Peripheral Blood Mononuclear-Stem Cell (PBMSC) Collection in Two Continuous Flow Cell Separators: Yields and Crosscellular Contamination

J.P.		Hester
G.J.		Ventura

Department of Hematology, M.D. Anderson Cancer Center, The University of Texas, Houston, Tex., USA

Interest in PBMSC for autologous transplantation is emerging for patients who are candidates for high-dose chemotherapy and marrow rescue but whose marrow is either fibrotic or infiltrated with malignant cells. Earlier work described mononuclear cell concentrate collection from normal donors. Whether the same principles apply to patient who may be pancytopenic is not established. Objectives for collection of PBMSC included: (1) < 10 % granulocytes (PMN); (2) minimal red cells (RBC), and (3) minimal platelet (pit) loss in the patient. Collection was initiated early in the recovery phase from a single dose of Cytosan, and continued on consecutive weekdays until 7×10^8 PBMC/kg were collected for 16 multiple myeloma patients using the Spectra (S) or the CS-3000 (CS) for 150 procedures. Mean patient hematocrit was 28%. Mean absolute pre and postprocedure PBMC was comparable for S and CS; $1.07 \pm 9.4/0.9 \pm 0.5 \times 10^7$ S, and $1.0 \pm 0.6/1.0 \pm 0.5 \times 10^9$ CS: Mean pre/post pit counts differed in S and CS. For S pit were $135 \pm 68/114 \pm 55 \times 10^9/l$, a fall averaging 17%. For CS pit were $127 \pm 53/81 \pm 50 \times 10^6/l$, a fall averaging 36%. Yields (Y) PBMSC were similar: 6.2 ± 1.8 for S and 6.6 ± 2.5 CS. Yields (Y) RBC and yields (Y) pit differed. For S, yields (Y) RBC and pit were significantly lower: 0.6×10^{11} RBC and 0.99×10^{11} pit. For CS yields (Y) RBC was 1.3×10^{11} and yields (Y) pit 3.1×10^{11} . Yields (Y) pit was reduced in CS to 2.2×10^{11} when centrifugal speeds were reduced and linked to the whole blood processing rates. Collecting too deeply into the RBC and excess myeloma protein resulted in excess PMN contamination for both S and CS.

Conclusion: Yields (Y) PBMSC cannot be predicted for either S or CS at this time, and procedural variables must be altered frequently to maintain low crosscellular PMN and RBC contamination for both S and CS. Yields (Y) pit and pit loss in the patient were always less in the S, even after modifying centrifugal speed in CS.

Gewinnung peripherer mononuklearer Blutstammzellen (PBMSC) mit zwei Zellseparatoren mit kontinuierlichem Fluß: Ausbeute und Reinheit²

Das Interesse an PBMSC für autologe Transfusionen steigt für Patienten, die Anwarter auf hochdosierte Chemotherapie und Knochenmarkerhaltung sind, deren Knochenmark aber entweder fibrotisch oder mit malignen Zellen durchsetzt ist. In früheren Arbeiten wurde die Gewinnung von mononukleären Zellkonzentraten von normalen Spendern beschrieben. Ob die gleichen Prinzipien auch auf pancytopenische Patienten zutreffen, ist nicht gesichert. Fakten, auf die man bei Separation von PBMSC achten muß, sind:

(1) weniger als 10% Granulozyten (PMN), (2) minimale Erythrozytenkontamination (RBK), und (3) minimaler Thrombozyten- (plt) Verlust bei den Patienten. Mit dem Sammeln wurde in den frühen Erholungsphasen nach Einzeldosen von Cytosan begonnen und an den darauffolgenden Wochentagen solange fortgesetzt, bis 7×10^8 PBMnc/kg für 16 Myelopatienten separiert waren. Insgesamt 150 Separationen wurden dabei mit der Spectra (S) und der CS-3000 (CS) durchgeführt. Der mittlere Hämatokrit der Patienten betrug 28%. Die mittleren absoluten PBMnc vor und nach Separation waren bei S und CS vergleichbar: $1,07 \pm 9,4/0,9 \pm 0,5 \times 10^9/1$ S, und $1,0 \pm 0,6/1,0 \pm 5 \times 10^9/1$ CS. Die mittleren Thrombozytenzahlen vor und nach Separation waren bei S und CS unterschiedlich. Für die S betrugen die plt $135 \pm 68/114 \pm 55 \times 10^9/1$, das entspricht einem durchschnittlichen Abfall von 17%. Für die CS betrugen die plt $127 \pm 53/81 \pm 50 \times 10^9/1$, das entspricht einem Rückgang von durchschnittlich 36%. Die Ausbeute von PBMCS war vergleichbar: $6,2 \pm 1,8$ für die S und $6,6 \pm 2,5$ für die CS. Erythrozyten- und Plättchenbeimengung waren dagegen unterschiedlich. Bei der S lag die Erythrozyten- und Plättchenausbeute signifikant niedriger: $0,6 \times 10^{11}$ RBK und $0,99 \times 10^7$ plt. Bei der CS betrug sie für Erythrozyten $1,3 \times 10^{11}$ und für Plättchen $3,1 \times 10^{11}$. Die Thrombozytenbeimengung konnte bei der CS auf $2,2 \times 10^7$ vermindert werden, wenn die Zentrifugengeschwindigkeit verringert und mit dem Vollblutfluß korreliert wurde. Sammelte man zu tief in die Erythrozyten hinein oder bei hoher Myeloproteinkonzentration, führte dies bei beiden Zellseparatoren zu hoher Granulozytenkontamination.

Zusammenfassung: Zur Zeit kann die Ausbeute von PBMSC weder bei der S noch bei der CS vorhergesagt werden. Die Separationsvariablen müssen häufig verändert werden, damit man sowohl bei der S als auch bei der CS eine niedrige Granulo- und Erythrozytenkontamination erhält. Plättchenausbeuten und Plättchenverluste für die Patienten waren bei der S immer geringer als bei der CS, auch wenn die Zentrifugengeschwindigkeit bei der CS verändert wurde.