

Histopatología de la tuberculosis. Aproximación a la evolución de las lesiones pulmonares en modelos de experimentación animal inducidos mediante aerosol

P.J. Cardona y V. Ausina

Unitat de Tuberculosi Experimental. Servei de Microbiologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.
Departament de Genètica i Microbiologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

Introducción

El modelo de tuberculosis experimental en el conejo es el que tiene más semejanza con la evolución de esta enfermedad en el ser humano. De hecho, desde hace muchos años el conocimiento sobre la histopatología de la tuberculosis humana se basa en los estudios llevados a cabo por Lurie¹⁻⁴ con dos cepas de conejos, *susceptible* y *resistente*, completados e interpretados posteriormente por Dannenberg⁵⁻¹⁰. Este último autor distinguió una serie de etapas en la evolución de las lesiones ocasionadas por *Mycobacterium tuberculosis*. Después de la fase de infección de los macrófagos alveolares (I) Dannenberg⁹ definió cuatro fases (fig. 1). La fase de simbiosis (II) se basa en el equilibrio entre el crecimiento exponencial de los bacilos en el interior de los macrófagos y la acumulación de éstos en el foco infeccioso. Le sucede la fase estacionaria (III), en la que se empieza a detectar la presencia de hipersensibilidad retardada o DTH (*delayed-type hypersensitivity*) y de inmunidad celular o CMI (*cell-mediated immunity*). La DTH sería la responsable de destruir a los macrófagos infectados no activados por los linfocitos responsables de la CMI. Así pues, en esta fase se observa el inicio de necrosis caseosa (o *caseum*).

La evolución posterior hacia la fase IV está directamente relacionada con la presencia de la CMI. Si esta inmunidad es poco importante, los macrófagos no se activan, la población bacilar intracelular se incrementa y la DTH destruye a estos macrófagos, aumentando el tejido caseoso y, a la vez, la población extracelular (cepa *susceptible*, fase IVa). Si la CMI es importante los macrófagos se activan, controlan la población bacilar en su interior y no son destruidos por la DTH, ocasionando una menor necrosis (cepa *resistente*, fase IVb)⁸.

En la última fase (V) el *caseum* se licuefacta, incrementándose extraordinariamente la concentración de bacilos extracelulares, lo que desborda la capacidad de los macrófagos activados, provocando el estímulo de la DTH. De esta manera se origina más necrosis y el aumento del tamaño de la lesión, que acaba erosionando el árbol bronquial, liberando el tejido licuefactado y formando una cavidad. Esta fase se desarrolla tan sólo en los conejos *resistentes*. Este hecho podría considerarse paradójico, puesto que la licuefacción provoca un incremento de la población bacilar y un aumento de la magnitud de la lesión, lo que es perjudicial para el hospedador. Por ello, no es de extrañar que haya autores que preconicen terapias para evitar la licuefacción en las lesiones tuberculosas⁹.

En realidad los conejos resistentes desarrollan unas lesiones primarias más pequeñas, con una afección predominantemente intersticial y una concentración menor de bacilos⁸. Los conejos *susceptibles* desarrollan lesiones primarias más grandes, con una afección predominantemente alveolar, que contiene una concentración bacilar mayor y que presenta lesiones secundarias como consecuencia de una diseminación hematogena^{4,8}. Este hecho explica por qué, a pesar de desarrollar lesiones cavitadas, los conejos *resistentes* presentan globalmente una concentración bacilar menor que la de los *susceptibles* (fig. 2). Por ello, Lurie⁴ llegó a considerar la licuefacción y la cavitación como “el proceso natural más rápido, si bien más azaroso de erradicar la enfermedad”.

Recientemente, Doenhoff¹¹ ha añadido un nuevo punto de vista al proceso de cavitación en la tuberculosis. Este autor hace un interesante paralelismo entre los granulomas generados en la esquistosomiasis y los de la tuberculosis desde el punto de vista del microorganismo. En realidad, un patógeno no tan sólo ha de eludir las defensas del hospedador, sino que ha de ser capaz de transmitirse a otros hospedadores¹². La cavitación de las lesiones permite la expectoración de los bacilos a través del árbol bronquial mediante la formación de aerosoles y la infección de nuevos individuos. Por tanto, la respuesta inflamatoria contra *M. tuberculosis* sería el resultado de una coadaptación evolutiva entre hospedador y patógeno. Esto explicaría por qué los hospedadores que

Correspondencia: Dr. P.J. Cardona.
Unitat de Tuberculosi Experimental. Servei de Microbiologia.
Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.
Ctra. del Canyet, s/n. 08916 Badalona. Barcelona.
Correo electrónico: pcardona@ns.hugtip.scs.es

Recibido: 9-5-00; aceptado para su publicación: 16-5-00.

(Arch Bronconeumol 2000; 36: 645-650)

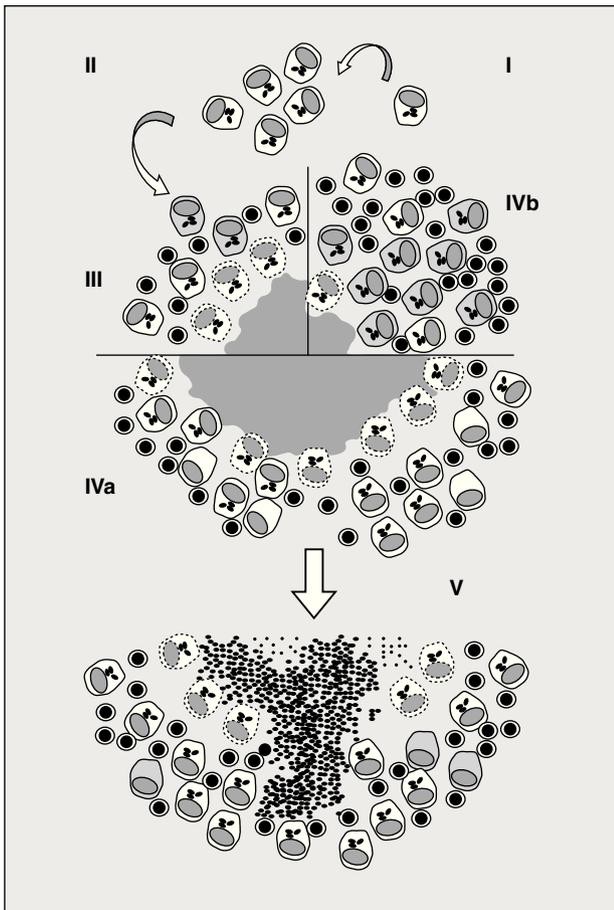


Fig. 1. Evolución de las lesiones tuberculosas según Dannenberg y Rook⁹, basándose en las experiencias en las cepas de conejos *susceptible* y *resistente* de Lurie. I. Los macrófagos alveolares fagocitan a los bacilos. II. Simbiosis entre los bacilos y los macrófagos. Los primeros crecen logarítmicamente, mientras que los segundos se acumulan, sin observarse destrucción aparente de los dos tipos celulares. III. Inicio de necrosis caseosa. En esta fase se empiezan a apreciar macrófagos activados (citoplasma gris) por linfocitos específicos y aparece una respuesta inmune destructora de tejidos, o hipersensibilidad retardada (DTH), que destruye a los macrófagos infectados no activados. En la siguiente fase se distinguen dos variantes: IVa. En el caso de los conejos *susceptibles* la escasez de macrófagos activados provoca su destrucción mediante la DTH y un incremento importante del núcleo necrótico en los granulomas y de la población bacilar que persiste en su interior. IVb. En el caso de los conejos *resistentes* la proporción de macrófagos activados es más importante, hecho que permite la fagocitosis de los bacilos presentes en el foco necrótico y a la vez previene su destrucción por la DTH. V. Licuefacción y cavitación. En los conejos *resistentes* la necrosis caseosa se licuefacta, el número de bacilos se incrementa, superando la capacidad de los macrófagos activados, provocando el estímulo de la DTH y, con ello, más necrosis y el incremento del tamaño de la lesión, que acaba erosionando el árbol bronquial, liberando el tejido licuado.

desarrollan una respuesta inmune normal desencadenan una destrucción tan importante de sus tejidos. Por contra, los hospedadores inmunocomprometidos, como los pacientes VIH⁺, desarrollan una respuesta inflamatoria menos grave, con menor cavitación de sus lesiones. Estas personas tienen una menor capacidad infectiva, tal como el mismo autor revisa en diferentes series, en las que se evidencia un porcentaje menor de esputos con bacilos ácido alcohol resistentes en los pacientes tuberculosos VIH⁺ que en los VIH⁻¹¹. Esta menor respuesta

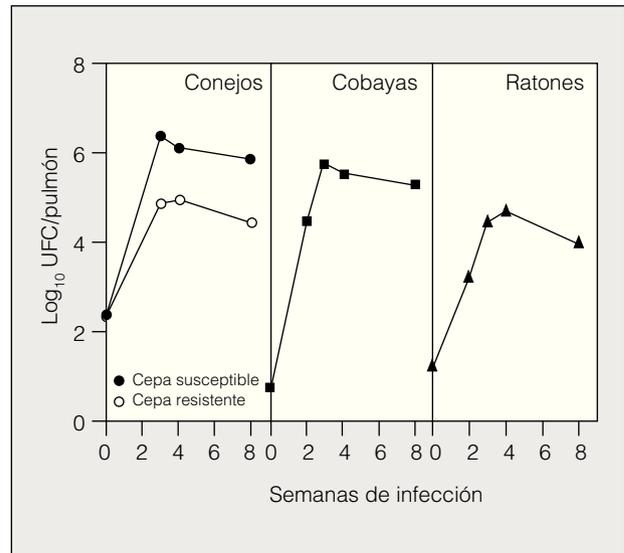


Fig. 2. Comparación de las concentraciones de bacilos en tejido pulmonar en los diferentes modelos de tuberculosis experimental. A. En conejos según Allison et al³. B. En cobayas, según Smith¹³. C. En ratones, según Orme y McMurray¹⁶.

inflamatoria provoca en estos pacientes, como en los conejos *susceptibles*, una mayor diseminación de las lesiones y un pronóstico mucho peor.

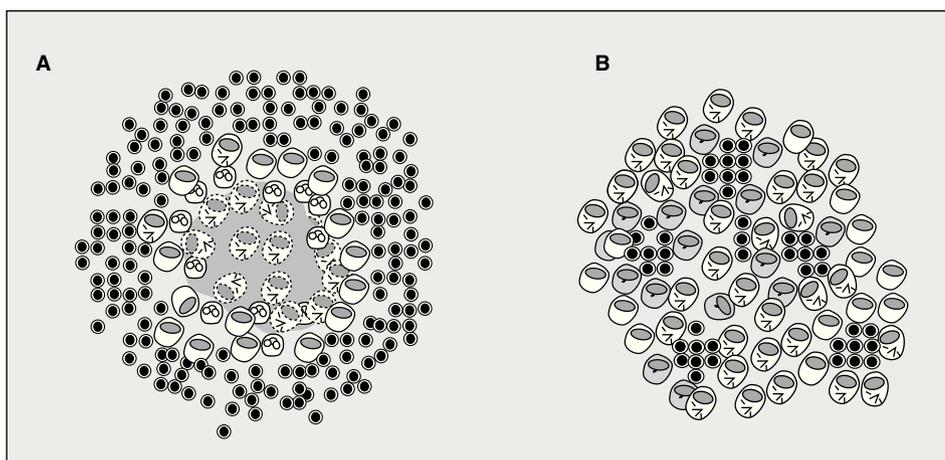
Así pues, la vieja aspiración perseguida por diferentes investigadores⁹ de conseguir una respuesta inmune sin los efectos destructores de tejido concomitantes parece difícil, puesto que quizá la cavitación de las lesiones no sea un efecto totalmente nocivo para el hospedador.

El modelo de tuberculosis experimental en el cobaya

Los cobayas son más susceptibles a *M. tuberculosis* que los conejos. De hecho, en aquellos animales, la enfermedad termina resolviéndose, tanto en los *susceptibles* (a los 11-12 meses) como en los *resistentes* (a los 5-6 meses)⁸. Los cobayas requieren un inóculo mucho más bajo para infectarse, prácticamente 100 veces menor que el requerido por los conejos¹³, si bien la infección progresa hacia la muerte en todos los casos. Es interesante remarcar que estos animales sufren una importante diseminación hematogena y a la vez desarrollan lesiones necróticas y cavitadas¹³. Así pues, el presumible efecto productor de la cavitación de las lesiones de este modelo no parece tan eficaz como en el conejo.

La presencia de DTH en estos animales es muy importante y duradera. En realidad, esta reacción fue inicialmente descrita y definida por Koch¹⁴ siendo extraordinariamente similar a la inducida en humanos, puesto que se estimula con bajas dosis de tuberculina PPD (de 1 a 5 unidades) y es macro y microscópicamente idéntica¹⁵. Por ello, este modelo de tuberculosis experimental es excelente para estandarizar las diferentes tuberculinas¹⁶. La vacunación mediante la BCG provoca en estos animales la aparición de una fuerte DTH, la disminución del tamaño y de la destrucción de los tejidos de las lesiones primarias y un descenso importante de la con-

Fig. 3. Comparación de las lesiones del cobaya y el ratón según Orme²⁹. A. En el cobaya se distinguen tres zonas: una zona central con necrosis, una intermedia con neutrófilos y macrófagos espumosos, y una periférica formada por linfocitos y macrófagos. B. En el ratón los macrófagos infectados se ven infiltrados por acumulaciones de linfocitos, hecho que permite su activación en células epiteloides, previniendo la destrucción del tejido.



concentración bacilar en los mismos¹⁷, evitando o retrasando la diseminación extrapulmonar de los bacilos¹⁸.

El modelo de tuberculosis experimental en el ratón

La utilización de este modelo ha desplazado en la actualidad a los anteriores. Los motivos son claros: por un lado el coste y el mantenimiento de estos animales es menor; por otro, la inmunología de esta especie se conoce mejor que la de los otros dos modelos experimentales citados, y existe una mayor disponibilidad de reactivos para estudiar diferentes procesos inmunológicos^{16,19}. Desde hace muchos años el ratón se ha considerado como un hospedador resistente ante *M. tuberculosis*^{20,21}, atribuyéndosele una susceptibilidad similar a la observada en humanos¹⁹.

Los estudios realizados en el modelo de tuberculosis murina han permitido considerar al interferón gamma (IFN- γ) como la citocina esencial en el desarrollo de la inmunidad protectora contra *M. tuberculosis*²²⁻²⁴. Esta citocina, sintetizada por linfocitos T CD4 (subtipo Th1), es capaz de hacer sinergia con el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) sintetizado, en gran medida, por los macrófagos infectados, consiguiendo un efecto bactericida máximo que se traduce en la destrucción de aproximadamente un 90% de la concentración bacilar de los tejidos¹⁶ (fig. 2) a partir del día 20 postinoculación.

El modelo murino ha permitido discernir entre dos aspectos interrelacionados en la respuesta inmune. Por un lado, la respuesta "protectora", ejecutada esencialmente por linfocitos T CD4 secretores de IFN- γ capaces de responder ante antígenos secretados por bacilos en crecimiento en el interior de los macrófagos infectados. La DTH, que en este modelo tiene muy poca intensidad, se atribuye a otro tipo de linfocitos T de tipo CD4, capaces de estimularse ante un repertorio más amplio de antígenos (incluyendo antígenos de bacilos muertos) y que pueden iniciar la formación del granuloma, evitando el crecimiento bacilar en lesiones secundarias o en reinfecciones y la diseminación de nuevas lesiones¹⁶⁻²⁵. En este contexto es interesante definir qué sería la CMI. Para Orme²⁶ incluiría tanto la respuesta "protectora" como la DTH.

Histopatología del modelo murino

El modelo murino se ha presentado como el paradigma del hospedador capaz de activar una respuesta inmune eficaz, puesto que consigue controlar la infección sin ocasionar necrosis en los tejidos infectados, es decir, con un bajo coste tóxico para sus tejidos^{16,19}. Basándose en los estudios de su grupo²⁷, Orme dibuja una hipótesis que intenta explicar el porqué de la eficacia de la respuesta del ratón, en contraposición a la susceptibilidad del cobaya ante la infección por *M. tuberculosis*^{28,29}. Esta hipótesis fue diseñada para discutir la idea de que la necrosis, en el modelo del conejo o del cobaya, se debe a la DTH, tal como ha apuntado constantemente Dannenberg⁵⁻¹⁰, y se basa en razonamientos histopatológicos (fig. 3). Por un lado, tal como observaron Rhoades et al²⁷ en el ratón, los linfocitos protectores se diseminan entre los macrófagos infectados, hecho que favorece su contacto con el IFN- γ que los activa y permite la destrucción o el control de los bacilos, previniendo la destrucción de los macrófagos. En los conejos y los cobayas, el núcleo de macrófagos infectados está situado en el centro de la lesión y no recibe una concentración suficiente de IFN- γ como para que se activen, hecho que provoca su destrucción por parte de los bacilos que contienen.

La paradoja del modelo murino

Nuestra experiencia en el modelo de tuberculosis experimental de infección de ratones mediante aerosol nos lleva a formular una hipótesis sobre su evolución bien distinta³⁰. Por un lado, hemos podido discernir unas lesiones *primarias*, muy escasas, que se presentan inicialmente como acumulaciones de neutrófilos, macrófagos y linfocitos, que se limitarán con el tiempo con una corona de linfocitos bien organizada a su alrededor. Posteriormente, aparecen lesiones *secundarias* en abundancia, formadas por un pequeño cúmulo inicial de macrófagos infectados, que inmediatamente es rodeado por una corona muy importante de linfocitos (fig. 4). La explicación que se da a la presencia de estas lesiones secundarias es el hecho de que se desarrollan básicamente

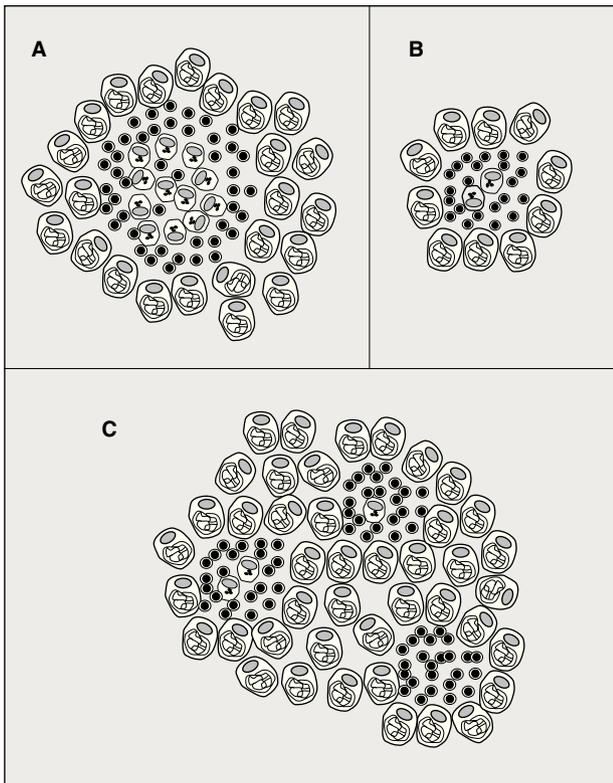


Fig. 4. Tipos de lesiones en el modelo de tuberculosis murina. A. Primaria, con un núcleo importante formado por macrófagos y linfocitos y rodeado por una corona de linfocitos. B. Secundaria, formada por un núcleo a veces imperceptible constituido por escasos macrófagos, que se rodean de una corona muy importante de linfocitos. Con el tiempo, ambas lesiones se ven envueltas por una corona de macrófagos espumosos. C. Terciarias, formadas por la expansión del tejido alveolar infiltrado de macrófagos espumosos, que rodean a lesiones primarias y secundarias. Este tejido acaba conectando diferentes lesiones próximas formando una única lesión terciaria.

cuando el hospedador ya ha estimulado una respuesta inmune importante contra *M. tuberculosis*. Quizá lo más remarcable de nuestras observaciones es la enorme importancia que desempeñan los macrófagos espumosos.

Con el tiempo, tanto en lesiones *primarias* como *secundarias* se empieza a estructurar una corona externa formada por macrófagos espumosos que ocupan el espacio intraalveolar. La presencia de estas células no es rara, puesto que se encuentran normalmente en procesos neumónicos de diversas etiologías; estas células entran en las lesiones para "limpiarlas" a través del espacio intersticial y salen a través del alveolar para ser conducidas por el epitelio mucociliar hacia los bronquios superiores³¹⁻³³. Su presencia en los granulomas llega a ser tan importante que son los principales responsables del incremento continuo de su tamaño, hasta el punto de producir lesiones *terciarias*, es decir, lesiones que son capaces de unir diferentes granulomas (primarios o secundarios) vecinos, formando una lesión única³⁰ (fig. 4). Estos macrófagos espumosos serían ca-

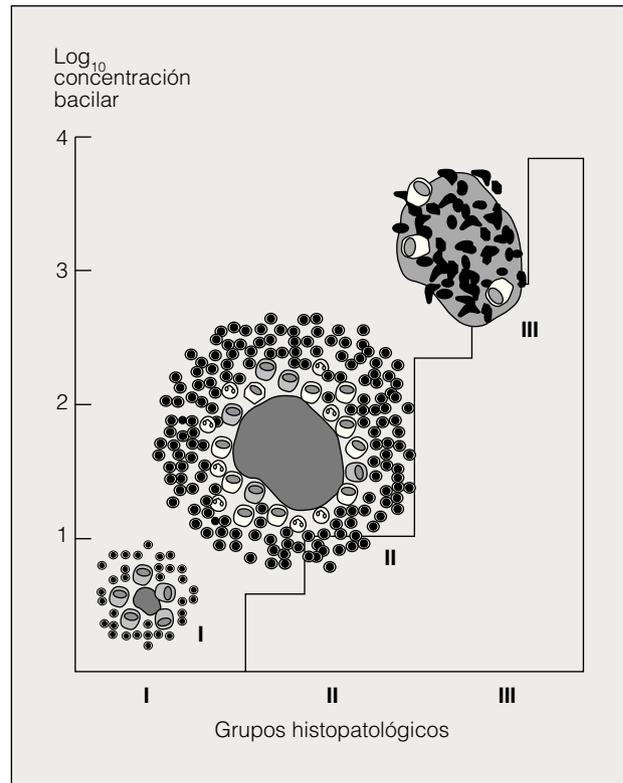


Fig. 5. Espectro histológico de la tuberculosis en el hombre, según Ridley y Ridley³⁴. Relación entre la histología y la concentración bacilar en los tejidos. Grupo I: se observa en casos de *lupus vulgaris* y lesiones cutáneas ulceradas; el granuloma está bien organizado, con presencia de células epitelioides, sin necrosis o con una pequeña necrosis fibrinoide y sin presencia de bacilos en las lesiones. Grupo II: se presenta en las formas más comunes de tuberculosis, en pulmón, ganglios linfáticos, hígado o abdomen. El granuloma está bien organizado y hay tanto células epitelioides como macrófagos inactivados y neutrófilos. Hay necrosis importante, de tipo eosinofílico o basofílico, y una concentración baja de bacilos. Grupo III: se presenta en enfermedades diseminadas, como consecuencia de tratamientos con corticoides o en la leucemia mieloide. La lesión es desestructurada, con gran presencia de necrosis basofílica y eosinofílica, con restos de núcleos y una gran concentración bacilar.

paces de generar nuevas lesiones secundarias continuamente mediante diseminación broncógena. Esa hipótesis se apoya en el hecho de que las lesiones secundarias siguen apareciendo mucho tiempo después del inicio de la infección, en que algunas células espumosas están infectadas, y en que los granulomas, al no estar aislados del tejido sano, puesto que no hay tejido fibrótico a su alrededor, permiten esta evolución. Esta hipótesis también explicaría por qué, en presencia de valores constantes de IFN- γ y de TNF- α en el tejido pulmonar de estos animales, no se consiguen esterilizar los tejidos y el área de parénquima afectado crece continuamente^{30,36}.

Utilizando la clasificación del espectro inmunológico de las lesiones en los humanos, formulado por Ridley y Ridley³⁴ (fig. 5), puede verse cómo inicialmente las lesiones observadas en los ratones corresponderían al polo de máxima resistencia, puesto que los granulomas están bien estructurados, con presencia de células epitelioides maduras y con ausencia de necrosis. Paradójicamente, estas lesiones contienen una gran concentración

bacilar y una respuesta débil ante la inoculación de la tuberculina PPD, hecho que los situaría en el polo de resistencia mínima.

Comparando con el espectro histopatológico observado en la lepra³⁵, los granulomas de los ratones se parecen más a los que se encuentran en el polo “lepromatoso” que en el “tuberculoide”. En el primer caso, las lesiones son ricas en macrófagos con alta concentración bacilar en su interior y se observa una gran proporción de macrófagos espumosos en las lesiones en regresión. Las lesiones “tuberculoideas” se caracterizan por la presencia de células epitelioides y células de Langerhans y por una baja concentración bacilar en sus tejidos. Así pues, el modelo de tuberculosis murino tiene una respuesta histopatológica que mezcla aspectos de alta resistencia frente a *M. tuberculosis* con características sugestivas de anergia y tolerancia. Sea como fuere, el resultado conforma una respuesta inflamatoria moderada, incapaz de aislar los granulomas del parénquima sano, hecho que se traduce en una continua diseminación y formación de nuevas lesiones y en la muerte del animal.

Tal como sucede con los cobayas, todos los ratones infectados acaban muriendo. Estudios recientes demuestran diferentes susceptibilidades en relación con el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) o la cepa de ratón utilizada, pero finalmente el tiempo de supervivencia medio de los animales, determinado mediante inoculación intravenosa, está entre los 66,5 y los 339 días³⁶, mientras que en los cobayas es de 220 días³⁷. Es interesante remarcar que el modelo de inoculación intravenosa es menos agresivo que el de inoculación mediante aerosol^{38,39}. La causa de la muerte se ha relacionado con un fallo en la función respiratoria. Tal es el compromiso del parénquima pulmonar que sufren estos animales con el tiempo^{27,38,39}.

La necrosis caseosa. Espectro histopatológico e importancia de los neutrófilos

El papel de los neutrófilos en las lesiones tuberculosas se ha olvidado durante mucho tiempo, relegado a un papel trivial o secundario, circunscrito a un papel fugaz en el inicio de la formación de las lesiones^{40,41}, aunque desde los primeros estudios realizados, Lurie¹ ya identificó su presencia al inicio de la formación del granuloma, cuando se producía la necrosis. Utilizando el modelo de tuberculosis experimental peritoneal, Appelberg demostró en una serie de experimentos⁴²⁻⁴⁴ que tanto los macrófagos como los linfocitos T se estimulan específicamente e inespecíficamente para reclutar a neutrófilos en el punto de infección. Igualmente, en las primeras 24 h posteriores a la inoculación de tuberculina PPD para provocar una DTH, son los neutrófilos los que primero acuden⁴⁵.

Una de las hipótesis que liga la presencia de neutrófilos, DTH y necrosis es la formulada por Rook y Al Attiyah⁴⁶, en la que se considera que la necrosis intragranulomatosa es fruto de un “fenómeno de Shwartzman”⁴⁷. Según esta teoría, los tejidos infectados por *M. tuberculosis* se comportan como “zonas preparadas” tal como las describió Shwartzman, de manera que las células

contenidas son especialmente sensibles al TNF- α sintetizado por los macrófagos infectados, provocando la necrosis local. La presencia de los neutrófilos es esencial para desencadenar este tipo de necrosis caracterizada por la formación de trombos en los pequeños vasos, infiltración de neutrófilos y posterior infiltración por macrófagos y linfocitos⁴⁸.

Volviendo a la clasificación del espectro histopatológico de las lesiones tuberculosas (fig. 5), Ridley et al³⁴ consideran que el término “necrosis caseosa” se utiliza de una manera muy genérica y que, en realidad, incluye cuatro tipos de necrosis: fibrinoide, en la que se ve afectado el tejido conectivo; eosinofílica discreta, debido a la destrucción de células epitelioides; basofílica, asociada a los neutrófilos, y eosinofílica importante, cuando hay destrucción de tejido y macrófagos. Estos autores consideran que en el grupo I la escasa necrosis se debe a la DTH, y se relaciona con una reducción en la concentración bacilar; en el grupo II la necrosis sería ocasionada tanto por la DTH como por la presencia de neutrófilos; en el grupo III los neutrófilos tendrían un papel preponderante.

Conclusiones

El modelo de tuberculosis desarrollado en la cepa de conejos *resistente* de Lurie es el que mejor se asemeja a la evolución en el ser humano inmunodependiente. Estos animales son capaces de generar una respuesta inflamatoria importante, de predominio intersticial, capaz de desarrollar lesiones cavitadas y evitar la diseminación de nuevas lesiones. Este tipo de respuesta tiene un paralelismo con la desencadenada por el cobaya, puesto que también es capaz de generar lesiones cavitadas, pero a la vez ocasiona una gran diseminación a partir de las lesiones primarias. En estos animales aparece un nuevo factor, el de su especial susceptibilidad a *M. tuberculosis*, de manera que requiere un inóculo cien veces menor que el del conejo o el del ratón para infectarse, estableciéndose en sus tejidos unas concentraciones bacilares similares a las de los conejos *susceptibles*. Esta susceptibilidad podría relacionarse con un déficit en la respuesta inmune “protectora” ejecutada por linfocitos T CD4 secretores de IFN- γ .

Finalmente, el modelo más utilizado en la actualidad, el del ratón, se ha considerado desde siempre como un hospedador resistente ante *M. tuberculosis*, debido a su capacidad para generar una respuesta inmune capaz de sintetizar valores altos y constantes de IFN- γ , sin provocar efectos necróticos en las lesiones. Analizando las lesiones generadas en el pulmón se comprueba cómo desarrolla una respuesta inflamatoria globalmente débil, de predominio alveolar (como en el caso de los conejos *susceptibles*), incapaz de aislar las lesiones mediante fibrina y con una DTH débil. Sus tejidos contienen una concentración bacilar importante de manera crónica y, por último, el pronóstico es fatal, como en el caso del cobaya. Por ello creemos que es necesario reinterpretar el modelo experimental de tuberculosis en el ratón y dejar de considerarlo como el que desencadena una respuesta inmune eficaz frente a *M. tuberculosis*.

Agradecimiento

Becas FEPAR 1997, FIS 99/0049-02 y SEIMC-Hoechst Mario Roussel 1999. A la Dra. Montserrat Giménez por su lectura crítica.

BIBLIOGRAFÍA

- Lurie MB. The correlation between the histological changes and the fate of living tubercle bacilli in the organs of tuberculous rabbits. *J Exp Med* 1932; 55: 31-58.
- Lurie MB, Abramson S, Heppleston AG. On the response of genetically resistant and susceptible rabbits to the quantitative inhalation of human type tubercle bacilli and the nature of resistance to tuberculosis. *J Exp Med* 1952; 95: 119-137.
- Allison MJ, Zappasodi P, Lurie MB. Host-parasite relationships in navitely resistant and susceptible rabbits on quantitative inhalation of tubercle bacilli. Their significance for the nature of genetic resistance. *Am Rev Respir Dis* 1962; 85: 553-569.
- Lurie MB. Resistance to tuberculosis: experimental studies in native and acquired defensive mechanisms. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 1964.
- Rojas-Espinosa O, Dannenberg AM Jr, Sternberger LA, Tsuda T. The role of cathepsin D in the pathogenesis of tuberculosis. *Am J Pathol* 1974; 74: 1-17.
- Dannenberg AM Jr. Immune mechanisms in the pathogenesis of pulmonary tuberculosis. *Rev Infect Dis* 1989; (Supl 2): 269-378.
- Dannenberg AM Jr. Delayed-type hypersensitivity and cell-mediated immunity in the pathogenesis of tuberculosis. *Immunol Today* 1991; 12: 228-233.
- Dannenberg AM Jr. Rabbit model of tuberculosis. En: Bloom BR, editor. *Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1994; 149-156.
- Dannenberg AM Jr, Rook GAW. Pathogenesis of pulmonary tuberculosis: and interplay of tissue-damaging and macrophage-activating immune responses-dual mechanisms that control bacillary multiplication. En: Bloom BR, editor. *Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1994; 459-483.
- Converse PJ, Dannenberg AM Jr, Estep JE, Sugisaki K, Abe Y, Schofield BH et al. Cavitory tuberculosis produced in rabbits by aerosolized virulent tubercle bacilli. *Infect Immun* 1996; 64: 4776-4778.
- Doenhoff MJ. Granulomatous inflammation and the transmission of infection: schistosomiasis and TB too? *Immunol Today* 1998; 19: 462-467.
- Falkow S. What is a pathogen? *ASM News* 1998; 63: 359-365.
- Smith DW. Diseases in guinea pigs. En: Kubica GP, Wayne LG, editores. *The mycobacteria: a source book*. Nueva York: Marcel Dekker, 1984; 925-946.
- Bothamley GH, Grange JM. The Koch phenomenon and delayed hypersensitivity. *Tubercle* 1991; 72: 7-11.
- McMurray DN. Guinea pig model of tuberculosis. En: Bloom BR, editor. *Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1994; 135-147.
- Orme IM, McMurray DN. The immune response to tuberculosis in animal models. En: Rom WN, Garay SM, editores. *Tuberculosis*. Nueva York: Little, Brown and Company, 1996; 269-280.
- Smith DW, McMurray DN, Wiegshaus EH, Grover AA, Harding GE. Host-parasite relationships in experimental airbone tuberculosis. IV. Early events in the course of infection in vaccinated and nonvaccinated guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 1970; 102: 937-949.
- Ho RS, Fok JS, Harding GE, Smith DW. Host-parasite relationships in experimental airbone tuberculosis. VII. Fate of *Mycobacterium tuberculosis* in primary lung lesions and in primary lesion-free lung tissue infected as a result of a bacillemia. *J Infect Dis* 1978; 138: 237-241.
- Lefford MJ. Diseases in mice and rats. En: Kubica GP, Wayne LG, editores. *The mycobacteria: a source book*. Nueva York: Marcel Dekker Inc., 1984; 947-977.
- Browning CH, Gullbransen R. Studies on experimental tuberculosis in mice. The susceptibility of mice to inoculation with tubercle bacilli. *J Hyg* 1926; 25: 323-332.
- Gunn FD, Nungester WJ, Hougden ET. Susceptibility of the white mouse to tuberculosis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1933; 31: 527-529.
- Orme IM. Immunity to mycobacteria. *Curr Opin Immunol* 1993; 5: 497-502.
- Cooper AM, Dalton DK, Stewart TA, Griffin JP, Russell DG, Orme IM. Disseminated tuberculosis in IFN- γ gene-disrupted mice. *J Exp Med* 1993; 178: 2243-2249.
- Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, Dalton DK, Stewart TA, Bloom BR. An essential role for interferon- γ resistance to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Exp Med* 1993; 178: 2249-2252.
- Pais TF, Silva RA, Smedegaard B, Appelberg R, Andersen P. Analysis of T cells recruited during delayed-type hypersensitivity to purified protein derivative (PPD) versus challenge with tuberculosis infection. *Immunology* 1998; 95: 69-75.
- Orme IM. Vaccination against tuberculosis: recent progress. *Adv Vet Med* 1999; 41: 135-143.
- Rhoades ER, Frank AA, Orme I. Progression of chronic pulmonary tuberculosis in mice aerogenically infected with virulent *Mycobacterium tuberculosis*. *Tubercle Lung Dis* 1997; 78: 57-66.
- Orme IM. The immunopathogenesis of tuberculosis: a new working hypothesis. *Trends Microbiol* 1998; 6: 94-97.
- Orme IM. Cellular and genetic mechanisms underlying susceptibility of animal models to tuberculosis infection. *Genetics and tuberculosis*. Chichester: Wiley (Novartis Foundation Symposium 217), 1998; 112-119.
- Cardona PJ, Latjós R, Gordillo S, Díaz J, Ojanguren I, Ariza A et al. Evolution of pulmonary granulomas in mice infected aerogenically with *Mycobacterium tuberculosis*. *Scand J Immunol* 2000; 52: 156-163.
- Katzenstein AA, Askin FB. Surgical pathology of non-neoplastic lung disease. Filadelfia: WB Saunders, 1990.
- Green GM, Burlington VT. Alveolobronchiolar transport mechanisms. *Arch Intern Med* 1973; 131: 109-114.
- Lipscomb MF, Toews GB, Lyons CR, Uhr JW. Antigen presentation by guinea pig alveolar epithelioid cells. *J Immunol* 1981; 126: 286-291.
- Ridley DS, Ridley MJ. Rationale for the histological spectrum of tuberculosis. A basis for classification. *Pathology* 1987; 19: 186-192.
- Ridley DS. The histopathological spectrum of the mycobacterioses. En: Ratledge C, Stanford J, editores. *The biology of the mycobacteria*. Londres: Academic Press, 1983; 129-167.
- Medina E, North RJ. Resistance ranking of some common inbred mouse strains to *Mycobacterium tuberculosis* and relationship to major histocompatibility complex haplotype and *Nramp 1* genotype. *Immunology* 1998; 93: 270-274.
- Wiegshaus EH, Harding G, McMurray DN, Grover AA, Smith DW. Host-parasite relationships in experimental airbone tuberculosis. III. Relevance of microbial enumeration to acquired resistance in guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 1970; 102: 422-429.
- Cardona PJ, Cooper A, Luquin M, Ariza A, Felipe F, Orme IM et al. The intravenous model of murine tuberculosis is less pathogenic than the aerobic model owing to a more rapid induction of systemic immunity. *Scand J Immunol* 1999; 49: 362-366.
- North RJ. *Mycobacterium tuberculosis* is strikingly more virulent for mice when given via the respiratory than via the intravenous route. *J Infect Dis* 1995; 172: 1550-1553.
- Thoen CO, Karlson AG. Experimental tuberculosis in rabbits. En: Kubica GP, Wayne LG, editores. *The mycobacteria: a source book*. Nueva York: Marcel Dekker, 1984; 979-989.
- Brown IN. Animal models and immune mechanisms. En: Ratledge C, Stanford J, editores. *The biology of the mycobacteria*. Londres: Academic Press, 1983; 174-234.
- Appelberg R, Silva MT. T cell-dependent chronic neutrophilia during mycobacterial infections. *Clin Exp Immunol* 1989; 78: 478-483.
- Appelberg R. T cell regulation of the chronic peritoneal neutrophilia during mycobacterial infections. *Clin Exp Immunol* 1992; 89: 120-125.
- Appelberg R. Mycobacterial infection primes T cells and macrophages for enhanced recruitment of neutrophils. *J Leukoc Biol* 1992; 51: 472-477.
- Schroff RW Jr, Heise ER, Myvrik QN. Characterization of the early phase of the tuberculin reaction in rabbits. *Am Rev Respir Dis* 1980; 121: 843-850.
- Shwartzman G. Phenomenon of local tissue reactivity and its immunological, pathological and clinical significance. Nueva York: Paul B. Hober, 1937.
- Rook GAW, Al Attiyah R. Cytokines and the Koch phenomenon. *Tubercle* 1991; 72: 13-20.
- Beck G, Habicht GS, Benach JL, Miller F. Interleukin 1: a common endogenous mediator of inflammation and the local Shwartzman reaction. *J Immunol* 1986; 136: 3025-3031.