

RISCONTRO DI ANTICORPI ANTI-HLA DOPO TRAPIANTO DI TESSUTO OSSEO. IMPATTO SU PROGRAMMI DI TRAPIANTO DI RENE

G. Mosconi¹, O. Baraldi¹, C. Fantinati¹, ML. Cappuccilli¹, S. Corsini¹, P. Zanelli², A. Bassi³, B. Buscaroli¹, G. Feliciangeli¹, S. Stefoni¹

¹U.O. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Policlinico Universitario "S. Orsola", Bologna

²U.O. di Genetica Medica, Azienda Ospedaliera, Parma

³Banca del Tessuto Muscolo-Scheletrico, Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna

Anti-HLA antibodies after bone graft and their impact on kidney transplant programs

Immunological evaluation by panel reactive antibody (PRA) and determination of anti-HLA specificity is an important phase in the assessment of patients awaiting kidney transplant. The main causes of immunization are previous solid organ transplants, blood transfusions, and pregnancy; immunogenicity can also be triggered by vascularized tissue grafts. Immune induction by cryopreserved bone allografts is not yet fully understood. We report the case of a 19-year-old patient with osteosarcoma who underwent resection of the left proximal tibia with reconstruction using human bone in 1997 (donor typing: A3, A29 (19) - B44 (12), Bw4 - DR13 (6), DR7, DR52, DR53). The patient was subsequently placed on the waiting list for a cadaver donor kidney transplant because of chronic kidney failure caused by cisplatin toxicity. Pretransplant immunological screening using the CDC (complement dependent cytotoxicity) technique revealed a PRA of 63% and anti-A3 and anti-A68 antibodies. The presence of IgG antibody specificity against class I and class II donor antigens (specifically anti-A3, B44, DR7 antibodies) was highlighted using flow cytometry (Tepnel-Luminex). Further immunological studies using single HLA specificity analysis (LSA Class I - II - Tepnel-Luminex) detected direct antibodies against all donor antigen specificities. This is the first reported case of immune induction after a bone graft in a kidney transplant candidate. It underlines the importance of the availability of HLA typing data of all human allograft donors. (G Ital Nefrol 2009; 26 (Suppl. S45): S58-63)

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Anti-HLA antibodies, HLA donor typing, Bone transplantation, Kidney transplantation

PAROLE CHIAVE:

Anticorpi anti-HLA, Tipizzazione HLA, Trapianto osseo, Trapianto renale

✉ Indirizzo dell'Autore:

Dr. Giovanni Mosconi
U.O.C. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto
Policlinico "S. Orsola"
Via Massarenti, 9
40138 Bologna
e-mail: nefrolab@aosp.bo.it

INTRODUZIONE

È ampiamente documentato come, nell'ambito dei programmi di trapianto di organi solidi, l'aspetto immunologico costituisca uno dei principali criteri per l'allocazione degli organi. Per quanto riguarda il trapianto di rene, accanto al grado di compatibilità HLA donatore/ricevente (1, 2), uno dei criteri immunologici di allocazione è costituito dall'assenza, nel siero del ricevente, di anticorpi preformati contro gli antigeni HLA del potenziale donatore. Lo studio immunogenetico pre-trapianto (ricerca di anticorpi linfocitotossici,

determinazione di specificità anticorpali anti-HLA) costituisce un fondamentale momento della valutazione dei pazienti (pz) candidati al trapianto di rene. Cause ben conosciute di induzione immunitaria sono costituite dal precedente contatto del ricevente con antigeni di incompatibilità *non-self*: trapianti di organi solidi, emotrasfusioni, gravidanze (3). Il trapianto di tessuti contenenti cellule in grado di esprimere antigeni (*antigen presenting cell*, APC) è potenzialmente in grado di indurre una reazione immunitaria nel ricevente. In letteratura è riportato che innesti vascolari sono in grado di provocare una risposta anticorpale anti-HLA (4); espe-

rienze cliniche circa una possibile interrelazione immunologica tra ricevente e trapianto di tessuto vascolarizzato si stanno evidenziando negli ultimi anni. In via teorica, innesti non vascolarizzati (segmenti ossei) non dovrebbero indurre immunizzazione, in quanto virtualmente privi di cellule vitali (congelamento senza criopreservanti, prolungata conservazione a -80°C, lavaggio al momento del prelievo ed al momento del trapianto). In realtà, segmenti ossei di maggiori dimensioni o particolarmente ricchi di midollo osseo (es. epifisi e condili di femore, epifisi prossimale di tibia, bacino) possono mantenere le cellule del donatore, specialmente nella compagine spongiosa; tali cellule, che durante l'intervento chirurgico non vengono completamente eliminate con la lavorazione e i lavaggi dell'innesto, sebbene non vitali, possono restare come stromi e/o frammenti di membrana in grado di esporre gli antigeni HLA. Il contatto tra l'osso impiantato e l'osso vascolarizzato del ricevente comporta la migrazione di cellule immunocompetenti dell'ospite nel tessuto trapiantato; residui cellulari dell'innesto potrebbero stimolare una risposta immune, prima di essere definitivamente eliminati da elementi monocito-macrofagici.

Fino ad oggi non sono riportati, nell'ambito di programmi di trapianto di organi solidi, dati relativi all'aspetto immunologico successivo ad un trapianto di tessuto (vascolarizzato e non vascolarizzato); il lavoro costituisce la prima segnalazione di induzione immunitaria da parte di tessuto osseo in un pz inserito in lista di attesa di trapianto renale.

CASO CLINICO

Viene riportato il caso di un ragazzo di 19 anni sottoposto nel 1997 a resezione della tibia prossimale sinistra per osteosarcoma; la ricostruzione dell'arto veniva effettuata mediante protesi composita con innesto osseo prelevato da donatore cadavere. Il materiale osseo era stato trattato, al momento del prelievo, con soluzione decontaminante ed antibiotica, congelato entro 3 ore a -80°C senza criopreservanti e conservato alla stessa temperatura per 5 mesi. Per la patologia tumorale il pz era stato sottoposto a cicli di chemioterapia con metotrexate, adriamicina e cisplatino. Nel periodo di trattamento era stata necessaria una trasfusione di emazie concentrate. Come da protocollo in caso di innesti di osso crioconservato non era stata impostata alcuna terapia immunosoppressiva. Il pz aveva successivamente sviluppato un'insufficienza renale da tossicità da cisplatino ed iniziato il trattamento emodialitico nel febbraio 2005. Terminato il *follow-up* oncologico, il pz era stato inserito in lista di attesa di trapianto di rene da donatore cadavere nel novembre 2005 (Tab. I). Al momento della valutazione

TABELLA I - PRINCIPALI CARATTERISTICHE DEL PAZIENTE

Età	29 anni
Sesso/Etnia	Maschio/Caucasica
Nefropatia di base	Nefropatia da cisplatino
Inizio RDT	Marzo 2005
Inserimento in lista	Novembre 2005
Comorbidità	Pregresso osteosarcoma
Gruppo sanguigno	AB Rh positivo
N. trasfusioni	1 Unità di emazie concentrate

clinica le condizioni generali del pz erano buone, non si segnalavano problemi clinici, radiologici o funzionali a carico dell'innesto osseo.

Lo *screening* immunologico al momento dell'inserimento in lista di attesa evidenziava un quadro di immunizzazione con presenza di anticorpi linfocitotossici (PRA) studiati con tecnica complemento-dipendente (CDC) del 63% diretti contro le specificità A3 e A68. Mediante tecnica di citofluorimetria (Tepnel Luminex) venivano evidenziate specificità anticorpali IgG contro antigeni di classe I (PRA 56%, nello specifico A1, A3, A11, A36, B8, B44, B45) e di classe II (PRA 80%, nello specifico DR7, DR9, DR 52, DQ4). In base alla storia clinica veniva richiesta la tipizzazione HLA del donatore del segmento osseo che risultava: A3, A29 (19) - B44 (12), Bw4 - DR13 (6), DR7, DR52, DR53; dall'analisi comparativa dei dati emergeva la presenza nel siero del pz di specifici anticorpi anti-HLA contro antigeni del donatore sia di classe I (anti-A3, anti-B44) che di classe II (anti-DR7). Un ulteriore approfondimento immunologico mediante studio citofluorimetrico specifico per singoli anticorpi anti-HLA (LSA Class I - II - Tepnel Luminex) ha permesso di evidenziare anticorpi diretti contro tutte le specificità antigeniche del donatore; oltre a quelli già riscontrati con tecnica Luminex sono stati infatti identificati anticorpi anti-A29, anti-DR52 ed anti-DR13 (Tab. II).

Il quadro di immunizzazione del pz è stato confermato dalle indagini eseguite sui sieri successivamente inviati con ritmo trimestrale dal Centro Dialisi al Centro di Immunogenetica nell'ambito del periodico monitoraggio dei pz in lista di attesa di trapianto. Il valore medio del PRA in CDC risulta del 54% (picco 87%); i valori medi del PRA in citofluorimetria sono 69% contro antigeni di Classe I e 80% contro antigeni Classe II.

Il pz risulta attualmente idoneo al programma di tx ed operativo in lista di attesa; in accordo con il Centro di Immunogenetica Regionale, si è stabilito, tra i criteri di allocazione del rene, di escludere potenziali donatori che presentino antigeni in comune con il precedente donatore di innesto osseo.

TABELLA II - TIPIZZAZIONE HLA DEL PAZIENTE, TIPIZZAZIONE HLA DEL DONATORE DEL SEGMENTO OSSEO, ANTICORPI ANTI-HLA RISCONTRATI NEL RICEVENTE

Tipizzazione HLA paziente	Tipizzazione HLA donatore	Anticorpi anti-HLA donatore specifici
A2, A31 (19)	A3, A29 (19)	A3, A29 (19)
B52 (5), B39 (16)	B44 (12)	B44 (12)
DR15 (2), DR16 (2), DR51	DR13 (6), DR7, DR52, DR 53	DR13 (6), DR7, DR52

DISCUSSIONE

Gli aspetti immunologici nel campo del trapianto di rene rivestono da sempre un'importanza primaria. Ancora oggi, nonostante il continuo sviluppo delle terapie immunosoppressive e delle metodiche laboratoristiche di studio e monitoraggio dello stato immunologico dei riceventi, si registrano episodi di rigetto vascolare anticorpo-mediato che possono compromettere l'esito del trapianto. Lo screening immunologico (ricerca di anticorpi linfocitotossici, individuazione di specificità anti-HLA) costituisce uno dei punti cruciali nella fase di inserimento e di mantenimento in lista di attesa dei candidati al trapianto di rene; una particolare attenzione è volta alla individuazione di potenziali cause di immunizzazione legate ad un contatto tra cellule del sistema immunitario (linfociti) e cellule di un altro individuo in grado di esprimere antigeni (APC).

Trapianti di organi solidi, emotrasfusioni e gravidanze costituiscono cause note di immunizzazione (3), mentre risulta relativamente poco studiata, nell'ambito di programmi di trapianto di organi solidi, la presenza di un pregresso innesto di tessuti. Agli inizi dell'era trapiantologica tale aspetto non aveva alcuna rilevanza numerica e pratica; negli ultimi anni, tuttavia, si è assistito ad un costante sviluppo dell'attività di trapianto di tessuti di origine umana. Oggi, grazie alla progressiva espansione delle indicazioni, al perfezionamento delle tecniche di prelievo e stoccaggio, allo sviluppo di apposite banche è possibile la routinaria utilizzazione di vasi, cute, cartilagine, nervi, tendini, fasce muscolari, dura madre, valvole cardiache e segmenti ossei (Tab. III). In Italia nel 2006 sono stati eseguiti oltre 5800 interventi di trapianto tissutale; è del tutto evidente come l'espansione numerica di tali interventi comporti la necessità di considerare e verificare eventuali interrelazioni immunologiche tra trapianto di tessuto e successivo trapianto di organi solidi.

È riportato come cellule di tessuti vascolarizzati possano esprimere antigeni HLA contro cui il ricevente sviluppa una reazione immunitaria; protesi vascolari di origine umana (segmenti di vasi utilizzati per interven-

TABELLA III - PIÙ COMUNI TIPOLOGIE DI TRAPIANTO DI TESSUTI E RELATIVE INDICAZIONI CLINICHE (MODIFICATA DA WOLL) (30)

Tessuto	Indicazioni
Osso	Neoplasie ossee o traumi
Tendini/Legamenti	Traumi di legamenti o tendini
Cartilagine/Fasce	Neoplasie o traumi
Cute	Ustioni severe
Cornea/Sclera	Keratocono, cheratopatia bollosa
Membrana amniotica	Chirurgia oculistica, dermatologica, ginecologica, urologica. Ustioni severe
Valvole cardiache/Vasi	Sostituzione di valvole cardiache in età pediatrica. By-pass coronarici o protesi vascolari

ti ricostruttivi) presentano popolazioni cellulari in grado di esprimere diversi livelli di antigenicità (5, 6). La sensibilizzazione comporta una risposta umorale verso gli antigeni di classe I; viene riconosciuto anche il ruolo delle cellule dendritiche o endoteliali ancora vitali capaci di sintetizzare e presentare molecole del sistema HLA di classe II o, alternativamente, di rilasciare in circolo molecole antigeniche (4, 7, 8).

È segnalato che nei tessuti vascolari le cellule endoteliali non sopravvivono alla conservazione a 4°C, mentre le cellule muscolari possono rimanere vitali per almeno 2 settimane dopo il prelievo e potrebbero costituire l'obiettivo della risposta anticorpale (9). Questa ipotesi è supportata dall'evidenza sperimentale che le cellule muscolari lisce sono capaci di esprimere antigeni HLA di classe I e II (10). Nel trapianto di protesi vascolari la maggior parte dei centri non applica al momento alcuna specifica strategia immunologica; alcuni Autori propongono tuttavia, nei pz ad alto rischio, la valutazione pre-operatoria con *cross-match*

donatore/ricevente, l'opportunità di una terapia immunosoppressiva o la manipolazione pre-operatoria del segmento vascolare per ridurre l'antigenicità (4). Gli effetti a lungo termine di una risposta immune da parte del ricevente rimangono peraltro controversi.

Anche nel campo del trapianto di altri tessuti gli aspetti immunologici iniziano ad essere oggetto di particolare attenzione. Nel trapianto di cute sono in atto verifiche circa l'ottimizzazione delle procedure di preparazione e conservazione dei preparati al fine di ridurre l'immunogenicità. Sono comparse segnalazioni di possibile immunizzazione dopo trapianto di cornea, tessuto tradizionalmente considerato non immunogenico in ragione della mancanza di vascolarizzazione e di vasi linfatici; sono state descritte condizioni patologiche (perdita dell'avascularità, formazione di drenaggio linfatico) che possono comportare il rischio di rigetto. Interesse crescente si riscontra in campo ortopedico per il trapianto di osso e cartilagine "freschi" nei quali le cellule cartilaginee sono ancora vitali e capaci di esprimere antigeni HLA.

Discorso diverso è quello relativo al trapianto di segmenti ossei crioconservati; l'osso, costituito da una varietà di cellule (osteogeniche, ematopoietiche, vascolari, neuronali, adipose), da collagene (solo debolmente antigenico) (11), da minerali e da una matrice di sostegno, in seguito alle manovre di preparazione e conservazione risulta "teoricamente" privo di caratteristiche antigeniche (12, 13).

Dopo il primo intervento che risale al XVII secolo (frammento osseo di scheletro di cane trapiantato nel cranio di un uomo, Olanda 1668), il trapianto allogenico di tessuto osseo congelato costituisce oggi una delle più frequenti tipologie di trapianto (14, 15). Il tessuto osseo congelato non risulta teoricamente vascolarizzato, questo permette di utilizzare segmenti ossei senza valutazione preliminare di compatibilità immunogenetica o di gruppo sanguigno e senza impiego di alcun farmaco immunosoppressore nel post-trapianto (16).

Le banche di raccolta di tessuto muscoloscheletrico impiegano procedure standardizzate per la conservazione dei tessuti con il preciso scopo di mantenere le proprietà osteoinduttive dell'allograft e di eliminare il rischio di malattie trasmissibili. La criopreservazione dei tessuti a -80°C è in grado di devitalizzare l'osso eliminando le cellule presentanti l'antigene (APC). Le proprietà osteoinduttive del tessuto osseo congelato nel promuovere il rimodellamento osseo appaiono correlate alla matrice ossea in grado di provvedere allo stimolo di fattori di crescita per gli osteoblasti o al substrato necessario per l'attività degli osteoclasti (16-19).

In realtà sembra presente, anche per questo tessuto, una possibile risposta immunologica (18), peraltro ridotta in intensità tramite il congelamento e la conservazione a bassissime temperature (12, 20-22).

Anticorpi specifici verso il donatore o segni di immunità cellulo-mediata sono stati riscontrati dopo il trapianto di tessuto osseo congelato, così come segni istologici di rigetto (12, 17), nonostante oggettive difficoltà tecniche di diagnosi in quanto l'infiltrato infiammatorio può presentarsi in modo non uniforme (23). In uno studio su alcuni pz sottoposti ad innesto osteoarticolare massivo per resezione neoplastica si sono evidenziati anticorpi anti-collagene II nella cavità sinoviale, senza alcun segno clinico di sofferenza cartilaginea (Bassi A, lavoro in preparazione).

Nell'osso crioconservato sono presenti cellule non vitali (13), dopo congelamento possono tuttavia persistere stromi e/o membrane in grado di presentare molecole del sistema MHC sulla loro superficie (14). L'immunogenicità dell'allograft congelato può dipendere pertanto dalla persistenza di residui cellulari (cellule cartilaginee, leucociti, detriti cellulari o cellule stesse dell'osso) in grado di attivare direttamente i linfociti T citotossici (16, 23-25).

Studi sperimentali in animali hanno registrato, nell'attecchimento del tessuto osseo congelato, risultati correlabili con il grado di compatibilità e con l'impiego o meno di farmaci immunosoppressori, suggerendo che l'attivazione immunitaria possa influenzare negativamente i risultati del trapianto (26, 27). Nell'uomo non sono ad oggi possibili conclusioni di questo tipo ed il trapianto di osso crioconservato viene eseguito senza una specifica valutazione immunologica. Friedlaender (12), ha riportato come la compatibilità antigenica tra donatore e ricevente, particolarmente per quello che riguarda gli antigeni MHC di classe II, possa migliorare l'outcome del trapianto, ma il dato non è stato confermato. Ad oggi non è stata riscontrata nessuna chiara corrispondenza tra parametri immunologici ed esito del trapianto (28), dal punto di vista radiologico una mancata corrispondenza antigenica non sembra influenzare negativamente l'esito dell'allograft (23). Sono in ogni caso presenti oggettive difficoltà pratiche (asintomaticità clinica, aspecificità dei reperti radiologici, adeguatezza dei campioni per indagine istologica) per una adeguata correlazione tra grado di compatibilità o presenza di anticorpi anti-HLA ed esito del trapianto di tessuto (23, 29).

La peculiarità del *case report* consiste nel riscontro (prima segnalazione in letteratura) di una immunizzazione secondaria ad un precedente trapianto di osso crioconservato in un pz successivamente inserito in lista di attesa di trapianto renale; il lavoro si può collocare in un più ampio contesto di interrelazioni tra trapianti di tessuti e programmi di trapianto di organi solidi. Nella nostra esperienza in un altro pz, inserito in lista di attesa di trapianto di rene e precedentemente sottoposto ad innesto di protesi vascolare di origine umana (accesso vascolare per emodialisi), sono stati

TABELLA IV - INTERVENTI DI TRAPIANTO DI TESSUTO ESEGUITI IN ITALIA NEL BIENNIO 2006-2007 (DATI DEL CENTRO NAZIONALE TRAPIANTI)

Tessuti	Numero di interventi (anni 2006-2007)
Cornea	8803
Cute	2758
Osso	10683
Vasi	613
Valvole	375
Membrana amniotica	2410

evidenziati anticorpi anti-HLA contro gli antigeni del donatore.

Nel caso riportato non sono stati segnalati problemi in corso di prelievo e conservazione (5 mesi). È possibile che, nonostante adeguate metodiche di stoccaggio e lavaggio, la relativa grandezza del segmento osseo possa aver giocato un ruolo nel preservare detriti di cellule lisate ancora in grado di esprimere antigeni HLA. La presenza di anticorpi anti-HLA non sembra peraltro correlarsi in alcun modo con l'andamento ed i risultati a distanza del trapianto osseo; il riscontro di anticorpi donatore-specifici (DSA) è stato del tutto occasionale (studio per immissione in lista di attesa di trapianto di rene) in assenza di segni laboratoristici e radiologici di rigetto. Il dato appare pertanto come una risposta biologica ad una stimolazione antigenica, priva nello specifico di conseguenze cliniche dal punto di vista della funzionalità dell'innesto. Nel caso descritto la stretta correlazione tra riscontro di anticorpi anti-HLA di classe IgG rivolti contro tutti gli antigeni del donatore sia di classe I che II è altamente suggestiva per immunizzazione specifica. L'unica altra fonte nota di possibile alloimmunizzazione è rappresentata da una singola emotrasfusione di globuli rossi concentrati. Il complesso *pattern* anticorpale del pz comprendente anticorpi donatore-specifici, anticorpi diretti contro antigeni cross-reagenti (cregs) ed altri contro specificità diverse (DR8 e DR9) rappresenta il *pattern* di un pz con spiccata allorreattività sottoposto a due eventi immunizzanti (innesto osseo, emotrasfusione).

Alla luce della nostra esperienza riteniamo che il trapianto di tessuto, anche di osso crioconservato, costituisca una possibile causa di immunizzazione da indagare adeguatamente nei pz candidati a trapianto di rene (dati immunogenetici del donatore, studio del siero con tecniche di citofluorimetria).

È possibile che, in considerazione del crescente numero di trapianti di tessuto (in Italia oltre 25000 interventi nel biennio 2006-2007 come riportato in

Tabella IV), l'interrelazione tra trapianto di tessuto e successivo trapianto di organi solidi possa assumere una rilevanza pratica e comportare l'impostazione di specifici protocolli di allocazione. La validità dei criteri al momento adottati dal nostro Centro (esclusione di potenziali donatori di rene che presentino antigeni in comune con gli antigeni del donatore di tessuto) dovrà essere periodicamente verificata nell'ottica di bilanciare i rischi immunologici di rigetto con le legittime aspettative di trapianto del pz (prolungamento del tempo di attesa in lista).

RIASSUNTO

La ricerca di anticorpi linfocitotossici e di specificità anticorpali anti-HLA costituisce un'importante fase dello studio dei pazienti (pz) candidati al trapianto (tx) di rene. Cause ben studiate di immunizzazione sono costituite da precedenti trapianti di organi solidi, trasfusioni, gravidanze; viene segnalata una possibile immunogenicità legata anche all'innesto di tessuti vascolarizzati (es. innesti vascolari). Poco studiata risulta l'induzione immunitaria da parte di innesti ossei crioconservati (tessuto non vascolarizzato). Viene riportato il caso di un ragazzo di 19 anni sottoposto nel 1997 a resezione della tibia prossimale sinistra per osteosarcoma e ricostruzione dell'arto mediante innesto osseo di origine umana (tipizzazione del donatore: A3, A29 (19) - B44 (12), Bw4 - DR13 (6), DR7, DR52, DR53). Il pz ha successivamente sviluppato un quadro di insufficienza renale cronica da tossicità da cisplatino e nel febbraio 2005 ha iniziato il trattamento emodialitico. Nel novembre 2005, completato il follow-up oncologico, è stato inserito in lista di attesa di tx renale da donatore cadavere. Nell'ambito dello screening immunologico pre-trapianto per la ricerca di anticorpi linfocitotossici mediante metodica CDC (complement-dependent cytotoxicity) veniva riscontrato un panel anticorpale (panel reactive antibody, PRA) del 63% ed evidenziati anticorpi anti-A3 e anti-A68. La citofluorimetria (Tepnel Luminex) confermava la presenza di specificità anticorpali di classe IgG, dirette tra le altre, contro antigeni del donatore di classe I e di classe II (anticorpi anti-HLA A3, B44, DR7). Ulteriori approfondimenti del quadro immunologico mediante ricerca di singole specificità HLA (LSA Class I - II - Tepnel Luminex) hanno permesso di caratterizzare anticorpi diretti contro tutte le specificità antigeniche del donatore. Il caso costituisce la prima segnalazione di induzione immunitaria dopo impianto di innesti ossei in un pz candidato a tx di rene ed evidenzia l'importanza della disponibilità dei dati della tipizzazione HLA dei donatori di allografts.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi

BIBLIOGRAFIA

1. Opelz G, Döhler B. Effect of human leukocyte antigen compatibility on kidney graft survival: comparative analysis of two decades. *Transplantation* 2007; 84: 137-43.
2. Opelz G, Wujciak T, Döhler B, Scherer S, Mytilineos J. HLA compatibility and organ transplant survival. *Rev Immunogenet* 1999; 1: 334-42.
3. Sanfilippo F, Vaughn WK, Bollinger RR, Spees EK. Comparative effects on pregnancy, transfusion and prior graft rejection on sensitization and renal transplant results. *Transplantation* 1982; 34: 360-6.
4. Mirelli M, Nanni-Costa A, Scolari MP, et al. Mismatch-specific anti-HLA antibody production following aorta transplants. *Transpl Int* 1998; 11 (Suppl. 1): S444-7.
5. Plissonier D, Levy BI, Salzmann JL, Nochy D, Watelet J, Michel JB. Allograft-induced arterial wall injury and response in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Arterioscl Thromb* 1991; 11: 1690-9.
6. Carpenter JP, Tomaszewski JE. Human saphenous vein allograft bypass grafts: immune response. *J Vasc Surg* 1998; 27: 492-9.
7. Balzer KM, Luther B, Sandmann W, Wassmuth R. Donor-specific sensitization by cadaveric venous allografts used for arterial reconstruction in peripheral arterial occlusive vascular disease. *Tissue Antigens* 2004; 64: 13-7.
8. Mirelli M, Buzzi M, Pasquinelli G, et al. Fresh and cryopreserved arterial homografts: immunological and clinical results. *Transplant Proc* 2005; 37: 2688-91.
9. Nardo B, Bellusci R, de Badiali GL, et al. Ultrastructural aspects of the iliac arteries of multiorgan donor preserved in University of Wisconsin solution for 48 hours. *Transplant Proc* 1992; 24: 2077-8.
10. Salomon RN, Friedman GB, Callow AD, Payne DD, Libby P. Cryopreserved aortic homografts contain viable smooth muscle cells capable of expressing transplantation antigens. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106: 1173-80.
11. Trentham DE, Townes AS, Kang AH, David JR. Humoral and cellular sensitivity to collagen type II collagen-induced arthritis in rats. *J Clin Invest* 1978; 61: 89-96.
12. Friedlaender GE, Horowitz MC. Immune responses to osteochondral allografts: nature and significance. *Orthopedics* 1992; 15: 1171-5.
13. Muscolo DL, Caletti E, Schajowicz F, Araujo ES, Makino A. Tissue-typing in human massive allografts of frozen bone. *J Bone Joint Surg Am* 1987; 69: 583-95.
14. Weyts FA, Bos PK, Dinjens WN, et al. Living cells in 1 of 2 frozen femoral heads. *Acta Orthop Scand* 2003; 74: 661-4.
15. Norman-Taylor FH, Villar RN. Bone allograft: a cause for concern? *J Bone Joint Surg Br* 1997; 79: 178-80.
16. Deijkers RL, Bouma GJ, van der Meer-Prins EMW, Huysmans PE, Taminau AH, Claas FH. Human bone allografts can induce T cells with high affinity for donor antigens. *J Bone Joint Surg Br* 1999; 81: 538-44.
17. Enneking WF, Mindell ER. Observations on massive retrieved human allografts. *J Bone Joint Surg Am* 1991; 73: 1123-42.
18. Stevenson S, Horowitz M. The response to bone allografts. *J Bone Joint Surg Am* 1992; 74: 939-50.
19. Aspenberg P, Tägil M, Kristensson C, Lidin S. Bone graft proteins influence osteoconduction. A titanium chamber study in rats. *Acta Orthop Scand* 1996; 67: 377-82.
20. Kingsmill VJ, Boyde A, Jones SJ. The resorption of vital and devitalized bone in vitro: significance for bone grafts. *Calcif Tissue Int* 1999; 64: 252-6.
21. Rodrigo JJ, Fuller TC, Mankin HJ. Cytotoxic HLA antibodies in patients with bone and cartilage allografts. *Trans Orthop Res Soc* 1976; 1: 131.
22. Friedlaender GE, Strong D, et al. Studies of the antigenicity of bone. Donor specific anti-HLA antibodies in human recipient of freeze-dried allografts. *J Bone Joint Surg* 1984; 66: 937-50.
23. Muscolo DL, Ayerza MA, Calabrese ME, Redal MA, Santini Araujo E. Human leukocyte antigen matching, radiographic score, and histologic findings in massive frozen bone allografts. *Clin Orthop Relat Res* 1996; (326): 115-26.
24. Muscolo DL, Kawai S, Ray RD. Cellular and humoral immune response analysis of bone-allografted rats. *J Bone Joint Surg Am* 1976; 58: 826-32.
25. Muscolo DL, Kawai S, Ray RD. In vitro studies of transplantation antigens present on bone cells in the rat. *J Bone Joint Surg Br* 1977; 59: 342-8.
26. Stevenson S, Li XQ, Martin B. The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-antigen-matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg Am* 1991; 73: 1143-56.
27. Welter JF, Shaffer JW, Stevenson S, et al. Cyclosporin A and tissue antigen matching in bone transplantation. Fibular allografts studied in dog. *Acta Orthop Scand* 1990; 61: 517-27.
28. Aho AJ, Eskola J, Ekfors T, Manner I, Kouri T, Hollmen T. Immune responses and clinical outcome of massive human osteoarticular allografts. *Clin Orthop Relat Res* 1998; (346): 196-206.
29. Strong DM, Friedlaender GE, Tomford WW, et al. Immunologic responses in human recipients of osseous and osteochondral allografts. *Clin Orthop Relat Res* 1996; (326): 107-14.
30. Woll JE. Tissue banking overview. *Clin Lab Med* 2005; 25: 473-86.