



Expresión de TREM-1 en pacientes con cáncer cervical invasor y lesiones precursoras

Roberto Anaya-Prado,^a Fabiola Geovanna Norzgaray-Ibarra,^a
Alejandro Bravo-Cuellar,^b Carlos Eduardo Pérez-Avila,^a
Daniel Schadeegg-Peña,^a Michelle M. Anaya-Fernández^a

Expression of TREM-1 in patients with invasive cervical cancer and precursor lesions

Background: It has been shown that the TREM-1 glycoprotein belongs to the immunoglobulin superfamily that induces secretion of various proinflammatory cytokines. The aim of this study was to measure the expression of TREM-1 in patients with cervical cancer.

Methods: In this cross-sectional study we included four groups of patients: GI: women with low-grade squamous intraepithelial lesion (IL) ($n = 15$ p / g); GII: patients with high-grade squamous IL ($n = 9$ w / g); GIII: patients with invasive cervical cancer ($n = 9$ p / g) and GIV: healthy patients ($n = 15$ p / g). In all patients the expression of TREM-1 and the Average Fluorescence Index (AFI) in neutrophils and monocytes were measured, as well as levels of leukocytes, neutrophils and monocytes. We used Student's t test for independent samples. For these variables, we applied Mann-Whitney rank-sum, ANOVA, and Tukey tests. Chi square test was used for qualitative variables.

Results: The percentages of TREM-1 expression in neutrophils and monocytes, plus the AFI in neutrophils in the 4 groups was not significantly different. The AFI of TREM-1 in monocytes was significantly different when comparing group II and group III versus group IV ($p < 0.02$). There was also no significant difference when comparing the mean values of leukocytes, neutrophils and monocytes in the different groups.

Conclusion: This study shows increased expression of TREM-1 in monocytes from patients with advanced cancer.

Keywords Palabras clave

Uterine cervical neoplasms	Neoplasias del cuello uterino
Atypical squamous cells of the cervix	Células escamosas atípicas del cuello uterino
Myeloid cells	Células mieloides

El cáncer cervicouterino es la tercera neoplasia más comúnmente diagnosticada y la principal en mujeres en edad reproductiva. La incidencia anual mundial es de 493 000 casos, la tasa anual de muerte es de 274 000 y el 83 % de los casos ocurren en países en vías de desarrollo. Los pacientes con cáncer sufren las mismas infecciones que las personas sin cáncer, pero con mayor severidad y frecuencia. En el curso de su enfermedad, los pacientes con cáncer presentarán infecciones, y una infección será la causa de muerte en más del 50 % de los casos, la falla orgánica en el 25 % y la carcinomatosis en el 10 %.¹⁻⁴

El TREM-1 (activador de la expresión celular mielóide) es una glicoproteína de 30 kDa de la superfamilia de las inmunoglobulinas que, junto con el TREM-2, constituyen los prototipos de la familia TREM. El TREM-1 fue identificado en el cromosoma 6 humano y se expresa en las células mieloides, contiene una inmunoglobulina como único dominio extracelular y una breve cola citoplasmática.⁵⁻⁷ Su expresión se ha identificado en neutrófilos y monocitos, y este puede activar o ampliar la respuesta inflamatoria.⁸ Esta glicoproteína es regulada a la alta por infecciones bacterianas y fúngicas, es un mediador crucial de choque séptico y está presente en algunos procesos inflamatorios como pancreatitis aguda, úlcera péptica o en el posquirúrgico de cirugías mayores.⁹⁻¹² En diferentes investigaciones, el TREM-1 solo fue detectable en otros procesos inflamatorios como la psoriasis, colitis ulcerosa y vasculitis causada por complejos inmunes.^{8,13,14}

El TREM-1 se expresa como un complejo receptor transmembrana con la proteína DNA-X de 12 kD (DAP12) en células mieloides, que a su vez facilita la transducción de señales intracelulares en los monocitos; después, TREM-1 cruza enlace con DAP 12 fosforilada y recluta, además de fosforilar, la proteína de unión del receptor de crecimiento 2 y fosfatidilinositol-3-cinasa, y amplifica receptores tipo Toll, lo que conlleva a amplificar la respuesta inflamatoria.^{15,16} Existe una interacción entre TREM-1 y TLRs. TREM-1 es regulado a la alza por diversos ligandos para TLRs, incluyendo TLR2, TLR3 y TLR4. La

^aDirección de Educación e Investigación en Salud, Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Gineco-Obstetricia "Lic. Ignacio García Téllez", Centro Médico Nacional de Occidente, Guadalajara, Jalisco, México

^bDivisión de Inmunología, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Guadalajara, Jalisco, México

Comunicación con: Roberto Anaya Prado

Teléfono: (33) 3848 5410

Correo electrónico: robana@prodigy.net.mx

Recibido: 23/10/2014

Aceptado: 16/12/2014

Introducción: se ha demostrado que la glicoproteína TREM-1 pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas que induce la secreción de varias citocinas proinflamatorias. El objetivo de este trabajo fue medir la expresión de TREM-1 en pacientes con cáncer cervical.

Métodos: en este estudio transversal analítico incluimos 4 grupos de pacientes: GI: mujeres con lesión intraepitelial (LI) escamosa de bajo grado ($n = 15$ p/g); GII: pacientes con LI escamosa de alto grado ($n = 9$ p/g); GIII: pacientes con cáncer cervical invasor ($n = 9$ p/g), y GIV: pacientes sanas ($n = 15$ p/g). En todas las pacientes se midió la expresión de TREM-1 y el Índice Medio de Fluorescencia (IMF) en neutrófilos y monocitos, así como los niveles de leucocitos, neutrófilos y monocitos. Usamos t de Student para muestras inde-

pendientes. Para estas mismas variables, aplicamos prueba de suma de rangos de Mann-Whitney, ANOVA y Turkey. Para las variables cualitativas se utilizó la prueba de Chi cuadrada.

Resultados: los porcentaje de expresión de TREM-1 en neutrófilos y monocitos, además del IMF en neutrófilos en los 4 grupos, no fue significativamente diferente. El IMF de TREM-1 en monocitos fue significativamente diferente al comparar el grupo II y grupo III frente al grupo IV ($p < 0.02$). Tampoco hubo diferencia significativa al comparar los valores promedio de leucocitos, neutrófilos y monocitos en los diferentes grupos.

Conclusión: este estudio documenta una mayor expresión de TREM-1 en monocitos de pacientes con cáncer avanzado.

Resumen

unión agonista de TREM-1 con ligandos de TLR2, TLR2, TLR4 amplía la producción de citocinas proinflamatorias. Esto amplifica la respuesta inflamatoria en células mieloides como macrófagos y neutrófilos (figura 1). El TREM-1 induce la secreción de varias citocinas y quimocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), la interleucina 8 (IL-8), enzimas como mieloperoxidasa, además de proteína quimiotáctica de monocitos-1. El TREM-1 también provoca degranulación de neutrófilos, movilización de calcio, la fosforilación de varias proteínas de tirosina, en particular de las proteínas quinasas activadas por mitógenos ERK-1 y ERK-2, y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos. Este patrón de activación ha sugerido un papel de este receptor en la respuesta inflamatoria aguda (figura 2).¹⁵

El TREM-1 ha sido objeto de estudio en diferentes investigaciones como marcador de sepsis, y las infecciones son la principal causa de mortalidad en pacientes oncogénicos. En el mejor de nuestro conocimiento, no se sabe si modifica la expresión de TREM-1 en neutrófilos y monocitos de pacientes con cáncer cervical y sus lesiones precursoras. Aprender sobre la respuesta de TREM-1 en presencia de cáncer, y/o lesiones precursoras, nos puede ayudar al mejor entendimiento de la respuesta inflamatoria en condiciones de inmunocompromiso. Eventualmente, se podría pensar en utilizar anticuerpos monoclonales contra esta molécula y modificar el curso de las infecciones en pacientes con cáncer, haciendo así que las infecciones oportunistas sean menos severas y frecuentes. Que se modifique, o no, el curso histológico de la lesión no es una cuestión a tratar en este momento, toda vez que el involucramiento de TREM-1 tiene que ver con reacción inflamatoria y no con cáncer. Por ello, el objetivo de este trabajo fue determinar si existe expresión de TREM-1 en neutrófilos y monocitos en pacientes con cáncer cervical y lesiones precursoras.

Métodos

En este estudio transversal analítico, estudiamos la expresión de TREM-1 en 4 grupos de pacientes: mujeres con lesión intraepitelial escamosa de bajo grado ($n = 15$ pacientes, Grupo I); pacientes con lesión intraepitelial escamosa de alto grado ($n = 9$ pacientes, Grupo II); pacientes con cáncer cervical invasor ($n = 9$ pacientes, Grupo III), y pacientes sin cáncer cervical y sin lesión precursora documentada por citología cervical ($n = 15$ pacientes, Grupo IV). Todas las pacientes procedieron de la Clínica de Displasias de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Ginecoobstetricia del Centro Médico Nacional de Occidente, que estableció los diagnósticos de los grupos de pacientes como parte del protocolo institucional de diagnóstico y manejo de patología cervicouterina. La lesión escamosa intraepitelial de bajo grado se consideró ante la presencia de displasia leve (NIC I), o bien cambios citológicos por infección por virus de papiloma humano en una citología cervical. La lesión escamosa intraepitelial de alto grado se consideró ante la presencia de displasia moderada (NIC 2) o displasia grave-carcinoma in situ (NIC 3) en una citología cervical. Para el carcinoma invasor se consideró ante presencia de cáncer cervical que invade la membrana basal. Para el grupo de pacientes sanas, la consideramos ante la presencia de una citología cervical normal o clase II de Papanicolaou, o bien cambios reactivos o reparativos de acuerdo al sistema de Bethesda.¹⁶

Diseño del estudio

Se integraron los cuatro grupos de pacientes de acuerdo con los diagnósticos establecidos por la Clínica de Displasias. Los criterios de inclusión para los grupos de casos fueron: pacientes mayores de 18 años de edad, con cualquiera de los siguientes diagnósticos

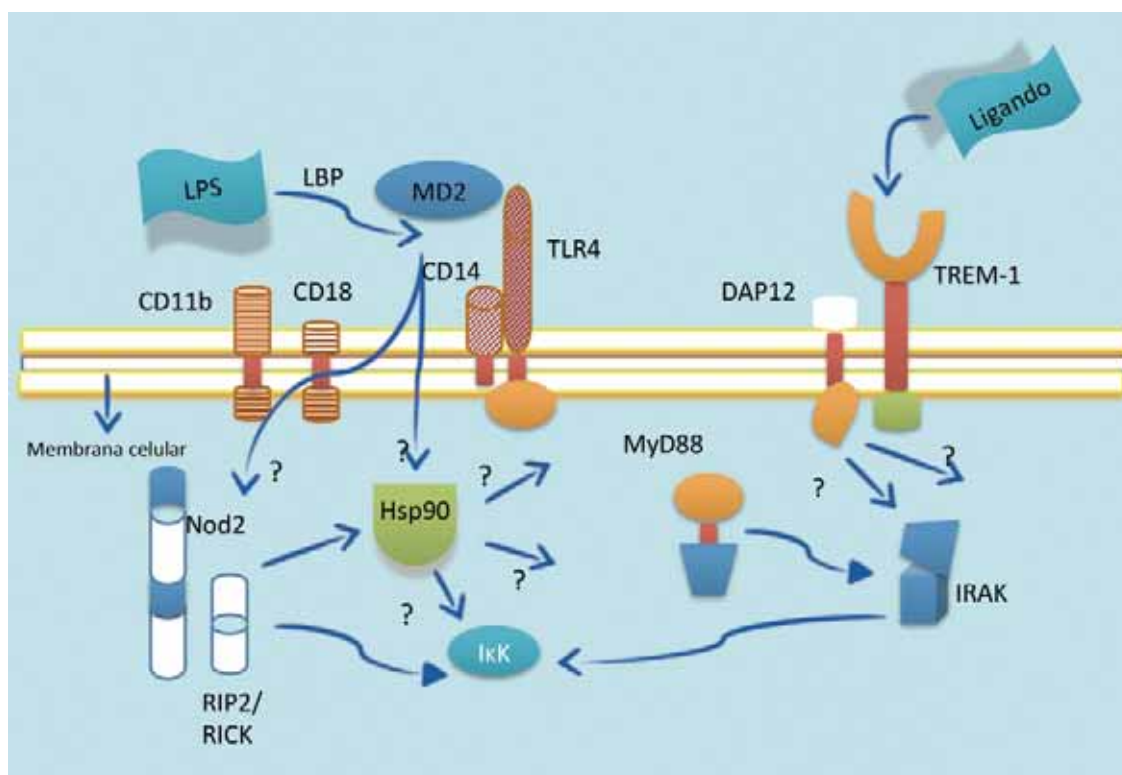


Figura 1 Complejo receptor transmembrana de TREM-1 y su interacción con ligando para TLR que amplía la producción de citocinas proinflamatorias. LBP, LPS-binding protein; LPS (lipopolysaccharide); MD2 o LY96 (Lymphocyte antigen 96); TLR4 (Toll-like receptor 4); MyD88 (Myeloid differentiation primary response gene 88); Hsp90 (heat shock protein 90); Nod2 (nucleotide-binding oligomerization domain containing 2); RIP2 (receptor-interacting protein 2); TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells-1); DAP12 (DNAX activation protein of 12 kDa); ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif); IRAK (IL-1R-associated kinase); IKK (I κ B kinase). Trabajo artístico de los autores

establecidos en la Clínica de Displasias: cáncer cervical invasor (grupo III), lesión intraepitelial escamosa de alto grado (Grupo II/HSIL) y lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (Grupo I/LSIL). Para el grupo de controles (Grupo IV), fueron pacientes con citología cervical normal que aceptaron participar en el estudio y con valores normales en la biometría hemática. No se incluyeron las pacientes que hubiesen recibido algún tipo de tratamiento para su enfermedad, que presentaran otra enfermedad concomitante que ocasionara alteración del sistema inmunológico (diabetes mellitus o enfermedades reumatológicas), así como pacientes que hubieran recibido antibióticos 30 días antes de la toma de muestra sanguínea. Una vez captadas las pacientes en sus diferentes grupos y de acuerdo con el diagnóstico, se procedió a firmar la hoja de consentimiento bajo información, y a toma de muestra sanguínea. Este protocolo fue sometido para su análisis y aprobación por el Comité Local de Investigación y Ética en Salud (CLIEIS) 1310 del Instituto Mexicano del Seguro Social, con registro F-2010-1310-51.

La medición de TREM-1 se realizó por medio de citometría de flujo en muestras de sangre. Además

de obtener el porcentaje de células que expresaron TREM-1, se calculó el Índice Medio de Fluorescencia (IMF) que corresponde a la división de la media geométrica de fluorescencia de la muestra problema sobre la media geométrica de fluorescencia del control negativo y/o control de isotipo. Las muestras de sangre fueron centrifugadas para garantizar la separación de los elementos formes de la sangre, decantando los elementos no necesarios para el estudio y quedando para su análisis solo la formula blanca. En la primera muestra no se agregó ningún tipo de anticuerpo, a la segunda muestra se agregó un isotipo de inmunoglobulina IgG, y a la tercer muestra se le adicionó un anticuerpo anti-TREM-1. La identificación de TREM-1 se realizó mediante citometría de flujo (BD FACSAria Flow Cytometer, Pharmingen, USA). Dependiendo de la intensidad de la fluorocromía o intensidad de estas células, se vio su expresión y se graficó en histogramas que mostraron las regiones de las células estudiadas, siendo la región C el conteo de TREM-1 en polimorfonucleares (PMN), y la región E para mononucleares (MN), expresando los resultados en porcentajes (%).

Técnica de citometría de flujo

Esta técnica se basa en los principios de excitación y esparcimiento de la luz, así como en la emisión de moléculas de fluorocromos para generar información específica de múltiples parámetros, desde moléculas hasta células con un rango de medida de 0.5 μm hasta 40 μm de diámetro. Dependiendo del tipo de molécula o célula que se busca, estas son enfocadas hidrodinámicamente en una hoja de papel conocido como PBS previo a encontrar el enfoque del curso de luz más adecuado. El tipo de luz es del tipo láser. Es un proceso en el que se identifica la molécula o célula en estudio y se observa cuál es la emisión de la luz más adecuada para su identificación, y por medio de técnicas hidrodinámicas las partículas que no se buscan se esparcen alrededor del emisor de luz, quedando en el centro las que son objetos de estudio. Dependiendo de la intensidad de la fluorocromía, o intensidad de estas células, se determina su expresión y se grafica en histogramas. Estos resultados se expresan en porcentajes mediante histogramas, los cuales muestran las regiones de las células estudiadas. Siendo la región C el conteo de TREM-1 en polimorfonucleares y la región E para mononucleares.

Análisis estadístico

Las variables de respuesta se presentan en números crudos o en porcentajes. Las variables cuantitativas se expresan como media \pm desviación estándar (DE) de la media y se analizan mediante la *t* de Student para muestras independientes. Para estas mismas variables, se aplicó la prueba de suma de rangos de Mann-Whitney, cuando falló la prueba de normalidad. Para las variables cuantitativas: edad, semanas de gestación, se utilizó la prueba *t* de Student, representando los resultados en promedios. Para las variables cualitativas: expresión de TREM-1, se utilizó la prueba estadística Chi cuadrada, representando los resultados en porcentajes y proporciones. Todo valor de *p* igual o menor a 0.05 se consideró estadísticamente significativo. El análisis se realizó con los programas de SigmaStat (v 2.0).

Resultados

En todos los grupos se buscó el porcentaje de expresión y el Índice Medio de Inmunofluorescencia de TREM-1 en neutrófilos y monocitos de sangre periférica. La edad promedio de las pacientes para los grupos I, II, III y IV fue de 32.3 ± 8.5 ; 45.1 ± 13.1 ; 46.1 ± 14.3 , y 39 ± 8.9 años, respectivamente. Solo encontramos una diferencia estadísticamente significativa al

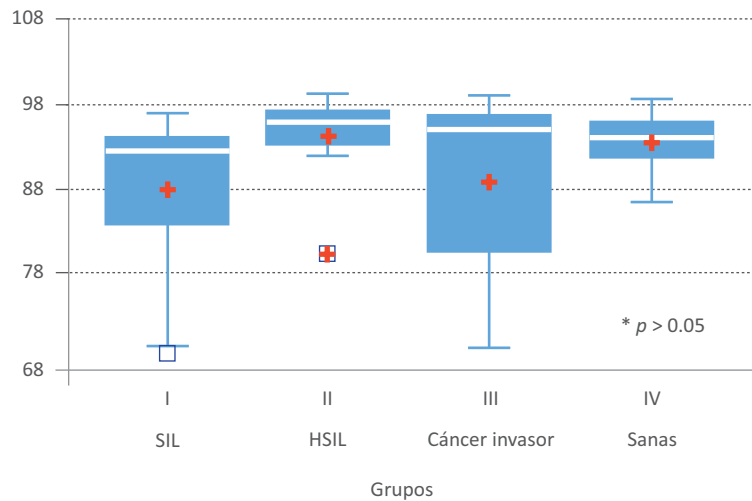


Figura 2 HSIL: Lesión intraepitelial escamosa de alto grado, SIL: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado

comparar los pacientes con LSIL (grupo I) frente a los grupos II (HSIL) y III (cáncer invasor), [$p = 0.013$].

Se realizó a las pacientes una citometría hemática para valorar cifras de leucocitos, neutrófilos y monocitos, habiendo encontrado los siguientes resultados: los valores para leucocitos fueron en promedio de 6.68 ± 1.46 ; 8.72 ± 1.74 ; 7.74 ± 2.39 , y de 7.64 ± 1.97 miles/ μL para los grupos I, II, III y IV, respectivamente. La diferencia entre todos los grupos no fue estadísticamente significativa ($p = 0.092$). Por su parte, los valores promedio encontrados de neutrófilos fueron de: 4.27 ± 1.16 ; 8.72 ± 1.74 ; 5.03 ± 1.99 , y de 5.12 ± 1.46 miles/ μL , para los grupos I, II, III y IV, respectivamente. La diferencia fue estadísticamente significativa cuando usamos análisis de varianza

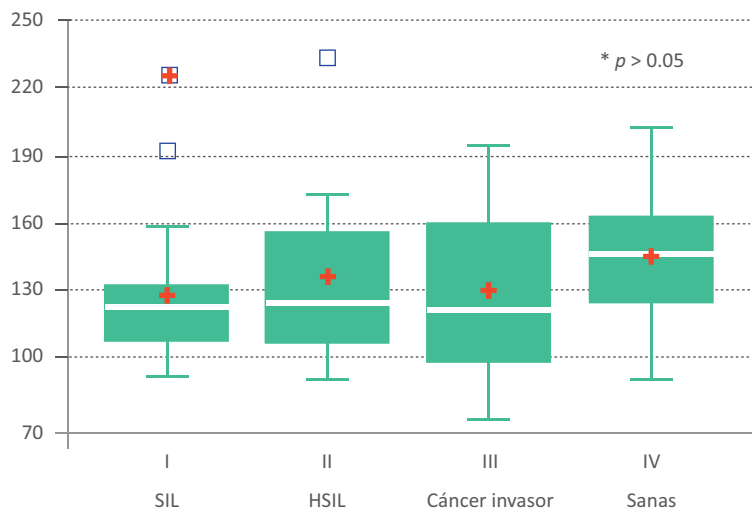


Figura 3 IMF: Índice Medio de Fluorescencia, HSIL: Lesión intraepitelial escamosa de alto grado, SIL: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado

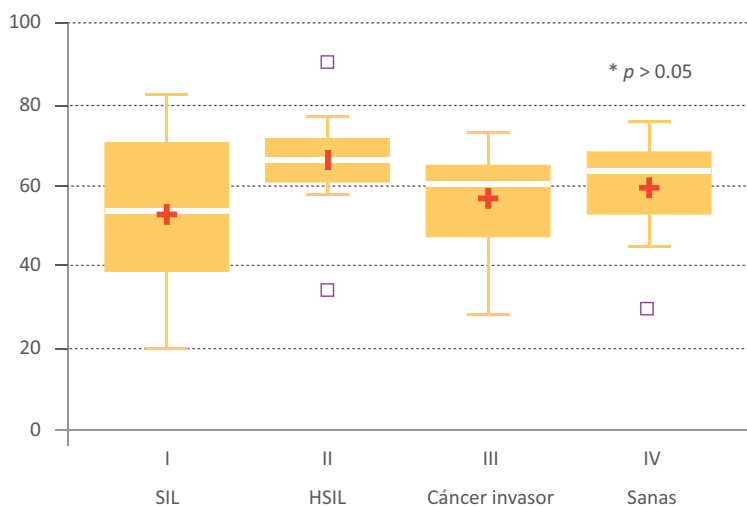


Figura 4 HSIL: Lesión intraepitelial escamosa de alto grado, SIL: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado

(ANOVA) y prueba de Turkey al comparar los grupos II frente a I, III y IV ($p < 0.001$). Las cifra de monocitos fue en promedio de 0.40 ± 0.127 ; 0.51 ± 0.32 ; 0.33 ± 0.12 , y de 0.36 ± 0.12 miles/ μL , para los grupos I, II, III y IV, respectivamente. La diferencia entre los grupos no fue estadísticamente diferente ($p = 0.156$).

En lo que se refiere a los porcentajes de expresión de TREM-1 en neutrófilos y monocitos encontramos los siguientes resultados: 92, 98, 97, 96 %, y de 50, 65, 60 y 62 %, para los grupos I, II, III y IV, respectivamente. No hubo diferencia estadísticamente al comparar los porcentajes de expresión entre los diferentes grupos (figuras 2 y 4). De la misma manera, los valores del Índice Medio de Fluorescencia de la expresión de TREM-1 en neutrófilos y en monocitos fueron de 120, 125, 120,

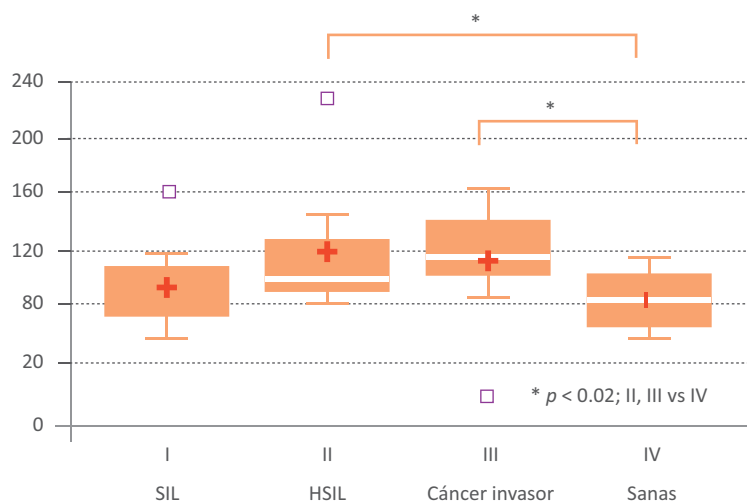


Figura 5 IMF: Índice Medio de Fluorescencia, HSIL: Lesión intraepitelial escamosa de alto grado, SIL: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado

145, y de 85, 100, 115 y 105, respectivamente (figuras 3 y 5). Solo encontramos una diferencia estadísticamente significativa cuando comparamos los grupos IV frente al II y III ($p < 0.02$) en la expresión del IMF de la expresión de TREM-1 en monocitos (figura 5).

Discusión

Los resultados que se obtuvieron cuando se compararon los grupos por edad de las pacientes arrojaron que hubo diferencia significativa en algunos, esto significaría que los grupos no son precisamente homogéneos; sin embargo para los efectos de esta investigación (expresión de TREM-1 en estas condiciones patológicas) no es relevante. Cuando se compararon los grupos con relación a los leucocitos y las cifras de monocitos no hubo diferencia significativa, es decir, los grupos fueron homogéneos. Sin embargo, al comparar las cifras de neutrófilos del grupo II (lesión intraepitelial escamosa de alto grado) con el resto de los grupos, se observó que estos tenían mayores cifras, más esto no interfirió en los resultados de expresión de TREM-1 el cual fue el objetivo principal de este estudio, ya que éste se expresó sin diferencia significativa en neutrófilos en los 4 grupos.

En nuestro estudio se buscó la expresión de TREM-1 en cada etapa precursora de cáncer cervical, y en este último se encontró que hubo expresión en todos los grupos de esta inmunoglobulina y que no hubo diferencia significativa en el porcentaje de expresión en neutrófilos y monocitos cuando se compararon los grupos de pacientes enfermas con el de las sanas. Esto significaría que, a pesar del progreso de la anomalía a nivel del tejido cervical, no hay interferencia en el porcentaje de células que expresan este marcador inflamatorio, por lo menos con este tamaño muestral. No se encontró diferencia significativa en el IMF de neutrófilos. Únicamente se encontró diferencia significativa en el IMF en monocitos de las pacientes con lesión intraepitelial escamosa de alto grado (grupo II) y cáncer invasor (grupo III) comparado con el grupo de pacientes sanas (grupo IV). Esto significa que los monocitos de estas pacientes que expresaron TREM-1 tenían mayor número de receptores para esta molécula, en comparación con el grupo de las sanas, lo que nos haría pensar que a mayor severidad de la enfermedad, mayor respuesta inflamatoria en las pacientes y, por lo tanto, mayor concentración de este marcador de inflamación. Esto tiene relevancia, ya que estas pacientes tendrían una mayor respuesta inflamatoria ante procesos infecciosos y tal vez un curso menos benévolo de la enfermedad, ya que la respuesta inflamatoria exagerada podría ocasionar mayor lesión al tejido afectado.

El que no se haya encontrado diferencia significativa en el porcentaje de expresión de TREM-1 en neutrófilos y monocitos además del IMF de neutrófilos puede deberse al tamaño de muestra y se requeriría de más estudios con tamaños de muestras mayores para obtener resultados diferentes.

Conclusiones

En las pacientes con anormalidad citológica, la concentración de receptores para TREM-1 en monocitos tiene relación directa con el mayor grado de malignidad a nivel cervical y por lo tanto con mayor respuesta inflamatoria. En relación al porcentaje de expresión de TREM-1 en neutrófilos y monocitos, no se puede

llegar a una conclusión satisfactoria en cuanto a que existe o no mayor expresión de TREM-1 en el grupo de enfermas en comparación con las pacientes sanas; debido al tamaño de la muestra, por lo que se requeriría de una muestra mayor. Por último, concluimos que TREM-1 es hasta el momento sólo un marcador de respuesta inflamatoria y que se necesitan más estudios para comprender claramente su función, además de su utilidad en el ámbito clínico.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno que tuviera relación con este artículo.

Referencias

- Kalima M, Lishimpi K, Meza JL, et al. Observed and Expected Incidence of Cervical Cancer in Lusaka and the Southern and Western Provinces of Zambia, 2007 to 2012. *Int J Gynecol Cancer* 2015;25(1):1-8.
- Lim S, Lee CM, Park JM, Jung SY, Lee KB. An association between preoperative anemia and poor prognostic factors and decreased survival in early stage cervical cancer patients. *Obstet Gynecol Sci* 2014;57(6):471-477.
- Massad LS, Einstein MH, Huh WK, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abdominal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *Obstet Gynecol* 2013;121(4):829-46.
- Eduardo L. Franco, Eliane Duarte-Franco, Alex Ferenczy. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ* 2001;164(7):164.
- L. Richeldi, M. Mariani, M. Losi, F. Maselli, L. Corbetta, C. Buonsanti, M. Colonna, F. Sinigaglia, Panina-Bordignon, L.M. Fabbri. Triggering receptor expressed on myeloid cells: role in the diagnosis of lung infections. *Eur Respir J* 2004;24(2): 247-250.
- Lanier, L. L. 2001. Face off — the interplay between activating and inhibitory immune receptors. *Curr Opin Immunol*. 2001;13(3):326-331.
- Axel Bouchon, Jes Dietrich, and Marco Colonna. Cutting Edge: Inflammatory Responses Can Be Triggered by TREM-1, a Novel Receptor Expressed on Neutrophils and Monocytes. *J Immunol* 2000; 164(10):4991-5.
- Chi Ho, Wei-Yu Liao, Cheng-Yi Wang, Yin-Hsiu Lu, Hsin-Yi Huang, Hsuan-Yu Chen, Wing-Kai Chan, Hwei-Wen Chen, and Pan-Chyr Yang. TREM-1 Expression in Tumor-associated Macrophages and Clinical Outcome in Lung Cancer. *Chao- Am J Respir Crit Care Med* 2008;177(7):763-770.
- Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene M-C, Faure G, Bollaert P-E. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med* 2004;350:451-458.
- Gibot S, Kolopp-Sarda M-N, Bene MC, Cravoisy A, Levy B, Faure GC, Bollaert P-E. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med* 2004;141(1):9-15.
- Gibot S, Kolopp-Sarda M-N, Bene M-C, Bollaert P-E, Lozniewski A, Mory F, Levy B, Faure GC. A soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 modulates the inflammatory response in murine sepsis. *J Exp Med* 2004;200(11):1419-1426.
- Gonzalez-Roldan N, Ferat-Osorio E, Aduna-Vicente R, Wong-Baeza I, Esquivel-Callejas N, Astudillo-de la Vega H, Sanchez-Fernandez P, Arriaga-Pizano L, Villasis-Keever MA, Lopez-Macias C, et al. Expression of triggering receptor on myeloid cell 1 and histocompatibility complex molecules in sepsis and major abdominal surgery. *World J Gastroenterol* 2005;11(47):7473-7479.
- Koussoulas V, Vassiliou S, Demonakou M, Tassias G, Giamarellos-Bourboulis EJ, Mouktaroudi M, Giamarellou H, Barbatzas C. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells (sTREM-1): a new mediator involved in the pathogenesis of peptic ulcer disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18(4): 375-379.
- Wang DY, Qin RY, Liu ZR, Gupta MK, Chang Q. Expression of TREM-1 mRNA in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2004;10(18):2744-2746.
- Amr M. Mahdy, Damon A. Lowes, Helen F. Galley, Jane E. Bruce, and Nigel R. Webster. Production of Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells by Lipopolysaccharide-Stimulated Human Neutrophils Involves De Novo Protein Synthesis. *Clinical and vaccine immunology*, 2006;13(4):492-495.
- Apgar BS, Zoschnick L, Wright TC. The Bethesda System terminology. *Am Fam Physician* 2003;68 (10):1992-8.