: a systematic review. Crit Rev Oncol Hematol. 2009;70:103–13.
24. Lejeune M, Alvaro T. Clinicobiological, prognostic and therapeutic implications of the tumor microenvironment in follicular lymphoma. Haematologica. 2009;94:16–21.
25. Kenny PA, Bissell MJ. Tumor reversion: correction of malignant behavior by microenvironmental cues. Int J Cancer. 2003;107:688–95.
26. Ingber DE. Tensegrity-based mechanosensing from macro to micro. Prog Biophys Mol Biol. 2008;97:163–79.
27. Li H, Fan X, Houghton J. Tumor microenvironment: the role of the tumor stroma in cancer. J Cell Biochem. 2007;101:805–15.
28. Roorda BD, ter Elst A, Kamps WA, de Bont ES. Bone marrow-derived cells and tumor growth: contribution of bone marrow-derived cells to tumor microenvironments with special focus on mesenchymal stem cells. Crit Rev Oncol Hematol. 2009;69:187–98.
29. Condeelis J, Pollard JW. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. Cell. 2006;124:263–6.
30. Karnoub AE, Dash AB, Vo AP, Sullivan A, Brooks MW, Bell GW, et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. Nature. 2007;449:557–63.
31. Hu M, Polyak K. Microenvironmental regulation of cancer development. Curr Opin Genet Dev. 2008;18:27–34.
32. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, Bramley AH, Vincent L, Costa C, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. Nature. 2005;438:820–7.
33. Haviv I, Polyak K, Qiu W, Hu M, Campbell I. Origin of carcinoma associated fibroblasts. Cell Cycle. 2009;8:589–95.
34. Olumi AF, Grossfeld GD, Hayward SW, Carroll PR, Tlsty TD, Cunha GR. Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. Cancer Res. 1999;59:5002–11.
35. Tlsty TD, Coussens LM. Tumor stroma and regulation of cancer development. Annu Rev Pathol. 2006;1:119–50.
36. Pupa SM, Menard S, Forti S, Tagliabue E. New insights into the role of extracellular matrix during tumor onset and progression. J Cell Physiol. 2002;192:259–67.
37. Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. Cancer Res. 2006;66:605–12.
38. Amar P, Ballet P, Barlovatz-Meimon G, Benecke A, Bernot G, Bouligand Y, et al. Hyperstructures, genome analysis and I-cells. Acta Biotheor. 2002;50:357–73.
39. Huang S, Ernberg I, Kauffman S. Cancer attractors: a systems view of tumors from a gene network dynamics and developmental perspective. Semin Cell Dev Biol. 2009;20:869–76.
40. Enver T, Pera M, Peterson C, Andrews. Stem cell states, fates, and the rules of attraction. Cell Stem Cell. 2009;4:387–97.
41. Huang S, Ingber DE. A non-genetic basis for cancer progression and metastasis: self-organizing attractors in cell regulatory networks. Breast Dis. 2006;26:27–54.
42. Guarino M, Rubino B, Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology. Pathology. 2007;39:305–18.
43. Lee JM, Dedhar S, Kalluri R, Thompson EW. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. J Cell Biol. 2006;172:973–81.
44. Suresh S. Biomechanics and biophysics of cancer cells. Acta Biomater. 2007;3:413–38.
45. Blick T, Widodo E, Hugo H, Waltham M, Lenburg ME, Neve RM, et al. Epithelial mesenchymal transition traits in human breast cancer cell lines. Clin Exp Metastasis. 2008;25:629–42.
46. Negaard HF, Svennevig K, Kolset SO, Iversen N, Lothe IM, Ostenstad B, et al. Alterations in regulators of the extracellular matrix in non-Hodgkin lymphomas. Leuk Lymphoma. 2009;50:998–1004.
47. Tlsty TD. Stromal cells can contribute oncogenic signals. Semin Cancer Biol. 2001;11:97–104.
48. Ziober AF, Falls EM, Ziober BL. The extracellular matrix in oral squamous cell carcinoma: friend or foe? Head Neck. 2006;28:740–9.
49. Kumar S, Weaver VM. Mechanics, malignancy, and metastasis: the force journey of a tumor cell. Cancer Metastasis Rev. 2009;28:113–27.
50. Paszek MJ, Zahir N, Johnson KR, Lakins JN, Rozenberg GI, Gefen A, et al. Tensional homeostasis and the malignant phenotype. Cancer Cell. 2005;8:241–54.
51. Johnson KR, Leight JL, Weaver VM. Demystifying the effects of a three-dimensional microenvironment in tissue morphogenesis. Methods Cell Biol. 2007;83:547–83.
52. Yamaguchi H, Lorenz M, Kempiak S, Sarmiento C, Coniglio S, Symons M, et al. Molecular mechanisms of invadopodium formation: the role of the N-WASP-Arp2/3 complex pathway and cofilin. J Cell Biol. 2005;168:441–52.

53. Sabbah M, Emami S, Redeuilh G, Julien S, Prevost G, Zimber A, et al. Molecular signature and therapeutic perspective of the epithelial-to-mesenchymal transitions in epithelial cancers. Drug Resist Updat. 2008;11: 123–51.
54. Pupa SM, Giuffre S, Castiglioni F, Bertola L, Cantu M, Bongarzone I, et al. Regulation of breast cancer response to chemotherapy by fibulin-1. Cancer Res. 2007;67:4271–7.
55. Jodele S, Blavier L, Yoon JM, DeClerck YA. Modifying the soil to affect the seed: role of stromal-derived matrix metalloproteinases in cancer progression. Cancer Metastasis Rev. 2006;25:35–43.
56. Huff CA, Matsui W, Smith BD, Jones RJ. The paradox of response and survival in cancer therapeutics. Blood. 2006;107:431–4.
57. Ramsay AG, Clear AJ, Kelly G, Fatah R, Matthews J, Macdougall F, et al. Follicular lymphoma cells induce T-cell immunological synapse dysfunction that can be repaired with lenalidomide: implications for the tumor microenvironment and immunotherapy. Blood. 2009.
58. Lam WA, Rosenbluth MJ, Fletcher DA. Chemotherapy exposure increases leukemia cell stiffness. Blood. 2007;109:3505–8.