

Hur rör sig bröstcancer celler i det akustiska fältet?

Bröstcancer är en av dom vanligaste åkommorna som drabbar kvinnor i världen. Sjukdomens stora variation och komplexitet medför att behandlingsstrategier och hur patienten reagerar till behandlingen varierar stort mellan individerna. Det finns fortfarande mycket forskning kvar att utföra för att finna effektiva metoder för diagnostik och behandling av dom olika cancerformerna.

Inom det medicinska fältet finns det stort värde i metoder som används för att separera ut celler och partiklar från en lösning. Om det inte går att isolera cellen av intresse, kan andra celler och ämnen i provet bidra med felaktiga data vilket kan leda till att felaktiga slutsatser dras.

Mikrofluidik är ett fält som har väckt stort intresse inom medicinsk tillämpning. Detta på grund av dess många fördelar som till exempel, minskad materialkostnad eftersom man jobbar med små volymer och laminärt flöde där flödet är förutsägbart och kan därmed utföra bra simuleringar. I denna rapport använder vi oss av mikrofluidik tekniken som kallas akustofores för att separera bröstcancer celler. Akustoforestekniken använder ultraljud som appliceras på mikrofluidik chip med små vätskefyllda kanaler. Kanalerna har typiskt sätt bredd och höjd i mikrometer och längd i centimeterskalan. Måtten på kanalen är specifikt valda för att ge upphov till stående vågor inuti kanalen när ultraljudvågorna appliceras. Objekten som befinner sig i det akustiska fältet utsätts för akustiska krafter, vilket interagerar och flyttar på partiklar och celler blandade i vätskan inne i mikrofluidikkanalen. Styrkan och riktningen hos den akustiska kraften beror på storleken på partiklarna och den relativa densiteten och kompressibiliteten mellan vätskan och objekten blandade i vätskan. Tecknet och storleken på den akustiska kontrastfaktorn Φ som beror på den relativa densiteten och kompressibiliteten mellan vätskan och objekten indikerar om hur snabbt objektet kommer att flytta sig mot noderna eller antinoderna hos den stående vågen.

I detta projekt försökte vi att separera ut bröstcancer celler från nedfrusna biopsiprover från patienter med hjälp av akustofores. Först fick patientproverna genomgå prepareringssteg där de först analyserades kvalitativt om de innehöll tillräckligt med cancer celler för att utföra experimenten på. Detta gjordes genom att 10 mikrometer tunna skivor av frusen vävnad skars av och analyserades kvalitativt genom Hematoxylin och Eosin infärgning (H&E-infärgning) som färgar in cellkärnor och stromaceller. Sedan extraherades cellerna från tumörvävnaden genom celldissociering där vävnaderna bröts ned både enzymatiskt och mekaniskt till en cellsuspension vilket skulle undergå separation med akustofores. Tyvärr uppstod ett problem här vilket innebar att vi inte kunde utföra några separationsexperiment med patientproverna. Detta var på grund av att vi inte kunde få ut tillräckligt med levande celler för experimenten vilket berodde på flera orsaker. Första är att vi var inte tillräckligt erfarna för att utföra celldissociationen då det ingick många steg av preparation av prover, kontrollceller och flera steg av infärgning. Den andra anledning vilket var den mest avgörande var att patientproverna förmodligen blev förstörda när de frystes ner utan några strategier för att förhindra celldöd vid frysning. Eftersom vi inte kunde få ut några celler behövde vi ändra på målsättningen av projektet. Därmed fortsattes experimenten på cellinjer av bröstcancer celler där cellinjerna MCF7, BT20 och BT549 skulle separeras från varandra med akustofores. Målet blev nu att optimera separationen av cellerna från varandra genom att designa en buffertlösning med densitet och kompressabilitet som ger bästa separation.

Först gjordes mätningar för att ta reda på kontrastfaktorn hos cellerna i Phosphate buffered saline (PBS) och en blandning av PBS och ett densitetmedium som kallas Histopaque. Utifrån mätningarna av kontrastfaktorn och storleksmätningar av cellerna kunde vi ta reda på densiteten och kontrastfaktorn av cellerna. Tyvärr visade sig att kontrastfaktorn som vi mätte upp var felaktiga och orimliga och därmed

kunde vi inte få ut värden på densiteten och kompressabiliteten hos cellerna. Detta är förmodligen på grund av att cellerna har en stor distribution i dess storlek inom populationen och det ger stor osäkerhet då kontrastfaktorn är proportionellt med radien i kvadrat. För att undvika detta problem mättes istället förhållandet mellan den akustiska mobiliteten hos cellerna. Det visade sig då att PBS skulle ge den bästa separationen. Vid försök att separera cellerna lyckades vi inte få en optimerad separation trots allt.

Våra slutsatser som vi kan dra från projektet är följande:

Det behövs en bättre strategi för att frysa ner och förvara patientproverna om inte färsk vävnad används för experimenten. För att separera cellerna behöver vi testa fler densitetsmedia för att se om vi kan hitta ett media och koncentration som har densitet och kompressabilitet som är mer lämpad för att separera bröstcancercellerna från varandra.