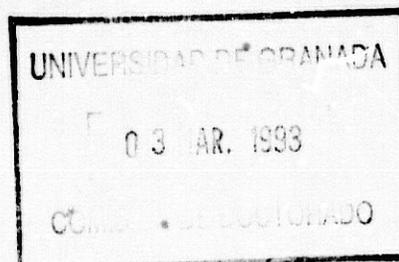


UNIVERSIDAD DE GRANADA



TESIS DOCTORAL

" ESTUDIO DEL AMBIENTE BIOQUIMICO Y HORMONAL, SERICO E
INTRAQUISTICO, DE LA MASTOPATIA FIBROQUISTICA MAMARIA"

A handwritten signature in black ink, enclosed within an oval-shaped scribble. The signature is stylized and appears to read "Luis Martinez Navarro".

LUIS MARTINEZ NAVARRO

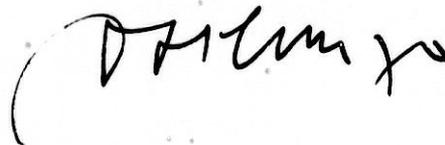
GRANADA, 1993

D. ALFONSO J. HERRUZO NALDA, PROFESOR TITULAR Y JEFE
DEL DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA DEL
HOSPITAL REGIONAL "VIRGEN DE LAS NIEVES" DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que D. LUIS MARTINEZ NAVARRO ha realizado bajo
mi dirección el trabajo de Tesis Doctoral sobre el
tema: " ESTUDIO DEL AMBIENTE BIOQUIMICO Y HORMONAL,
SERICO E INTRAQUISTICO, DE LA MASTOPATIA FIBROQUISTICA
MAMARIA", que ha finalizado con aprovechamiento,
habiendo sido revisado y estando conforme con su
presentación para obtener el grado de Doctor, siempre
que así lo considere el tribunal que designe la
Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Granada, 1 de Marzo de 1993.



Fdo: D. Alfonso J. Herruzo Nalda

D. FRANCISCO GONZALEZ GOMEZ, CATEDRATICO DEL
DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que D. LUIS MARTINEZ NAVARRO ha realizado bajo
mi dirección el trabajo de Tesis Doctoral sobre el
tema: " ESTUDIO DEL AMBIENTE BIOQUIMICO Y HORMONAL,
SERICO E INTRAQUISTICO, DE LA MASTOPATIA FIBROQUISTICA
MAMARIA", que ha finalizado con aprovechamiento,
habiendo sido revisado y estando conforme con su
presentación para obtener el grado de Doctor, siempre
que así lo considere el tribunal que designe la
Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Granada, 1 de Marzo de 1993.



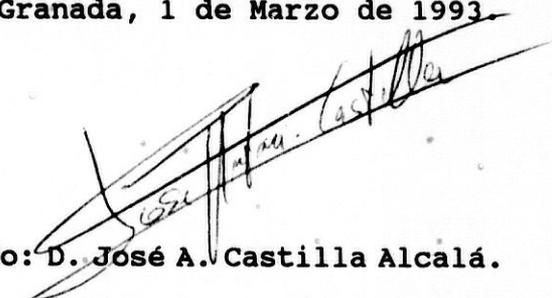
Fdo: D. Francisco González Gómez.

D. JOSE A. CASTILLA ALCALA, DOCTOR EN MEDICINA Y
CIRUGIA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA, MEDICO ADJUNTO
DEL SERVICIO DE ANALISIS CLINICOS DEL HOSPITAL REGIONAL
"VIRGEN DE LAS NIEVES" DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que D. LUIS MARTINEZ NAVARRO ha realizado bajo
mi dirección el trabajo de Tesis Doctoral sobre el
tema: " ESTUDIO DEL AMBIENTE BIOQUIMICO Y HORMONAL,
SERICO E INTRAQUISTICO, DE LA MASTOPATIA FIBROQUISTICA
MAMARIA", que ha finalizado con aprovechamiento,
habiendo sido revisado y estando conforme con su
presentación para obtener el grado de Doctor, siempre
que así lo considere el tribunal que designe la
Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Granada, 1 de Marzo de 1993.


Fdo: D. José A. Castilla Alcalá.

Quiero agradecer a D. Alfonso J. Herruso Nalda sus enseñanzas y sobre todo la confianza que ha depositado en mi.

A D. Francisco González Gómez su orientación y el interés puesto en este trabajo.

A D. José A. Castilla Alcalá su ayuda en las técnicas de este trabajo, su inapreciable colaboración y amistad.

A D. Francisco Parrilla Fernández sus consejos.

Este trabajo no se hubiera podido realizar sin la colaboración de D^a. Cristina Marcos, del Servicio de Anatomía Patológica.

A D. José L. Alarcón Morente, del Servicio de Medicina Nuclear, por su colaboración permanente, fundamental en la realización de este trabajo.

A D^a. Nelly Blanco y D. Fernando Perán del Servicio de Análisis Clínicos.

A todo el personal de los Servicios de Medicina Nuclear, Análisis Clínicos y del Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Regional "Virgen de las Nieves", especialmente a Paqui Linde y Encarnita Gamarra, de la consulta de Patología Mamaria del Centro Materno-Infantil, por toda la colaboración prestada.

A todos aquellos que con su apoyo han hecho posible este trabajo.

A CARMEN y mis hijos.

A mi familia.

INDICE

INTRODUCCION	1
Abreviaturas del texto	2
I.- Desarrollo mamario	3
II.- Regulación del crecimiento mamario	5
II.1.- Estradiol y progesterona	5
II.2.- Prolactina	7
II.3.- Factores de crecimiento	7
II.4.- Otras hormonas	9
III.- Mastopatía fibroquística	10
III.1.- Concepto e incidencia	10
III.2.- Epidemiología	11
III.3.- Histología	13
III.4.- Etiopatogenia	19
III.4.1.- Alteraciones hormonales generales	19
III.4.2.- Alteraciones hormonales locales	25
III.5.- Mastopatía fibroquística y cáncer de mama	27
III.5.1.- Riesgo de cancerificación	27
III.5.2.- Factores generales de riesgo	30
III.5.3.- Actividad hormonal mamaria y cáncer de mama	30
III.5.3.1.- Metabolismo local de estrógenos y progesterona	32
III.5.3.2.- Metabolismo local de andrógenos	34
III.5.4.- Factores de crecimiento	36
III.5.5.- Oncogenes	37
IV.- Enfermedad macroquística	38
IV.1.- Concepto e incidencia	38

IV.2.- Epidemiología	38
IV.3.- Histología	39
IV.4.- Etiopatogenia	42
IV.5.- Enfermedad macroquística y cáncer de mama	44
IV.6.- Estudio del líquido quístico	46
IV.6.1.- Patrones bioquímicos y clasificación	47
IV.6.2.- Ph en líquido quístico	52
IV.6.3.- Hormonas en líquido quístico	52
IV.6.3.1.- Andrógenos	52
IV.6.3.2.- Estrógenos	54
IV.6.3.3.- Progestágenos	56
IV.6.3.4.- SHBG	57
IV.6.3.5.- Hormonas tiroideas	57
IV.6.3.6.- Prolactina	58
IV.6.3.7.- LH y FSH	59
IV.6.4.- Proteínas	59
IV.6.5.- Marcadores tumorales	62
IV.6.6.- Factores de crecimiento	63
IV.6.7.- Enzimas	65
IV.6.8.- Péptidos	67
IV.6.9.- Propiedades inmunes	67
OBJETIVOS	68
MATERIAL Y METODOS	70
I.- Material	71
I.1.- Material y aparatos	71
I.2.- Reactivos	72
II.- Pacientes estudiadas	73

IX.4.- Comparación de medias entre los diferentes grupos	87
IX.4.1.- Comparación de medias entre los distintos tipos de suero	87
IX.4.2.- Comparación de medias entre suero y líquido quístico, y entre los dos tipos de líquidos quísticos	87
IX.5.- Correlaciones lineales simples	88
IX.6.- Regresión lineal múltiple paso a paso	89
RESULTADOS	92
I.- Abreviaturas de las tablas	93
II.- Abreviaturas de las gráficas	94
- Presencia de celularidad apocrina	95
- Hormonas esteroideas en M.F.Q.	98
- Hormonas hipofisarias en M.F.Q.	113
- Hormonas tiroideas en M.F.Q.	122
- Marcadores tumorales en M.F.Q.	132
- Perfil lipídico en la M.F.Q.	145
- Parámetros bioquímicos en M.F.Q.	160
- Enzimas en M.F.Q.	172
- Correlaciones intraquísticas entre los distintos parámetros analizados y el cociente K/Na	187
DISCUSION	192
I.- Ambiente hormonal	200
I.1.- Andrógenos	200
I.2.- Estrógenos	202
I.3.- Gestágenos	205

I.4.- Cortisol	208
I.5.- Hormonas hipofisarias	209
I.6.- Hormonas tiroideas	210
II.- Marcadores tumorales	213
III.- Perfil lipídico	219
IV.- Parámetros bioquímicos	222
V.- Enzimas	224
VI.- Consideraciones finales	227
VII.- Vigilancia y tratamiento de los macroquistes	229
CONCLUSIONES	231
BIBLIOGRAFIA	234

INTRODUCCION

ABREVIATURAS DEL TEXTO:

- ADIOL: 5-androstano-3 β -17 β -diol.
- CEA: Antígeno carcinoembrionario.
- DHA: Dehidroepiandrosterona.
- DHAS: Sulfato de Dehidroepiandrosterona.
- DHT: Dehidrotosterona.
- E1: Estrona
- E1-S: Estrona sulfatada.
- E2: Estradiol.
- E3: Estriol.
- E3-S: Estriol sulfatado.
- EGF: Factor de crecimiento epidérmico.
- EMA: Antígeno epidérmico de membrana.
- FT3: Triiodotironina libre.
- FT4: Tiroxina libre.
- GCDFP: Gross cystic disease fluid protein.
- GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa.
- IGF1: Factor de crecimiento insulina-like I.
- LDH: Lácticodeshidrogenasa.
- MFQ: Mastopatía fibroquística.
- PRL: Prolactina.
- PDGF: Platelet-derived Growth Factor.
- RE: Receptores de estradiol.
- SHBG: Proteína transportadora de esteroides.
- TDLU: Unidad terminal ductu-lobular.
- TGF- α : Transforming Growth Factor Type α .
- TGF- β : Transforming Growth Factor Type β .

I.- DESARROLLO MAMARIO

Las mamas son glándulas apocrinas especializadas, de origen ectodérmico, presentes ya a los 35 días de vida embrionaria. Se forman en una zona engrosada de la epidermis llamada cresta mamaria, de disposición lineal, a cada lado de la línea media corporal anterior, que se extiende desde la base del esbozo de los miembros superiores a la base del esbozo de los miembros inferiores. Las crestas mamarias pasan por una serie de modificaciones para formar las unidades funcionales: los conductos y acinos galactóforos. La unidad mamaria está completa en el nacimiento, como lo demuestra la aparición ocasional de la llamada "leche de bruja" en algunas niñas recién nacidas debido al estímulo que sufren por parte de los niveles elevados de hormonas maternas. Después del parto el tejido mamario permanece quiescente hasta la pubertad, comenzando su desarrollo (Telarquia) a la vez que surge actividad ovárica.

La mama madura está constituida fundamentalmente por cuatro tipos de células: epiteliales y mioepiteliales, que se encuentran en el parénquima glandular formando las unidades funcionales (acinos y conductos galactóforos), y fibroblastos y adipocitos que formarán el estroma o tejido de sostén.

más grandes y se encuentran dentro de una red de estroma formada por tejido fibroso, grasa, vasos sanguíneos y linfáticos.

En el desarrollo de cualquier órgano, y en la mama igual, influyen multitud de factores reguladores del crecimiento. Estos pueden ser sintetizados en glándulas especializadas y aportados a la circulación sanguínea para llegar al órgano diana (acción endocrina: hormonas séricas), o sintetizados por las células del órgano en cuestión (acción paracrina o autocrina).

II.- REGULACION DEL CRECIMIENTO MAMARIO

El tejido mamario está sometido a un microambiente hormonal que interviene en el control de la proliferación y de la diferenciación de las células mamarias.

El primer paso en este control lo ejerce la unión de hormonas esteroideas a sus receptores específicos, provocando un segundo paso basado en la secreción paracrina de factores de crecimiento con acción proliferativa o antiproliferativa, habiéndose descrito en las células ductales receptores de membrana para estos factores de crecimiento (Gompel y cols., 1990).

II.1.- ESTRADIOL Y PROGESTERONA.

Las hormonas esteroideas actúan en la célula mamaria por medio de receptores hormonales (RH), estando la cantidad de receptor influenciada por los niveles de hormonas existentes, así los estrógenos inducen receptores para progesterona y esta última limita la cantidad de receptores de estrógenos y de progesterona.

Los estrógenos provocan el agrandamiento y pigmentación de la areola, estimulan el depósito de grasa, la proliferación del estroma y el crecimiento del sistema de conductillos, y más tarde, junto a la progesterona permite el desarrollo de acinos y

lobulillos en la glándula (Mauvais-Jarvis y cols., 1986). Existe controversia sobre la actividad mitótica del estradiol, afirmándose por algunos autores que tiene capacidad proliferativa directa (Lippman y cols. 1976), mientras que otros refieren que los estrógenos por si mismos no son un agente mitógeno para las células epiteliales mamarias normales, sino que actuarían aumentando la secreción de factores de crecimiento por las células epiteliales, siendo estos los que provocarían el aumento de mitosis y por lo tanto de crecimiento (Houdebine, 1990).

La progesterona inhibe la acción mitótica de los estrógenos a nivel ductal, pero tiene acción sinérgica con los estrógenos sobre el epitelio lobular (Colin, 1991). Esta actividad mitótica de la progesterona ha sido confirmada por otros autores, pero solo sobre las células en las cuales la proliferación dependa de la presencia de Factor de crecimiento epidermoide (EGF) - cel. alveolares - (Colomb y cols., 1990).

Diversas teorías han implicado a ambas hormonas en el control de la división celular mamaria. Así se ha afirmado que el hiperestronismo puede favorecer la multiplicación celular y llegar a desarrollar neoplasias (McManus y Welsch, 1984; Mauvais-Jarvis y cols, 1986), describiéndose la máxima proliferación del epitelio mamario entre los días 3º y 7º del ciclo (Vogel y cols., 1981). Por contra, otros autores encuentran que la máxima actividad mitótica en la mama

se produce entre los días 22 y 24 del ciclo, período que corresponde al pico de progesterona y al segundo pico de estradiol (Meyers, 1977; Ferguson y Anderson, 1981; Henderson y cols., 1985; Longracre y Bartow, 1986; Going y cols., 1988).

II.2.- PROLACTINA.

No hay duda de que la prolactina (PRL) es un factor de crecimiento de la glándula mamaria y que juega un papel importante en la proliferación y diferenciación de las células epiteliales de la mama. Así, en animales hipofisectomizados solo crece la mama si se aportan varias hormonas, entre ellas la PRL (Houdebine, 1990).

No hay que olvidar que los estrógenos in vivo aumentan la secreción de PRL.

II.3.- FACTORES DE CRECIMIENTO.

Son polipéptidos secretados en el órgano diana, que actúan sobre las células que los producen (secreción autocrina) y las colindantes (secreción paracrina) y que pueden favorecer o inhibir el crecimiento celular:

*Factor de crecimiento epidérmico (EGF),
Transforming Growth Factor tipo α (TGF- α): Estos dos factores utilizan los mismos receptores, que se

encuentran en las células epiteliales y mioepiteliales de la mama. Tanto in vitro como in vivo se ha comprobado que inducen el desarrollo de conductos y alveolos mamarios (Tonelli y Sorof, 1980; Houdebine, 1990).

*Factor de crecimiento insulina-like I o Somatomedina C (IGF1): Se ha comprobado que las células epiteliales mamarias son sensibles a este factor de crecimiento (Imagawa y cols., 1986; Pekonen y cols., 1988).

*Plateled-derived Growth Factor (PDGF): Es un factor que estimula la multiplicación de las células epiteliales y la formación de colágeno, fundamentalmente del tipo IV (Houdebine, 1990).

*Transforming Growth Factor tipo β (TGF- β): Actúa sobre las células epiteliales inhibiendo el crecimiento de los ductus, sin afectar al estroma. La ausencia de este factor o de sus receptores se considera como una de las causas de formación de tumores (Houdebine, 1990). La secreción de TGF- β es inhibida por los estrógenos, por lo que estos podrían aumentar el crecimiento de la glándula mamaria inhibiendo su secreción (Arteaga, 1988; McCune y cols., 1992).

Se han descrito tres subtipos de TGF- β : TGF- β 1, que inhibiría el crecimiento de las células cancerosas mamarias con receptores de estradiol negativos (RE-), y TGF- β 2 y β 3, que actuarían del mismo modo sobre las líneas celulares con receptores de estradiol positivos

(RE+) (Valverius y cols., 1989; Arrick y cols., 1990).

II.4.- OTRAS HORMONAS.

Otras hormonas como hormona del crecimiento, cortisol, andrógenos, hormonas tiroideas e insulina, también intervienen en el desarrollo mamario y en la preparación de la glándula mamaria para la lactancia (Fernández-Cid, 1987; Miller y Anderson, 1990).

III.- MASTOPATIA FIBROQUISTICA.

III.1.- CONCEPTO E INCIDENCIA.

La mastopatía fibroquística (MFQ) es la patología benigna de la mama más frecuente. Se ha definido como un estado patológico crónico caracterizado por una proliferación disarmónica, aunque benigna, de los componentes del estroma y del parénquima que pueden resultar en el desarrollo de tumores sólidos o quistes palpables (Weil, 1988).

A través de la historia y del área geográfica ha recibido diversos nombres, acuñándose hasta 40 sinónimos, siendo los más utilizados el ya referido como enfermedad fibroquística, mastitis quística crónica, hiperplasia quística, displasia mamaria, enfermedad de Reclus y enfermedad de Schimmelbush (Myhre, 1984).

Hay autores que rechazan estos términos generales, ya que como veremos a continuación, la mastopatía fibroquística se compone de lesiones histológicas diversas y con diferente riesgo de malignización (Hutter, 1985).

Clínicamente la MFQ se ha definido como la alteración en la cual hay bultos palpables en la mama, habitualmente asociados con dolor, con tendencia a fluctuar a lo largo del ciclo menstrual y que empeoran

progresivamente hasta la menopausia (Scanlon, 1981). El dolor mamario, generalmente bilateral y más intenso en la fase premenstrual, es más marcado en la porción supero-externa de la mama y a veces se irradia hasta el brazo (Greenblatt y cols., 1982). Puede aparecer secreción por el pezón (10%), multicanalicular, en una o ambas mamas (Calero, 1986).

La incidencia de la MFQ es difícil de precisar. Desde el punto de vista clínico el 10-15% de las mujeres presentarán sintomatología (Cuzick y cols., 1986). Por otro lado, exámenes necrópsicos en mujeres sin evidencia de patología mamaria fueron realizados por Frantz y cols. (1951), encontrando que entre 225 casos estudiados en el 34% de los mismos existían quistes microscópicos y en el 19% quistes evidentes. Davis y cols. (1964) y Sarnelli y Squartini (1991), encuentran lesiones típicas de mastopatía fibroquistica en el 58,3% y 54% respectivamente de las autopsias realizadas a mujeres sin cáncer de mama.

III.2.- EPIDEMIOLOGIA

Habitualmente la MFQ se presenta en la edad fértil de la mujer, siendo el período de mayor incidencia entre los 35 y 50 años (Junkermann y cols., 1983), si bien una pequeña proporción presentan lesiones típicas durante la menopausia (Calero, 1986). Actualmente, con

el uso de los tratamientos sustitutivos estrogénicos aumenta la incidencia de mujeres postmenopausicas con mastalgia y quistes mamarios, atribuible al mantenimiento de cuadros de MFQ (Devitt y cols., 1989).

Calero (1986), encuentra que la mama izquierda se afecta un 10% más que la derecha, siendo la localización más frecuente a nivel de los cuadrantes supero-externos (Jiménez y cols., 1986). Además, afirma que la MFQ afecta más a las mujeres que no han tenido hijos o tienen uno o dos. Opina que la lactancia tiene un efecto beneficioso sobre el cuadro estudiado, afirmando que las manifestaciones clínicas e incluso las lesiones histológicas desaparecen durante la gestación, lactancia e incluso en los 3-4 años que siguen al embarazo.

Se piensa que la incidencia de MFQ guarda una relación inversa con el peso corporal, observándose un 40% menos de incidencia en aquellas mujeres que tienen un peso superior a 65 kg. frente a las que pesaban menos de 55 kg. (Brinton y cols., 1981).

Se ha observado cierta protección para la patología benigna mamaria en aquellas mujeres que han usado contraceptivos orales durante algún tiempo, obteniéndose una reducción en el riesgo de padecer la enfermedad entre el 25-65% (Ory y cols., 1976; Lees y

cols., 1978; LiVolsi y cols. 1978; Sattin y cols., 1986; McGonigle y Huggins, 1991). Los datos anteriores han sido puntualizados recientemente, indicándose que la píldora anticonceptiva disminuye el riesgo de padecer MFQ en aquellas mujeres cuyas lesiones mamarias no presentan atipias celulares, pero en caso de que se desarrolle el cuadro clínico o se detecten atipias celulares durante su uso, la píldora no tiene efecto beneficioso (Stadel y Schlesselman, 1986). Esta idea surge tras los conocimientos actuales, que indican que las hormonas esteroideas estimulan el crecimiento de células malignas y premalignas preexistentes (Kottler y Gorins, 1991).

III.3.- HISTOLOGIA

La MFQ no presenta una lesión histológica única. La característica fundamental es la presencia de quistes acompañados de otras lesiones.

En el proceso evolutivo de la MFQ lo primero que ocurre es una reacción estromal con edema, proliferación fibroblástica y fibrosis del tejido conectivo intra y perilobular. A continuación se produciría proliferación del tejido epitelial con aparición de hiperplasia lobulillar y proliferación intraductal. Finalmente aparecerían cambios involutivos surgiendo atrofia lóbulo-alveolar, esclerosis, hialinosis, ectasia ductal y formación de quistes

(Vorherr, 1986).

Describimos a continuación, tras revisar la literatura, las lesiones histológicas que más frecuentemente se encuentran en la MFQ : Conductos en fondo de saco, Metaplasia Apocrina, Fibrosis, Adenosis, Epiteliosis y Quistes (Sandison, 1979; Azzopardi, 1979; Haagensen, 1987b).

1-Conductos en fondo de saco.-

Son unos conductillos que terminan en fondo de saco en lugar de formar grupos de acinos. No tienen distribución regular y los más grandes miden una fracción de milímetro de diámetro. En su etapa proliferativa los conductos en fondo de saco pueden ser muy numerosos y ocupar un área considerable en la mama, pero no forman tumores mamarios palpables. Ocurren en el 68% de las pacientes que tienen quistes de más de 3mm. de diámetro (Macroquistes). En ocasiones pueden formar quistes macroscópicos.

2-Metaplasia Apocrina.-

Es la sustitución del epitelio cilíndrico ductal por células apocrinas, que se caracterizan por ser células columnares altas con citoplasma acidófilo y pequeños núcleos redondeados. El citoplasma sobresale del polo central de las células hacia la luz del conducto o quiste. Los núcleos están cerca de la base

y suelen ser regulares en las lesiones benignas de la mama.

Haagensen (1987a), encuentra epitelio apocrino en el 79% de 1315 biopsias mamarias de enfermas con quistes mamarios macroscópicos, llegando a la conclusión que en la gran mayoría existe epitelio apocrino. Este epitelio se forma a partir de epitelio normal mediante metaplasia, con posterior degeneración, atrofia y eventual desaparición. Este autor afirma, en contra de la idea extendida que indica la benignidad de este proceso, que las pacientes con enfermedad quística macroscópica en las cuales la biopsia reveló metaplasia apocrina adquirieron carcinoma mamario con una frecuencia cinco veces mayor que las que no tenían este epitelio apocrino y que el carcinoma formado en las primeras fue de tipo apocrino en el 75% de los casos.

3-Fibrosis.-

Más que la existencia de una actividad fibroblástica nueva lo que ocurre es una colagenización del estroma preexistente. Este tejido fibroso puede distorsionar los ductus existentes, reduciendo su luz y obliterándolos (Sandison, 1979).

La fibrosis puede permanecer en las mujeres delgadas tras la menopausia, pero lo usual es que al aumentar la edad se produzca metaplasia adiposa del tejido estromal interlobular, de forma que el estroma mamario es sustituido por grasa. Esto es importante a

la hora del estudio mamográfico de las mujeres menopausicas.

4-Adenosis.-

El proceso básico de la adenosis es la multiplicación de los acinos de los lobulillos mamarios de una manera un tanto desordenada, de modo que dan la impresión de que invaden el estroma mamario circundante. Los lobulillos mantienen su aspecto histológico normal y no hay proliferación intraluminal de las células llenando los acinis. La adenosis no forma tumor palpable y no tiene ningún papel en el desarrollo del carcinoma de mama, si bien es uno de los tipos comunes de hiperplasia o hipertrofia epitelial benigna.

Una forma alterada de adenosis es la llamada Adenosis Esclerosante o Tumoral, que forma tumor palpable. Ocurren cambios a nivel lobulillar, perdiéndose el patrón acinar sencillo que se ve en la adenosis. No tiene ningún significado como precursor del carcinoma mamario, aunque puede dificultar al patólogo en el diagnostico.

5-Epiteliosis o Papilomatosis.-

Este termino describe una lesión en la que la hiperplasia del epitelio de los conductos y acini provoca estratificación de las células, que van a llenar la luz de estos ductus y acinis más o menos por

completo. Sandison (1979), clasifica esta hiperplasia en tres tipos: (a) Forma sólida, en la que los conductos están sólidamente llenos, (b) Forma cribiforme, en la que hay tendencia a una disposición acinar sin formación de estroma, y (c) Variedad con disposición papilar, en la que el crecimiento epitelial tiene menos estroma fibrovascular que los verdaderos papilomas. Para este autor la presencia de epiteliosis es un hecho esencial que diferencia la enfermedad quística hiperplásica de la mastopatía quística simple y además considera que esta lesión puede asociarse con el desarrollo de cáncer. Sin embargo Haagensen (1987c), que denomina a este tipo de lesiones con el termino de papilomatosis, considera que es una lesión benigna que no delimita tumor palpable y que además no predispone al cáncer mamario.

Esta proliferación o hiperplasia epitelial es provocada según Vorherr (1986), por la acción sobre el epitelio ductal de una serie de factores genéticos, hormonales (predominio estrogénico), medioambientales (carcinógenos) o metabólicos-bioquímicos (intrínsecos). En un primer momento es un fenómeno reversible, pero si los estímulos iniciales persisten y continua el crecimiento se producirán fenómenos de atipia celular sobre los que pueden actuar factores carcinogénicos y desarrollar un carcinoma in situ, que dejado a su evolución natural puede terminar en un carcinoma.

Una forma especial de epiteliosis es la denominada Papilomatosis esclerosante. En esta aparece una zona de fibrosis en el centro del grupo de conductillos afectados por papilomatosis, por lo que aparecen túbulos deformados de células epiteliales sugiriendo la imagen del carcinoma escirro, lo que puede llevar a error al patólogo.

6-Quistes.-

Es el elemento característico de la mastopatía fibroquística. Pueden ser subdivididos siguiendo a Haagensen (1987b) en:

a) Microquistes, cuando no son palpables y son demasiado pequeños como para identificarse con facilidad a simple vista ya que suelen medir menos de 3 mm. Se forman a partir de los conductos en fondo de saco que se dilatan irregularmente formando estos microquistes. Están revestidos por una sola capa de epitelio aplanado. Aparecen en el 67.4% de las biopsias realizadas por MFQ. Se considera que son lesiones normales de la mama.

b) Macroquistes, cuando miden 3 o más mm. Pueden constituir lesiones palpables y verse a simple vista. Es la lesión más frecuente de las mamas, de tal forma que constituye una entidad clínica, denominada Enfermedad Macroquística que más adelante será analizada detenidamente.

III.4.- ETIOPATOGENIA

La etiología de la MFQ, el mecanismo de formación de los quistes que aparecen y la composición del líquido quístico no están bien dilucidados.

Clásicamente se ha sospechado de desequilibrios hormonales, no habiéndose aclarado si la alteración que los provoca se produce en las fuentes de hormonas - ovario, hipófisis -, en el camino de estas hormonas al órgano diana, o en los procesos celulares que producen (Greenblatt y cols., 1982; Calaf, 1989). Este desconocimiento ha provocado que surgan diversas teorías que a continuación enunciamos.

III.4.1.- ALTERACIONES HORMONALES GENERALES.

Se han emitido, entre otras, teorías que involucran el mal funcionamiento ovárico (Sitruk-Ware y cols., 1979), o alteraciones de la dopamina a nivel hipofisario (Dogliotti y cols., 1989), como causantes de desequilibrios hormonales que provocan MFQ. Como vamos a ver a continuación existen resultados dispares para cada una de las teorías enunciadas:

A) HIPERESTRONISMO.-

Se atribuye a los estrógenos el papel principal en la producción de MFQ y de hiperplasias mamarias, de forma que su exceso absoluto o relativo sería la causa

de las lesiones de la MFQ.

La acción de los estrógenos sobre la mama para provocar la aparición de MFQ se basa en datos clásicos de experimentación animal y en observaciones clínicas humanas. Así, la administración de estrógenos durante largo tiempo a cabras vírgenes indujo proliferación canalicular con evaginaciones papilomatosas del epitelio y dilatación de los alvéolos mamarios (Mixner y cols., 1956), por otra parte algunas de estas anomalías pudieron evitarse al agregar progesterona.

El predominio estrogénico se produce según Sitruk-Ware y cols. (1979) por una secreción disminuida de progesterona debido a un cuerpo luteo insuficiente. Esta teoría de deficiencia lutea es apoyada por otros autores que encuentran en mujeres afectas de MFQ niveles de LH sérica elevados mientras que la FSH permanece normal, patrón típico de la anovulación (Golinger y cols., 1978; Ayers y Gidwani, 1983). Sin embargo, otros autores no han podido demostrar variaciones en los valores séricos de estradiol y progesterona de pacientes con MFQ con respecto a las mujeres normales (Read y cols., 1985; Botija y cols., 1986; Kumar y cols., 1986).

Dado que la fracción hormonal que tiene capacidad de reaccionar con la célula diana es aquella que se encuentra en forma libre, se ha demostrado la existencia de hiperestronismo en la MFQ al encontrar

niveles elevados de la fracción libre de estradiol sérico en mujeres postmenopausicas que padecen la enfermedad (London y cols., 1981; Reed y cols., 1983).

B) PROLACTINA.-

El papel de la prolactina en la etiopatogenia de la MFQ es discutido. La actividad proliferativa de esta hormona se ha evidenciado, in vitro, incubando células de MFQ con PRL y comprobando que es capaz de estimular el crecimiento de las mismas, si bien no en todas las ocasiones (Salle y cols., 1991).

Se han emitido teorías y resultados diversos. Además, los estudios de los niveles séricos son difíciles de valorar ya que la PRL sigue un ritmo circadiano y factores como el stress ejercen efecto estimulador de su secreción. Por otro lado se han descrito tres tipos de PRL según su peso molecular: Big-Big PRL, Big-PRL y Little-PRL; afirmándose que en la patología mamaria benigna y maligna existe un aumento significativo de Big-Big-PRL y una disminución de Little-PRL (Sánchez-Garrido y cols., 1985).

Diversos autores han descrito que los niveles basales séricos de prolactina (PRL) medida mediante RIA, están por encima de lo normal en las pacientes con MFQ frente al grupo control (Ayers y Gidwani, 1983; Peters y cols., 1984; Botija y cols. 1985; Vorherr, 1986). Otros no aprecian estas diferencias entre pacientes con MFQ de grandes quistes y mujeres sanas,

pero encuentran sin embargo, un aumento significativo de la actividad biológica de las hormonas lactogénicas (Prolactina + Hormona del crecimiento) de las pacientes afectas de grandes quistes, medida dicha actividad en células de linfoma de rata Nb2 (Rose y cols., 1987).

De igual manera existen discrepancias en la respuesta de la PRL a la estimulación con TRH, encontrándola elevada de forma significativa en el grupo de enfermas por parte de algunos autores (Ayers y Gidwani, 1983; Peters y cols., 1984; Kumar y cols., 1984), no encontrando respuesta por otros (Sitruk-Ware, 1987), e incluso se han descrito disminuciones en las tasas de PRL tras la estimulación con respecto a un grupo control de mujeres sanas (Iturburu y cols., 1988).

Estas posibles alteraciones en la PRL pueden deberse a la estimulación ejercida por un predominio estrógeno existente en las mujeres afectas de MFQ (Peillon y cols., 1982), o por una alteración en el eje hipotálamo-hipófisis probablemente mediada por opioides endógenos, que provocaría niveles basales elevados de PRL (Watt-Boolsen y cols., 1985).

Por otro lado tenemos que pensar que no tienen por que ser necesarios niveles séricos altos de PRL para que esta ejerza su efecto multiplicador sobre el epitelio mamario y así se demuestra que este efecto se obtiene, in vitro, con concentraciones bajas de hormona (Edery, 1990).

Una teoría integradora de las ideas descritas es la emitida por Dogliotti y cols. (1989). Para este autor debido al stress existe una alteración del tono dopaminérgico mediado por opioides endógenos y factores neuroendocrinos como la serotonina. Esta alteración provoca hiperprolactinemia que actuará de forma directa sobre la mama y provocando una fase lútea insuficiente, de forma que existirá un hiperestronismo relativo que aumentará aun más la hiperprolactinemia.

C) ANDROGENOS.-

Se ha implicado a los andrógenos en la etiología de la enfermedad mamaria benigna y en la producción de hiperplasias y cáncer. Ya Veronesi (1968) indica que el tratamiento de la M.F.Q. con andrógenos multiplica por 400 la posibilidad de padecer cancer. Además, se han encontrado en mujeres afectas de M.F.Q., niveles urinarios elevados de testosterona, que se relacionan no solo con la enfermedad quística sino también con el grado de hiperplasia (Grattarola, 1978); sin embargo no se encuentran niveles elevados de testosterona sérica en este tipo de pacientes (Malarkey y cols., 1977; Golinger y cols., 1978).

Hay autores que con la excepción de la testosterona encuentran elevados andrógenos séricos como Dehidroepiandrosterona (DHA), Sulfato de Dehidroepiandrosterona (DHAS) y 4-Androstano en pacientes afectas de MFQ en relación con pacientes

normales. También encuentran elevado de manera significativa la proteína transportadora de esteroides -SHBG- (Carlström y cols., 1984).

D) HORMONAS TIROIDEAS.-

Las hormonas tiroideas han sido implicadas en la génesis de la MFQ, afirmándose que la enfermedad fibroquística se desarrolla con más facilidad en pacientes hipertiroideas, debido a que las hormonas tiroideas inducen en el tejido mamario una hipersensibilidad para la acción de los estrógenos (Vorherr, 1986). Sin embargo se encuentran mujeres afectas de MFQ que cursan además con hipotiroidismo y bocio, e incluso se ha propuesto tiroxina como tratamiento (Peters y cols., 1985)

E) METILXANTINAS.-

Minton y cols. (1979) encuentran que el 65% (13/20) de las mujeres con MFQ que se sometieron a dieta sin xantinas (cafeína, teofilina, teobromina) mejoraron de sus molestias mamarias en el plazo de 1-6 meses. Para este autor la cafeína puede incidir directamente en la proliferación de epitelio en la glándula mamaria y en el desarrollo de la MFQ. Además va a estimular la circulación sérica de algunas hormonas que inciden en el desarrollo de cambios proliferativos. Estudios animales demuestran que la cafeína causa aumento de PRL, insulina, corticosterona

y catecolaminas y disminuye la TSH, T3 y T4. Las catecolaminas unidas a los receptores B-adrenérgicos, que se encuentran aumentados en las mamas con MFQ, pueden modificar la actividad metabólica intracelular estimulando la producción de AMPC de una manera desorganizada y provocar la aparición de MFQ (Minton y cols., 1981; Minton y Abou-Issa, 1989). Otros autores no encuentran asociación entre metilxantinas y patología mamaria benigna (Shairer y cols., 1986).

III.4.2. ALTERACIONES HORMONALES LOCALES.-

Como hemos visto, todos los trastornos hormonales que hemos revisado no han sido reconocidos por gran cantidad de autores que han encontrado niveles hormonales séricos normales.

Podemos pensar que no hace falta una marcada alteración de los niveles hormonales si aceptamos que la causa última de la enfermedad fibroquística se encuentra en el propio tejido mamario que reaccionaría anormalmente a estímulos hormonales normales.

El tejido normal evolucionaría por tanto hacia la proliferación epitelial al sufrir una patología locorregional. Las alteraciones locorregionales pueden producirse por modificaciones en la actividad hormonal local, la cual se influencia por diversas causas como pueden ser : aumento de los niveles locales absolutos o relativos de algunas hormonas (Secreto y cols.,

1990); cambios en la actividad de algunas enzimas mamarias -aromatasas- (Jacquemier y Martin, 1990); o por modificación del número de receptores esteroideos (Monsonego y cols., 1991).

En el análisis de los niveles locales de hormonas tiene gran importancia la capacidad que tiene el tejido mamario para sintetizar o transformar localmente hormonas esteroideas (Lloyd, 1979; Bonney y cols., 1983), por lo que volveremos más tarde a ocuparnos de este punto.

Con respecto a los receptores hormonales, los trabajos emitidos son contradictorios, existiendo autores que encuentran niveles elevados de receptores esteroideos en la enfermedad fibroquística de la mama (Kouyoumdjian y cols., 1986; Monsonego y cols., 1991), fundamentalmente en las células epiteliales (Toth y cols., 1991), mientras que otros no confirman estos datos, refiriendo no encontrar niveles importantes de RE en los casos de MFQ (Nardelli y cols., 1987). Estas diferencias pueden deberse a la influencia de estradiol y progesterona sobre la formación de receptores, así Maudelonde y cols. (1991) encuentran una disminución del porcentaje de RE cuando se instaura tratamiento con linestrenol.

III.5.- MASTOPATIA FIBROQUISTICA Y CÁNCER DE MAMA

El riesgo de que una lesión benigna pueda favorecer la aparición de un cáncer es una constante en la investigación actual, tratándose de definir que factores son los que predisponen este paso.

La relación entre MFQ y cáncer de mama no está completamente aclarada, aunque se ha descrito por parte de Wellings y cols. (1975) continuidad entre lesiones benignas y cáncer, afirmando que a partir de las lesiones hiperplásicas atípicas se puede producir cáncer, si bien la lesión neoplásica también puede aparecer en tejidos no afectados por estas lesiones hiperplásicas.

III.5.1.- RIESGO DE CANCERIFICACION.

Existe una gran discrepancia en la literatura sobre la relación entre el cancer de mama y la MFQ (Senra y López, 1989). Diversos autores encuentran el doble de riesgo de desarrollar carcinoma de mama en mujeres afectas de MFQ (Davis y cols., 1964; Monson y cols., 1976; Azzopardi y cols., 1979; Myhre, 1984; Vorherr, 1986; Cuzick y cols., 1986), en clara contradicción con otros autores que no refieren aumento del riesgo (Devitt, 1972; Winder y cols., 1978).

Las discrepancias pueden deberse a la variabilidad

histológica de la MFQ, encontrándose que el riesgo de cáncer de mama se concentra en aquellas mujeres que presentan lesiones epiteliales proliferativas, sobre todo cuando existen atipias celulares (Dupont y Page, 1985; Vorherr, 1986; Kelsey y Berkowitz, 1988; Sancho-Garnier y Lê, 1990; Krieger y Hiatt, 1992). Esto ha sido demostrado por Carter y cols. (1988), en un estudio prospectivo sobre 16.692 mujeres afectas de patología mamaria benigna a las que se realiza biopsia diagnóstica, encontrando que para todos los grupos de edad, las mujeres con enfermedad no proliferativa, proliferativa sin atipia e hiperplasia atípica, incrementan el riesgo de padecer cáncer en 1.5, 1.9 y 3 respectivamente.

Podemos concluir afirmando que el riesgo de cáncer más elevado corresponde a la MFQ asociada a hiperplasia proliferativa y con un grado elevado de atipia celular (Myhre, 1984).

En la Reunión de consenso celebrada en Nueva York (Marchant, 1988), se dividió a las mujeres en tres grupos según el riesgo de desarrollar cáncer sobre la base del examen anatomopatológico del tejido mamario benigno:

1- No aumento de riesgo. Cuando las lesiones encontrada fueron alguna de las siguientes:

- Adenosis, esclerosada o florida.
- Metaplasia apocrina.

- Quistes, macro o microquistes.
- Ectasia ductal.
- Fibroadenoma.
- Fibrosis.
- Metaplasia escamosa.
- Hiperplasia leve, definida como aquella en que el epitelio es mayor de dos células de profundidad, pero menor de cuatro.

2- Riesgo levemente aumentado (1.5 a 2 veces), cuando aparece:

- Hiperplasia moderada o florida, sólida o papilar. Este término se refiere a los grados más extensos de proliferación epitelial, considerandose a partir de 4 células de profundidad.

- Papiloma con centro vascular.

3- Riesgo moderadamente aumentado (5 veces), cuando se informa de:

- Hiperplasia atípica, ductal o lobular.

Esta clasificación anatomopatológica de riesgo ha sido confirmada por otros autores (Junkermann y cols., 1983; Bäsler, 1985; Contesso y cols., 1991).

III.5.2.- FACTORES GENERALES DE RIESGO.

Son aquellos identificados en la epidemiología del cáncer de mama como factores de riesgo para el desarrollo de carcinoma: historia familiar de cáncer de mama, cáncer mamario anterior, edad, embarazo en edad tardía, etc... (Donegan, 1982).

La importancia de estos factores se debe a que unidos a las lesiones proliferativas mamarias van a multiplicar de manera significativa el riesgo de padecer carcinoma de mama. Así, existe un incremento del riesgo de cáncer de mama en las pacientes afectas de hiperplasia atípica y que presenten, entre otros, alguno de los siguientes factores: a) historia familiar positiva de cáncer de mama (Vorherr, 1986; Gorins y Kottler, 1991); b) más de 55 años (Dupont y Page, 1985); c) presencia de calcificaciones en el estudio mamográfico (Dupont y Page, 1985).

Hay que tener en cuenta estos factores generales en el momento de tomar una actitud terapéutica.

III.5.3.- ACTIVIDAD HORMONAL MAMARIA Y CANCER DE MAMA.

La dependencia hormonal del cáncer de mama, fundamentalmente del hiperestronismo es algo que ha sido confirmado en trabajos in vitro (Sluyser y Van Nie, 1974) e in vivo (Symmers, 1968). Además, se ha demostrado el efecto beneficioso que tiene en la

evolución del cáncer mamario de la mujer premenopausica la castración quirúrgica o el tratamiento con antiestrógenos en la paciente postmenopausica (Jordan, 1976; EBCTCG, 1992). Sin embargo en estudios realizados en mujeres postmenopausicas a las que se les administra terapia estrogénica sustitutiva no se ha encontrado aumento del riesgo de padecer carcinoma mamario (La Vecchia y cols., 1992). Por otro lado se ha dicho que lo importante no son los niveles hormonales séricos totales sino la fracción libre, afirmandose que las mujeres con mayor riesgo de desarrollar un carcinoma son aquellas con mayor fracción libre (Moore y cols., 1986).

Se han involucrado otras hormonas como la prolactina, al demostrarse en animales de experimentación que la inducción de hiperprolactinemia acelera el crecimiento de los tumores de mama, mientras que la supresión de la secreción de PRL disminuye la incidencia de preneoplasias, hiperplasias y disminuye la progresión de las neoplasias (Welsch y Nagasawa, 1977).

Las discordancias existentes sobre las acciones hormonales y la importancia de los niveles séricos totales ha hecho pensar que la alteración que induce la transformación maligna debe estar a nivel local, siendo importante en su desarrollo el metabolismo hormonal a nivel mamario, por lo que pasamos a analizarlo.

III.5.3.1.- METABOLISMO LOCAL DE ESTROGENOS Y PROGESTAGENOS.

Si los estrógenos juegan un papel en la producción del cáncer de mama debe tener más importancia la cantidad de estrógenos activos en el tejido mamario que el circulante en sangre, además las concentraciones en tejido no tienen que estar relacionadas con la concentración sérica.

La fracción activa de hormona está formada por los niveles de estradiol libre, no unidos a la proteína transportadora (SHBG). Por lo tanto, modificaciones en la fracción de estrógenos unidos a sus proteínas, por alteración de la SHBG o por interferencia de otra sustancia en esa unión, puede favorecer la aparición del ambiente adecuado para que se desarrolle un carcinoma. Estas variaciones en los niveles de SHBG se han estudiado a nivel sérico entre mujeres japonesas y británicas, demostrándose que las primeras, cuyas tasas de cáncer mamario son las más bajas de los países industrializados, tienen más estrógenos unidos a proteínas y menos en forma libre (Moore y cols., 1982), lo que hace pensar que unos niveles descendidos de SHBG supone un factor de riesgo para el cáncer de mama (Cuzick y cols., 1986).

Por otra parte el tejido mamario benigno y maligno tiene capacidad de interconvertir estradiol y estrona (Bonney y cols., 1983), y transformar estrógenos en otros esteroides conjugados (Hawkins y cols., 1985).

En pacientes con cáncer de mama o alto riesgo de desarrollarlo se ha visto un incremento del metabolismo del estradiol por la vía de la 16 α -hidroxilación, formándose metabolitos muy activos como la 16 α -hidroxiestrone que es un estrógeno que tiene la capacidad de unirse de forma covalente a la cromatina nuclear, induciendo cambios irreversibles en las células (Osborne y cols., 1988). Esto ha llevado a afirmar que la biotransformación del estradiol por esta vía es responsable de cambios hormonales endógenos y de la transformación neoplásica del tejido mamario, pudiendo utilizarse el nivel de actividad de 16 α -hidroxilación como marcador metabólico para evaluar la susceptibilidad del epitelio mamario hacia la transformación carcinogénica (Telang y cols., 1990). Estos datos no son confirmados por otros autores que no encuentran diferencias en la actividad 16 α -hidroxilasa de los distintos tejidos, cancerosos o sanos (Thijssen y Blankenstein, 1990).

Con respecto a los progestágenos se ha descrito la capacidad de ciertos cánceres de mama, particularmente aquellos con receptores de estrógenos negativos, de convertir la pregnenolona en metabolitos androgénicos (Abul-Hajj y cols., 1979). Esta actividad no ha sido demostrada en lesiones benignas o en tejido mamario normal.

III.5.3.2.- METABOLISMO LOCAL DE LOS ANDROGENOS.

Se conoce la importancia del tejido adiposo en la mujer postmenopausica para la formación de estrógenos mediante aromatización periférica de compuestos androgénicos. El tejido adiposo mamario tiene potencialmente la misma capacidad. O'Neill y Miller (1987), afirman que la presencia de cáncer mamario está asociada con un aumento de la aromatización local de andrógenos por el tejido adiposo mamario. Además, en un estudio realizado en 12 piezas de mastectomía por neoplasia, estudiando los 48 cuadrantes mamarios, encuentra un aumento significativo de actividad aromatasas en el tejido adiposo de aquellos cuadrantes con cáncer de mama (O'Neill y cols., 1988).

Se ha afirmado que el metabolismo de los andrógenos en la mama ocurre vía 5α -reductasa y glucuronil transferasa (Lloyd 1979; Belanger y cols., 1990b), describiéndose además la capacidad del tejido mamario para transformar la DHEAS en metabolitos más activos como la testosterona y la DHT (Miller y cols., 1973). Por otro lado se describe una mayor actividad de la enzima 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, medida por el grado de conversión de 4-androstenodiona en testosterona, en tejido mamario maligno que en parénquima normal (Perel y cols., 1980). Otros autores describen esta actividad solo en tejido maligno (Thijssen y Blankenstein, 1990).

Secreto y cols. (1990) emite una hipótesis en la que afirma que el aumento de los niveles de andrógenos provoca una estimulación del epitelio lobular mamario, favoreciendo la metaplasia apocrina de estas células y la aparición de quistes apocrinos en los que se forma y se incrementa la conversión de precursores inactivos en andrógenos activos como son testosterona y dehidrotestosterona. Estos andrógenos se segregan al ductus terminal (secreción paracrina) donde por una parte se unirán a los receptores de andrógenos y además pueden sufrir conversión a estrógenos y/o aumentar la síntesis de factores de crecimiento. Por cualquiera de los mecanismos de actuación reseñados pueden provocar un cambio epitelial y aparecer hiperplasias atípicas que en un futuro deriven hacia un carcinoma. La actividad mitótica de los andrógenos per se o por transformación a estrógenos se ha comprobado incubando células MCF-7, positivas para los receptores de estrógenos, con estradiol, DHA, SDHA y 5-androstano-3 β -17 β -diol (ADIOL). La incubación durante ocho días con 10 nM de estradiol incrementó 3,5 veces el número de células MCF-7, este aumento fue de 3 veces con ADIOL 10nM; 2,6 veces con DHA 100 nM y de 2 veces con SDHA 100 nM. Esto indica que los andrógenos adrenales favorecen la proliferación de células cancerosas con RE+ (Najid y F brioux, 1990).

III.5.4.- FACTORES DE CRECIMIENTO.

Se ha sugerido la importancia que la secreción autocrina o paracrina de factores de crecimiento tiene en la aparición y desarrollo del cáncer mamario. Los factores de crecimiento y sus receptores pueden ser críticos en la regulación de la proliferación celular en tejidos normales y anormales, pudiendo servir de marcadores de referencia en mujeres con alto riesgo de desarrollar cáncer (Lippman y cols., 1986).

Se ha confirmado el efecto proliferativo que ejerce el EGF mediante estudios en cultivos de células epiteliales mamarias humanas normales (Taylor-Papadimitriou y cols., 1977; Salle y cols., 1991). Además se han encontrado receptores para EGF y IGF-1 en tejido mamario normal humano (Damjanov y cols., 1986; Pekonen y cols., 1988).

La actividad de los factores de crecimiento está dirigida por el ambiente hormonal. Esto se ha confirmado in vitro, al añadir estradiol a un cultivo de la línea celular de cáncer de mama MCF-7 y demostrar que mejora la producción de factores de crecimiento proliferativos, y se frena la secreción del factor antiproliferativo TGF- β . Por otra parte si añadimos antiestrógenos aumenta la producción de este factor antiproliferativo (Lippman y cols., 1986).

III.5.5.- ONCOGENES.

Se ha sugerido que la acción proliferativa del estradiol es mediada por la interacción con protooncogenes del tipo C-myc y C-fos, implicados en la replicación celular, comprobándose que el estradiol aumenta el RNAm de ambos protooncogenes, mientras que los antiestrógenos y la progesterona se oponen a este efecto (Gompel y cols., 1990).

El oncogén ras se expresa en los tejidos produciendo una proteína específica: P21. Esta proteína está ausente de los tejidos normales o benignos con la excepción de aquellos que desarrollarán un cáncer en los 15 años siguientes a una biopsia por mastopatía benigna (Onuchi y cols., 1986). Por lo tanto algunos autores propugnan su uso como marcador de mastopatías de riesgo (Pons, 1991).

IV.- ENFERMEDAD MACROQUISTICA.

IV.1.- CONCEPTO E INCIDENCIA.

Los quistes mamarios de cualquier tamaño suelen estar en íntima relación con la enfermedad fibroquística de la mama.

Denominamos macroquistes mamarios a aquellos quistes con 3 o más mm. de diámetro (Haagensen, 1987b). El diámetro medio de estos quistes es de 1,9 cm., siendo el 83,5% de los mismos menores de 2 cm. (Fernández-Cid, 1988).

Aparecen en el 7% de las mujeres en edad fértil (Haagensen, 1987b), aumentando el porcentaje al 21,13% de las mujeres con patología mamaria (Rasmussen y Tobiassen, 1984; Fernández-Cid, 1988).

IV.2.- EPIDEMIOLOGIA.

Suelen aparecer en la edad fértil de la mujer, siendo la edad de máxima incidencia entre los 40 y 50 años y constituyendo una rareza en la época menopausica (1,6%) (Scanlon, 1981; Panazzolo y cols., 1990). Son bilaterales en el 35,9% de las ocasiones y múltiples en el 52,6% de las mujeres, siendo más frecuentes en la mama izquierda (50-60%) y en los cuadrantes superiores y externos (Haagensen, 1987b).

IV.3.- HISTOLOGIA.

Para Azzopardi y cols. (1979), los quistes de la mama se caracterizan fundamentalmente por:

- 1- Son una enfermedad lobular y no ductal.
- 2- Afectan a cualquier parte de la mama.
- 3- No producen descargas por el pezón ni inversión del mismo.

5- No producen enfermedad inflamatoria, excepto cuando se rompen.

6- Como el lóbulo mamario no contiene en su estructura tejido elástico, este tipo de tejido no forma parte de los quistes mamarios.

7- Revestimiento epitelial usualmente apocrino. Este último punto es un tema de discusión importante, por lo que lo analizaremos con más detalle.

El epitelio que con más frecuencia se encuentra tapizando las paredes quísticas es el cilíndrico o cúbico, mono o biestratificado. A partir del epitelio acinar se formará epitelio apocrino por un fenómeno de metaplasia (Fernández-Cid, 1988). El epitelio apocrino será más frecuente, cuantos más quistes tenga la paciente, así se ha comprobado que cuando se aspiran más de cinco quistes, en el 94% de los mismos existirá epitelio de revestimiento de tipo apocrino (Dixon y cols., 1985b).

La importancia de la presencia de metaplasia

apocrina tapizando los quistes mamarios viene dada por la indicación de varios autores que afirman que su existencia multiplica de 2 a 10 veces el riesgo de desarrollar un carcinoma mamario (Haagensen, 1987b; Wellings y Alpers, 1987). Esta afirmación no ha sido confirmada por otros autores (Page y Dupont, 1987).

El estímulo que induce la metaplasia apocrina del epitelio mamario y la formación de quistes es desconocido. Se ha descrito que el epitelio de los quistes macroscópicos es apocrino cuando estos son relativamente pequeños, pero a medida que se agrandan y debido a la gran presión oncótica existente en el líquido quístico, el epitelio que los tapiza se aplanan progresivamente hasta denudarse (Gatzky y cols., 1979). No obstante y según Haagensen Jr y Mazoujian (1987), aunque el epitelio aplanado no tenga un aspecto apocrino de propiedades tintoriales normales, la tinción inmunohistoquímica de este tipo de epitelio para la proteína mamaria GCDFP-15 revela que sigue funcionando como un epitelio apocrino.

La existencia de diferentes ambientes intraquísticos y su relación con la morfología del epitelio y las características citométricas de las células apocrinas ha sido confirmado mediante estudio del líquido quístico. Así, en los quistes en cuyo revestimiento predomina el epitelio apocrino se han encontrado, entre otros, niveles elevados de K y DHEAS en relación con los quistes en cuyo revestimiento

predomina el epitelio plano con mínimos cambios apocritos (Dixon y cols., 1983a; Boccardo y cols., 1990). En los quistes con altos niveles de K y DHEAS se han descrito células apocriñas con un citoplasma y un nucléolo significativamente mayor que aquellas células apocriñas encontradas en quistes con bajos niveles de K y altos de Na. Estos cambios celulares son típicos de las células epiteliales secretorias que son capaces de sintetizar proteínas (Beccati y cols., 1988).

Desde el punto de la morfología se han descrito cuatro tipos de quistes con epitelio apocrino (Toth y cols., 1990):

1-Quiste simple apocrino.-

El epitelio de revestimiento es una sola capa de células apocriñas columnares altas con núcleo basal, cromatina fina y nucléolo no prominente. La membrana basal y las células mioepiteliales serían claramente discernibles.

2-Quiste apocrino papilar.-

Las células apocriñas formarían papilas o pseudopapilas. La cromatina a veces es hipercromática. Solo algunas células mioepiteliales serían detectables, aunque la membrana basal seguiría intacta.

3-Quiste apocrino atípico o displásico.-

Serían quistes redondos, con las células de la superficie interna de tipo apocrino columnar en dos o más capas, formando protusiones papilares irregulares

y puentes epiteliales. El tamaño del núcleo no será homogéneo y a veces los nucléolos serán prominentes. Pueden verse células apocrinas con mitosis. La membrana basal a veces no es detectable.

4-Quiste apocrino atrófico.-

Son los quistes más grandes. las células epiteliales tienen aspecto plano, con núcleo redondo e hipercromático y nucléolos no prominentes.

IV.4.- ETIOPATOGENIA

La observación clínica de que la enfermedad quística es más frecuente en la época premenopausica sugiere la intervención de un desequilibrio hormonal como estímulo que produce la enfermedad. A los desequilibrios ya estudiados en la etiopatogenia de la enfermedad fibroquística de la mama se une una nueva teoría enunciada por Haagensen Jr y Mazoujian (1987), que sugiere que sería un exceso de andrógenos ambientales en el tejido mamario lo que provocaría la aparición de quistes mamarios.

Existen diversas teorías sobre la formación de los quistes, imbricando procesos obstructivos y secretorios. Los autores que defienden los primeros indican que el quiste se forma como consecuencia de un bloqueo a nivel del ductus de salida, de forma que se acumulan las secreciones y se producen quistes a

tensión. No se sabe con certeza la causa de esta obstrucción, si bien se han implicado diversos factores como la epiteliosis, papilomatosis, fibrosis o proliferaciones apocrinas (Azzopardi y cols., 1979; Vorherr, 1986).

Otros autores opinan que el quiste sería el resultado de una alteración sostenida del microambiente de la unidad terminal ducto-lobular (TDLU) que llevaría a una hipersecreción de fluidos (Dogliotti y cols., 1990), como puede confirmarse por los niveles elevados de Ig A y lactoferrina, sobre todo en los quistes con altos niveles de K (Dixon y cols., 1983a; Dixon y cols., 1983b). El aumento de secreción se produciría a partir de la metaplasia apocrina que surge en los lóbulos mamarios (Wellings y Alpers, 1987) y estaría bajo influjo hormonal (Hughes y Bundred, 1989). En este último caso, el quiste mamario no sería un mero contenedor de fluidos, ya que es capaz de acumular, metabolizar y probablemente sintetizar esteroides y hormonas peptídicas. Esta actividad hormonal no ha sido confirmada por todos los autores (Miller y cols., 1990).

Una vez formado el quiste crecerá por unión con quistes contiguos (Wellings y Alpers, 1987), o por mecanismos fisicoquímicos que dependen de variaciones en las presiones hidrostática, oncótica y osmótica del propio quiste (Molina y cols., 1990). La última teoría podríamos explicarla de la siguiente forma: tras una

fase inicial de secreción mamaria, probablemente debida a cambios hormonales, puede haber un aumento de osmolaridad dentro del quiste, que provocará una absorción de agua para equiparar la osmolaridad. El aumento de la presión hidrostática sobre la pared quística puede provocar su ruptura.

IV.5.- ENFERMEDAD MACROQUISTICA Y CANCER DE MAMA.

Existen posturas encontradas sobre la posibilidad de que la enfermedad quística de la mama pueda o no aumentar el riesgo de neoplasia mamaria. Hay autores que afirman que los quistes mamarios "per se" suponen un aumento significativo en el riesgo de padecer cáncer de mama, incrementándose hasta en cuatro veces el riesgo relativo (Haagensen, 1987b; Hughes y Bundred, 1989; Ciatto y cols., 1990; Naldoni y cols., 1990). Otros sin embargo indican que el aumento de riesgo se produce solo si la enfermedad macroquística se asocia a otros factores de riesgo como puede ser una historia familiar de neoplasia mamaria (Dupont y Page, 1985).

También se ha estudiado el riesgo de malignización de los quistes según el tipo de revestimiento; así se ha sugerido que la presencia de metaplasia apocrina multiplica de 2 a 10 veces el riesgo de desarrollar carcinoma mamario (Haagensen, 1987a; Wellings y Alpers, 1987), habiéndose observado que los focos de hiperplasia con o sin atipia son más frecuentes en el

tejido que rodea a los quistes con evidencia histológica de cambios apocrinos (Dixon y cols., 1985a; Toth y cols., 1990). Estos datos no son confirmados por otros autores (Page y Dupont, 1987).

Las opiniones encontradas han llevado al estudio del líquido quístico, intentando buscar algún patrón intraquístico que indique la existencia de quistes con mayor riesgo de cancerización. De esta forma el estudio del líquido quístico determinaría que mujeres tienen mayor riesgo de desarrollar carcinoma de mama (Skidmore, 1990).

Ya Petrakis y cols. (1980) encuentran que en el líquido quístico existe actividad mutagénica. Posteriormente se sugiere que el cáncer de mama puede ser más frecuente en aquellas mujeres que padecen quistes mamarios con un contenido quístico con niveles elevados de K y bajos de Na (tipo I) (Pye y cols., 1984), confirmándose por Bradlow y cols. (1990) en dos estudios retrospectivos en los que encuentra que en 33 casos de 36 cánceres de mama con antecedente de quistes mamarios y en 37 de 40, los quistes eran tipo I. Los mismos resultados son referidos por otros autores (Naldoni y cols., 1990).

Estas afirmaciones son puestas en duda en diversos trabajos (Ebbs y Bates, 1988), encontrándose que el 81,7% de las mujeres con quistes pobres en K, tienen además quistes ricos en K, por lo que sería difícil discernir la importancia de cada tipo en el desarrollo

del cáncer (Molina y cols., 1990).

Deben realizarse más estudios del líquido quístico, determinando patrones hormonales, bioquímicos e histológicos, para intentar aclarar los factores que intervienen en la producción de los quistes y así utilizar tratamientos racionales, y por otro parte delimitar el riesgo de cancerización de la enfermedad macroquística.

IV.6.- ESTUDIO DEL LIQUIDO QUISTICO.

Han aparecido en la última década un gran número de estudios basados en el análisis de diversos parámetros del líquido contenido en los quistes mamarios. El interés surge tras emitirse la hipótesis de que estudiando el líquido quístico podemos averiguar el ambiente local del tejido mamario, fundamentalmente de la unidad ducto-lobular terminal. Ambiente que parece influir directamente en la aparición o no de lesiones proliferativas que pueden evolucionar hacia el cáncer de mama.

La composición del líquido quístico deriva de la actividad secretoria del epitelio de revestimiento (Dogliotti y cols., 1990) y de procesos activos o pasivos de filtración entre la sangre o los fluidos extraquísticos y el quiste, debido a la permeabilidad de la pared quística (Molina y cols. 1990).

El análisis del líquido aspirado de pacientes con enfermedad macroquística de la mama demuestra que contiene una gran variedad de componentes (hormonas, proteínas, marcadores tumorales, etc.), muchos con concentraciones superiores a 100 veces los niveles séricos de la misma sustancia (Dixon y cols., 1985c).

IV.6.1.- PATRONES BIOQUIMICOS Y CLASIFICACION.

Tras el estudio del líquido quístico se han realizado clasificaciones de los quistes mamarios atendiendo a su composición electrolítica o al patrón electroforético de dicho líquido.

Atendiendo a la concentración de Na, K y Cl en líquido quístico se han dividido los quistes mamarios en tres tipos:

* Tipo I, cuando existían niveles de K mayor de 75 meq/dl, Na menor de 25 meq/dl y Cl menor de 25 meq/dl (Bradlow y cols., 1983) o la relación K/Na es mayor de 1,5 (Dogliotti y cols., 1990); caracterizándose además por tener uniones celulares impermeables y todo su transporte se realiza a través de los poros celulares.

* Tipo II, cuando el $K < 20$ y Na y $Cl > 75$ meq/dl (Bradlow y cols., 1983) o la relación K/Na es menor de 0,66 (Dogliotti y cols., 1990). Las uniones celulares se encuentran relativamente abiertas, de forma que algunos componentes séricos, especialmente los iones, pasan con facilidad al líquido quístico.

* Tipo III, sería intermedio entre los dos anteriores.

Siguiendo esta clasificación se comprueba que los componentes del líquido quístico varían según el tipo de quiste. Así en los quistes tipo I estarán elevados los niveles de Estriol-3-Sulfato, DHEA, DHEAS, Androsterona, Androsterona sulfato, β -HCG, α -Fetoproteína, Amilasa, Gammaglutamiltranspeptidasa (GGT), EGF y IgA-11S; mientras que en los tipo II hay elevación de lacticodeshidrogenasa (LDH), antígeno carcinoembrionario (CEA), IgG y IgA-7S (Bradlow y cols., 1990).

No se aprecian diferencias catiónicas en los quistes mamarios en relación con la fase del ciclo menstrual en la que se realiza la punción (Angeli y cols., 1987), pero si existen de forma significativa entre mujeres premenopausicas, en las que predomina el tipo I (>55%), y las postmenopausicas donde es mayoritario el tipo II (56.6%) (Dogliotti y cols., 1990).

Se ha intentando explicar el distinto patrón electrolítico encontrado en los líquidos quísticos afirmando que la concentración de K y Na esta regulada por unas sustancias endógenas, que se encuentran en gran cantidad intraquísticas, y que tienen actividad digoxina-like, existiendo una correlación positiva entre estas y los niveles de K intraquísticos. Este material digoxin-like reacciona con los anticuerpos

antidigoxina y además produce un bloqueo de la bomba de Na-K actuando sobre la enzima Na-K-ATPasa, provocando un aumento del K intraquístico y la disminución del Na. Por lo tanto, este material que estaría compuesto por ácidos grasos, péptidos, esteroides y esteroides sulfatados podría regular la concentración electrolítica de los quistes (Chasalow y Bradlow, 1990).

Otras clasificaciones se establecieron atendiendo al patrón electroforético del líquido quístico (Molina y cols., 1985):

- Tipo I o transudativo, cuando el perfil proteico y electrolítico del líquido quístico era similar al del suero humano.

- Tipo II o no transudativos, si el perfil proteico era distinto al del suero. En estos casos el patrón iónico predominante es el intracelular y además encuentra altos niveles de enzimas intracelulares como GGT y amilasa.

Para unificar criterios todos los autores reseñados realizan una clasificación de consenso y establecen tres tipos de fluidos (Angeli y cols., 1990):

* Fluido tipo I.-

A) Fisiología:

1. Quistes secretorios donde predomina el epitelio apocrino
2. Alta concentración de conjugados androgénicos, EGF y GCDFP-15.
3. Altos niveles de material digoxin-like
4. Uniones celulares cerradas

B) Composición electrolítica:

- 1- K >75 mM.
- 2- Na <25 mM.
- 3- Cl <30 mM.
- 4- Relación K/Na >3.

* Fluido tipo II.-

A) Fisiología:

1. Transudativo.
2. Bajas concentraciones de conjugados androgénicos, EGF y GCDFP-15.
3. Bajos niveles de material digoxin-like
4. Uniones celulares abiertas.

B) Composición electrolítica:

- 1- K <20mM.
- 2- Na >100 mM.
- 3- Cl >70 mM.
- 4- Relación K/NA <0,2.

* Fluido tipo III.-

Seria el quiste con una composición electrolítica intermedia. Se aproximarían más al tipo II en su fisiología.

Los diferentes patrones intraquísticos referidos no son aceptados por otros autores que piensan que posiblemente no existan dos tipos de quistes, sino que las diferencias en el contenido iónico o en la pared del quiste sean consecuencia de procesos de maduración y evolución, y lo afirman al no encontrar diferencias en la concentración de GCDFP-15 en los quistes con alto o bajo contenido en Na (Haagensen Jr y cols., 1990).

Además de los electrolitos, en líquido quístico se han medido diversos parámetros bioquímicos. Así, no se han encontrado diferencias según el tipo de quiste, ni entre líquido y suero, en los niveles de calcio. Esto no ocurre con la glucosa, que está significativamente más elevada en los quistes con bajo contenido en K (Molina y cols., 1985).

Niveles elevados de colesterol, que aumentan con la edad de la mujer, han sido descritos en líquido quístico con respecto a los niveles plasmáticos. En el 45% de los quistes se detecta colesterol epóxido, que actúa como carcinógeno en animales, este colesterol aumenta con los niveles de colesterol total (Petrakis

y cols, 1981). Los datos reseñados no concuerdan con los de Wynder y Hill (1977) que encuentran niveles ligeramente elevados de triglicéridos en el fluido ductal pero no hayan diferencias en los niveles de colesterol con respecto al plasma.

IV.6.2.- PH EN LIQUIDO QUISTICO.

Los quistes tipo I tienen un pH menor de 7 y los tipo II mayor de 7 (Bradlow y cols., 1987). Esta diferencia parece que tiene que ver con el perfil electrolítico de los quistes, así se aprecia que el pH del líquido quístico se correlaciona de manera inversa con la relación K/NA (Dixon y cols., 1984).

IV.6.3.- HORMONAS EN LIQUIDO QUISTICO.

Como veremos a continuación, existen numerosas evidencias que indican la existencia de altas concentraciones de hormonas esteroideas en líquido quístico, principalmente en formas de conjugados.

IV.6.3.1.- ANDROGENOS.

Un dato demostrado por Bradlow y cols. (1981) y corroborado posteriormente por otros autores (Miller y cols., 1983; Dixon y cols., 1985c; Boccuzzi y cols., 1987) es la existencia de niveles muy elevados de

andrógenos sulfatados, fundamentalmente Sulfato de Dehidroepiandrosterona (DHAS), con concentraciones que superan en más de 100 veces los niveles plasmáticos, y sin relación con los niveles de la misma sustancia en suero de las mismas pacientes (Scott y cols, 1990).

Se ha comprobado que la alta concentración intraquística de DHEAS se correlaciona positivamente con el grado de metaplasia apocrina del quiste mamario, y con los niveles en líquido quístico de K, estrona-sulfato, IgA-11S y urogastrona. Por otro lado existe correlación negativa con la concentración de Na, y no existe correlación con factores como cantidad de líquido, edad, paridad o estado menopáusico (Dixon y cols., 1983b; Dogliotti y cols., 1986; Miller y cols., 1990).

Existen serias dudas sobre el origen de los elevados niveles de andrógenos conjugados. La idea más extendida es que son producto de la secreción activa por parte de las células apocrinas que tapizan los quistes (Wales y Ebling, 1971; Labows y cols., 1979). Esta teoría se refuerza por la relación positiva del DHEAS con el K -cation predominantemente intracelular- y la Ig A 11S -marcador secretorio-, sustancias que se encuentran elevadas de forma predominante en quistes tapizados por epitelio apocrino (Miller y cols., 1990).

Por otra parte la relación positiva entre DHEAS y Estrona sulfatada (E1-S) puede hacer pensar en la existencia intraquística de conversión de andrógenos

conjugados a estrógenos (Miller y cols., 1990).

También andrógenos más activos como testosterona y dehidrotestosterona (DHT) se encuentran en líquido quístico. Si bien hay resultados dispares sobre los niveles de testosterona con respecto al plasma, existe acuerdo al afirmar que la DHT esta cuatro veces más elevada que en suero, principalmente y de manera significativa en los quistes con alta concentración de K (Belanger y cols., 1990a; Secreto y cols., 1991). Las altas concentraciones de andrógenos activos pueden formarse por conversión a partir de otros andrógenos inactivos, principalmente DHAS, abundante en este tipo de quiste (Secreto y cols., 1990). Además se ha confirmado la existencia de actividad 5α -reductasa y glucuronil transferasa en líquido quístico, lo que indica activación del paso de testosterona a DHT (Belanger y cols., 1986; Belanger y cols., 1990b).

IV.6.3.2.- ESTROGENOS.

Niveles elevados de estrógenos se han descrito en el ambiente hormonal intraquístico. Así, las tasas de estradiol en líquido quístico son superiores en más de 40 veces a los referidos en plasma de las mismas pacientes, obteniendo los mayores niveles de estradiol en los quistes con relación K/Na >1 (Szamel, 1990; Schurz y cols., 1991). Otros autores no encuentran estas diferencias cuando miden estradiol total, pero si

encuentran mayores niveles de estradiol libre en los quistes con altos niveles de K (Lai y cols., 1990b).

Existe además un aumento con respecto al suero de estrona (E1) libre y sulfatada (E1-S) (Bradlow y cols., 1981) y estriol (E3) libre y sulfatado (E3-S) (Raju y cols., 1977), fundamentalmente en aquellos quistes que pertenecen al grupo I (Raju y cols., 1985; Vizoso y cols., 1990b), describiéndose correlación positiva entre estos estrógenos y el DHEAS (Raju y cols., 1989; Castagnetta y cols., 1990). No existe por otra parte, relación entre los niveles séricos y quísticos de estrona sulfatada, lo que habla a favor de un metabolismo activo a nivel local (Scott y cols., 1990). Esta actividad local se influencia por el tipo de quiste, así en los quistes tipo II, la relación E1-Sulfatada/E1-libre es siempre menor de dos, lo que indica que las enzimas que producen el paso a formas sulfatadas están en menor concentración o son menos activas en los quistes tipo II (Castagnetta y cols., 1990).

Como vemos existe un hiperestronismo absoluto en el líquido quístico. Los estrógenos pueden formarse a partir de los altos niveles de andrógenos locales encontrados en líquido quístico (Raju y cols., 1987). Se encuentra además evidencia de actividad metabólica esteroidea al encontrar aumentada en líquido quístico la actividad 17-oxireductasa, que controla el paso de estrona a estradiol (Lai y cols., 1990a; Lai y James,

1990). Otras evidencias de este metabolismo intraquístico se basan en las correlaciones positivas existentes entre andrógenos sulfatados y estrógenos sulfatados en líquido quístico (Scott y cols., 1990), y en el aumento de actividad de las enzimas sulfatasas y β -glucoronidasa encontrado en tejido de MFQ (De Sanso y cols., 1981).

La actividad metabólica local adquiere gran importancia al describirse que la estrona-sulfato puede actuar como sustrato de la enzima 16- α -hidroxilasa, produciéndose estrógenos muy activos como la 16- α -hidroxiestrona, que se encuentra en altas concentraciones en algunos líquidos quísticos (Orlandi y cols., 1990). La 16- α -OH-Estrona tiene la propiedad de unirse de forma covalente a la cromatina nuclear induciendo cambios irreversibles en las células (Thijssen y Blankenstein, 1990).

IV.6.3.3.- PROGESTAGENOS.

El progestágeno predominante en líquido quístico es la pregnenolona, con concentraciones que superan en 10 veces las plasmáticas, encontrando los niveles más elevados en los quistes tipo I (Belanger y cols., 1990b).

No se observan diferencias con los niveles séricos de 17-OH-Pregnenolona y 17-OH-Progesterona. Sobre la progesterona están descritos datos contradictorios,

habiéndose encontrado en líquido quístico concentraciones iguales o ligeramente más altas que en plasma (Bradlow y cols., 1981; Angeli y cols., 1987), mientras que otros autores encuentran tasas que superan en 47 veces los niveles séricos de las mismas pacientes (Schurz y cols., 1991). Las tasas más altas de progesterona se encontrarían en los quistes tipo I (Belanger y cols., 1990a).

IV.6.3.4.- SHBG.

Los niveles de proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG) en líquido quístico nunca exceden de la décima parte de los niveles séricos (Bradlow y cols., 1981; Angeii y cols., 1987), lo que indica que la mayor parte de hormonas detectadas se encuentran en forma libre, dispuesta a interaccionar con sus receptores.

Por otra parte, la SHBG está en mayor concentración en los quistes tipo II, lo que indicaría que los quistes tipo I tendrían mayor cantidad de hormonas en forma libre, lo que facilitaría su acción biológica (Rosner y cols., 1985).

IV.6.3.5.- HORMONAS TIROIDEAS.

Se ha descrito un aumento significativo en líquido quístico de triiodotironina libre (FT3) y tiroxina libre (FT4) con respecto a los niveles plasmáticos; por

contra la T4 total se encuentra a menor concentración que en plasma y no se aprecian diferencias en los niveles de TSH (Angeli y cols., 1984; Cupceancu y cols., 1987). Además, los niveles intraquísticos de FT3 están inversamente correlacionados con los niveles de PRL ($p < 0,001$). Este último dato parece relacionar la actuación de ambas hormonas sobre las células epiteliales que recubren el quiste.

Se ha sugerido que las hormonas tiroideas pueden jugar un papel en el mantenimiento y desarrollo del quiste, sensibilizando anormalmente las células epiteliales mamarias a la estimulación de la prolactina y aumentando la susceptibilidad para la transformación displásica o neoplásica (Bhattacharya y Vonderhaar, 1979).

IV.6.3.6.- PROLACTINA.

Los niveles de PRL en líquido quístico son extremadamente variables. Se han descrito concentraciones menores que en plasma (Angeli y cols., 1984; Abney y cols., 1988), frente a otros autores que obtienen niveles medios más altos que los encontrados en suero de las mismas mujeres o de mujeres sanas (Rose y cols., 1986; Rose y cols., 1987). Estas discrepancias en los niveles de PRL pueden deberse a la influencia de factores como la zona geográfica, así se han descrito diferencias significativas al analizar distintas zonas

geográficas -mujeres finlandesas y americanas-, obteniendo concentraciones más altas en las primeras, las cuales paradójicamente tienen menor incidencia de cáncer de mama (Rose y cols., 1986).

Como ya hemos dicho anteriormente los niveles totales de hormona son menos importantes que la actividad biológica que es capaz de desarrollar, habiéndose descrito un aumento de la actividad biológica de la PRL en el fluido quístico (Rose y cols., 1987).

IV.6.3.7.- LH, FSH.

No se aprecian diferencias significativas entre concentraciones quísticas y séricas de LH y FSH (Abney y cols., 1988; Schurz y cols., 1991).

IV.6.4.- PROTEINAS.

La composición proteica del líquido quístico es apreciablemente diferente de la existente en el plasma, siendo consecuencia de un complejo proceso de filtración, y de la secreción activa del epitelio de revestimiento quístico y del tejido mamario circundante.

El contenido total de proteínas es un tercio del plasmático, siendo la concentración de albúmina de 25 a 100 veces menor que en plasma. Además existen

diferencias cualitativas y cuantitativas según el contenido electrolítico del quiste, así en los quistes tipo II o transudativos se encuentran las concentraciones más elevadas de proteínas, predominando albúmina y transferrina, y encontrando niveles bajos de lactoalbúmina. En los quistes no transudativos o secretorios con alto contenido en K, el componente proteico está formado mayoritariamente por inmunoglobulinas, una pequeña concentración de albúmina y niveles elevados de lactoalbúmina (Molina y cols., 1990).

Además de las proteínas estudiadas, en líquido quístico se han descrito cuatro proteínas mayores tras electroforesis en gel de acrilamida. Fueron denominadas "Gross Cystic Disease Fluid Protein" (GCDFP) -70, -44, -24, y-15, respectivamente, según el peso molecular (Haagensen Jr y Mazoujian, 1987):

La GCDFP-70 es inmunológicamente idéntica a la albúmina y se ha identificado con ella, por lo tanto se encuentra más elevada en los quistes tipo II (Balbin y cols., 1991); el resto de proteínas han sido asociadas específicamente con los macroquistes de mama.

Se ha comprobado que la GCDFP-44 es idéntica a la Zinc α -2-glicoproteína que es uno de los componentes mayores del sudor, y parece que en la mama se segrega por el epitelio metaplásico apocrino. Además existe correlación positiva entre esta proteína y los niveles

de DHAS en líquido quístico, lo que indica que puede ser un marcador de la actividad apocrina de los tejidos (Bundred y cols., 1991).

La GCDFP-24 tiene actividad fijadora de la progesterona y es muy parecida, sino idéntica en su secuencia de aminoácidos con la apolipoproteína D humana, lo que implica a esta en el metabolismo de la progesterona (Balbin y cols., 1990).

La más estudiada es la GCDFP-15, que se ha encontrado elevada en sueros de mujeres con enfermedad quística o con cáncer de mama (Haagensen Jr y cols., 1977). En fluido quístico está presente a una concentración que fluctúa entre 0.5-7.8 mg/ml, siendo su función biológica desconocida. Se encuentra solamente en aquellos tejidos con función apocrina, reflejando el grado de metaplasia apocrina, no existiendo expresión de la proteína en tejido ductal o lobular normal de la mama, sin embargo los cambios metaplásicos apocrinos del epitelio mamario, las hiperplasias atípicas o los adenocarcinomas si expresan uniformemente la GCDFP-15 (Mazoujian y cols., 1983; Le Doussal y cols., 1985). Se ha observado que la administración de andrógenos sintéticos es efectiva para estimular la secreción de esta proteína dentro del torrente circulatorio (Dilley y cols., 1983). Además en líquido quístico existe una relación positiva entre GCDFP-15 y EGF (Collette y cols., 1986), y negativa con la estrona (Belanger y cols., 1990b). Estos estudios

llevan a la afirmación de que la producción de GCDFP-15 es estimulada fundamentalmente por la DHT, y además por HGH y progesterona, siendo inhibida por el estradiol y los antiandrógenos (Haagensen Jr y cols., 1990).

IV.6.5.- MARCADORES TUMORALES.

Concentraciones elevadas de algunos marcadores tumorales han sido descritas en líquido quístico sin relación con los niveles séricos. Así, el CA 125 está elevado en el líquido quístico del 70% de las pacientes afectas de enfermedad macroquística, mientras que la concentración sérica en las mismas pacientes era normal (Dogliotti y cols., 1986). Además, los niveles de este marcador son inversamente proporcionales a la relación K/Na (Angeli y cols., 1987). La alta concentración de CA-125 tiene un origen desconocido, ya que no hay evidencia histológica de la presencia del marcador en tejido mamario normal o patológico.

Por otra parte el CA 15.3 está elevado en el líquido quístico y en sangre de pacientes afectas de quistes tipo I, existiendo correlación inversa entre las concentraciones del marcador y la proporción Na/K en los quistes tipo I (Vizoso y cols., 1989). En suero existe correlación positiva entre los niveles de marcador y los de estradiol, lo que puede explicar un control hormonal en las concentraciones séricas del marcador (Vizoso y cols., 1990a), esto no se ha

estudiado en líquido quístico. El CA 15.3 proviene de la descarga por parte de las células de revestimiento del quiste, ya que la localización del marcador es citoplasmática (Inaudi y cols., 1990).

Se ha descrito la presencia de concentraciones elevadas de β -hCG intraquístico, sugiriéndose que este dato puede expresar la producción por las células quísticas de glicoproteínas y hormonas (Abney y cols., 1988; Troccoli y cols., 1990).

El antígeno carcinoembrionario (CEA) también está presente en el líquido quístico, siendo sus niveles más elevados cuanto más baja sea la concentración de K (Molina y cols., 1985; Angeli y cols., 1987).

IV.6.6.- FACTORES DE CRECIMIENTO.

En líquido quístico existe un aumento apreciable de antígeno epidérmico de membrana (EMA), que es la expresión bioquímica de la hiperplasia epitelial (Bussolati y cols., 1983); igualmente se describe un incremento del EGF, no existiendo correlación entre ambos factores de crecimiento (Collette y cols., 1986). El EGF se encuentra a mayor concentración en líquido quístico que en el calostro o en la leche (Jaspar y Franchimont, 1985), y que en el suero de pacientes afectas de enfermedad macroquística (Battaglia y cols., 1989).

Como ya hemos descrito, el EGF juega un papel

importante en el control del crecimiento del tejido mamario (Taketani y Oka, 1983). Esta influencia se confirma al medir la actividad mitogénica de 35 líquidos y encontrar que aquellos con mayor actividad mitogénica tenían también niveles más altos de EGF (Tapper y cols., 1990).

Se aprecian niveles significativamente elevados de EGF en los quistes con un cociente Na/K < 3 (Smith y cols., 1989; Lai y cols., 1989a; Lai y cols., 1990b; Lai y cols., 1990c; Boccardo y cols., 1991), y en aquellos con epitelio de revestimiento de tipo apocrino (Battaglia y cols., 1989), existiendo correlación negativa entre el EGF y el cociente Na/K (Lai y cols., 1989a; Lai y cols., 1990b), y positiva con K y DHEAS (Boccardo y cols., 1988; Lai y cols., 1989b; Boccardo y cols., 1991). Los datos anteriores han sugerido que el EGF puede ser producido por el epitelio apocrino que tapiza los quistes con alto contenido en K.

No se aprecia relación entre niveles de EGF y estradiol en líquido quístico, por lo que se pone en duda que existe algún tipo de modulación entre ellos (Lai y cols., 1989a).

Otros factores de crecimiento como el IGF-I se encuentran en líquido quístico a concentraciones que suponen el 5-10% de los niveles obtenido en plasma de las mismas mujeres, existiendo una correlación negativa con los niveles de EGF (Wang y cols., 1989) y no

encontrando relación con los niveles de electrolitos (Hamed y cols., 1990). Esto sugiere un transporte desde el plasma más que una síntesis local (Collette, 1990).

Se ha detectado la presencia de endothelin-1 en líquido quístico (Takahashi y cols., 1990). Esta sustancia es un peptido de 21 aminoácidos que tiene acción mitógena sobre ciertas células: fibroblastos, músculo vascular o astrogliá, por lo que no puede descartarse una posible acción mitógena sobre las células epiteliales de la mama. No se han apreciado diferencias en los niveles de endothelin-1 según el patrón electrolítico del líquido quístico (Lai y cols., 1990c).

IV.6.7.- ENZIMAS.

Una gran variedad de enzimas se han medido en líquido quístico intentando determinar su origen y como intervienen en el metabolismo intrínseco del quiste. Así, se han determinado seis tipos al menos de proteasas activas, siendo la mayor fracción la que corresponde a HD1. Esta fracción está estrechamente relacionada con la GCDFP-24 existiendo duda sobre si forman un complejo unido o son la misma sustancia. Por otra parte también existen inhibidores de las proteasas. Una alteración en el balance de proteasas-inhibidores puede intervenir en la formación del

quiste, ya que al acumular fragmentos proteicos cambia la presión oncótica provocando paso de líquido hacia el interior del quiste (Kesner y cols., 1988).

Recientemente se ha descrito una nueva variedad de esterasa en líquido quístico que no se encuentra en el plasma. Esta esterasa puede actuar sobre esteroides conjugados o no, que están en forma de ésteres - valerianato, acetato u otros- para transformarlos en variedades más activas (Banerjee y cols., 1991).

Otras enzimas como Gamma-GT, amilasa y LDH, fundamentalmente sus isoenzimas 4 y 5, se han encontrado elevadas en líquido quístico, predominando de forma significativa en los quistes con alto contenido en K (Biagioni y cols., 1985; Biagioni y cols., 1987). La distribución de isoamilasas en los quistes tipo I es similar a la hallada en la leche humana, lo que demuestra su origen intracelular, y por tanto afirmaría un origen secretorio de estos quistes (Molina y cols., 1985). El aumento de LDH puede sugerir que en estos quistes existe un aumento de la capacidad biosintética y/o un metabolismo anaerobio. (Biagioni y cols., 1987).

La elevada concentración de enzimas intracelulares en líquido quístico puede deberse a necrosis celular en la pared del quiste, y apoyando esta hipótesis está el alto contenido en K y la baja concentración de proteínas (Schwartz y cols., 1976), o a la secreción por parte del epitelio quístico (Abranson, 1974).

IV.6.8.- PEPTIDOS

Se ha descrito un aumento de β -endorfina en líquido quístico sin poder determinar la función que desarrolla (Schurz y cols., 1991).

IV.6.9.- PROPIEDADES INMUNES

El líquido quístico tiene, in vitro, acción inhibitoria sobre la actividad de las células Killer o asesinas, no existiendo actualmente explicación para este fenómeno. La afirmación anterior es importante dada la función de vigilancia contra el cáncer que ejercen estas células (Gatti y cols., 1990). Otros autores implican a la HCG en la disminución de la vigilancia inmunitaria dada su capacidad inmunosupresora (Horne y cols., 1976).

A modo de resumen podemos decir que si bien existe un acuerdo en delimitar dos tipos de quistes mamarios en función de su contenido electrolítico, no están claros los perfiles bioquímicos, hormonales y de otras sustancias contenidas en el líquido quístico, pues como hemos visto existen discrepancias entre los diferentes autores. El delimitar este perfil es fundamental para el profundo conocimiento de los eventos que ocurren a nivel local, y quizá poder explicar determinados puntos oscuros de la enfermedad macroquística.

OBJETIVOS

La etiología, el mecanismo de formación y la composición hormonal y bioquímica de los quistes mamarios son problemas aun no dilucidados, existiendo controversia sobre la existencia de riesgo aumentado de padecer cáncer de mama por las pacientes con patología quística mamaria, habiéndose descrito la existencia de diversos tipos de macroquistes mamarios con diferente riesgo de malignización.

En esta tesis pretendemos estudiar los niveles hormonales periféricos, así como describir el ambiente hormonal, bioquímico y enzimático locales que acompañan a los quistes mamarios, con la intención de establecer patrones bioquímicos que caractericen los grupos de riesgo descritos en la literatura.

MATERIAL Y METODOS

I.- MATERIAL.

I.1.- MATERIAL Y APARATOS.

- Mamógrafo Mammo Diagnost UC (Philips Medical Systems, Alemania).
- Placas de mamografía Agfa Mamoray (Agfa, España).
- Ecógrafo Hitachi EUB-26 con sonda de 7,5 MHz (Hitachi Denshi, Japón).
- Pistola de punción-aspiración Cameco 20 ml. (Fontcuberta, Barcelona, España).
- Jeringas de 20 ml Discardit II (Becton Dickinson, Huesca, España).
- Agujas de 25 mm. x 0.6 mm. Microlance 2 (Becton Dickinson, Huesca, España).
- Micropipetas automáticas (Beckman Instruments Inc, Brea, USA).
- Centrífuga Centronic (Selecta, Barcelona, España).
- Frigorífico (Zanussi, Madrid, España).
- Congelador (Zanussi, Madrid, España).
- Analizador automatizado Synchron Cx3 (Beckman Instruments Inc, Brea, USA).
- Analizador automatizado Hitachi 747 (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania).
- Contador de radioinmunoensayo Multi-cristal Counter LB 2104 (Berthold, Alemania).

- Sistema IMx (Abbott Científica, Madrid, España).
- Tubos 12 x 75 (Aulabor S.A., Madrid, España).
- Portaobjetos 76x26 mm Geschliffen Matraud (Geschliffen, Alemania).
- Pipetas Pasteur de vidrio (Krape, España).
- Puntas de pipetas automáticas (Dasias, España).
- Tubos Vacutainer SST (Vacutainer, Meylas Cedex, Francia).
- Tubos Vacutainer 7.5% EDTA K₂ (Vacutainer, Meylas Cedex, Francia).
- Microscopio Olympus BH (Olympus Optical CO, Japón).

I.2.- REACTIVOS.

- Alcohol de 90°.
- Heparina Sodica al 1% (Roger S.A., Barcelona, España).
- Alcohol de 95°.
- " de 80°.
- " de 70°.
- " de 50°.
- Hematoxilina de Harris (Merck, Darmstadt, Alemania).
- ClH 0,5% (Merck, Darmstadt, Alemania).
- OG 6 (Merck, Darmstadt, Alemania).
- EA 65 (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Alcohol absoluto.

- Alcohol-Xilol.
- Xilol (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Bálsamo de Canadá (Merck, Darmstadt, Alemania).

II.- PACIENTES ESTUDIADAS.

Para realizar el estudio obtuvimos las muestras necesarias de pacientes procedentes de la consulta de patología mamaria del Centro Materno-Infantil, del Hospital Regional "Virgen de las Nieves" de Granada entre el 1 de Febrero de 1.991 y el 1 de Febrero de 1.992. Estas mujeres acudían para revisión periódica o por presentar nódulo mamario o mastalgia.

Las pacientes eran sometidas a exploración física mediante inspección y palpación de ambas mamas y axilas. A todas se les realizó mamografía y ecografía de ambas mamas, punción-aspiración con aguja fina (PAAF) del nódulo o quiste, citología del material aspirado, y en casos de quistes mamarios neumoquistografía de la mama afecta y análisis bioquímico y hormonal del líquido quístico.

Según el resultado de estas pruebas las mujeres incluidas en el estudio se dividieron en dos grupos - A y B -, subdividiendo el grupo A en dos tras el análisis de las características electrolíticas del líquido quístico:

A) Un grupo de 60 mujeres, diagnosticadas tras mamografía, ecografía, PAAF y neumoquistografía, de padecer macroquistes de mama no habitados, y en el que tras aspirar el quiste se obtuvieron 3 ml. al menos de líquido quístico. Este grupo se subdividió en dos grupos de 30 mujeres cada uno, según la relación K/Na existente en el líquido quístico aspirado:

A₁: Quistes con K/Na < 3.

A₂: Quistes con K/Na > 3.

B) Otro grupo de 50 mujeres, formado con aquellas pacientes diagnosticadas tras mamografía, ecografía y PAAF de mastopatía fibroquística sin macroquistes mamarios.

Todas las mujeres incluidas en el estudio tenían un ciclo menstrual normal y no tomaban anticonceptivos hormonales ni medicación que pudiese afectar su estado hormonal. La edad media de las mujeres con enfermedad macroquística fue de 42.7 años, con una edad mínima de 18 años y máxima de 52 años. En el grupo con relación K/Na <3 la edad media fue 42.8 años (18-52), mientras que en aquellas con K/Na >3 era 42.6 años (32-52). En las mujeres afectas de MFQ sin enfermedad macroquística -grupo B- la edad media fue 42.6 años, con un mínimo de 25 años y un máximo de 51 años.

La punción mamaria y la extracción sanguínea para las determinaciones analíticas se realizó en todos los

casos entre los días 22 y 27 del ciclo menstrual, entre las 8 h. y las 10 h., y habiendo mantenido ayuno desde las 24 h. del día anterior.

III.- MAMOGRAFIA. NEUMOQUISTOGRAFIA.

Tras la exploración física inicial realizamos estudio radiológico de la mama con proyecciones laterales y cráneo-caudal de ambas mamas.

Descartamos la posibilidad de quiste habitado realizando neumoquistografía tras la punción aspiración con aguja fina, introduciendo aire intraquístico. Se realizan proyecciones laterales y cráneo-caudal de la mama afecta.

El diagnóstico radiológico de mastopatía fibroquística o de quiste mamario se realiza siguiendo las recomendaciones y criterios de Hoeffken y Lanyi (1978).

IV.- ECOGRAFIA.

A todas las pacientes incluidas en el estudio se les realizó ecografía de ambas mamas con sonda de 7,5 MHz, antes de la punción aspiración con aguja fina, lo que permitió medir el tamaño quístico y estudiar la pared interna del quiste. Todas las ecografías fueron realizadas por la misma persona.

V.- PUNCION ASPIRACION CON AGUJA FINA (PAAF).

V.1.- Método de la punción.

Colocada la paciente en decúbito supino, se localiza la lesión a puncionar y se desinfecta la zona con alcohol, sujetando entre dos dedos la lesión, apretando contra la parrilla costal.

Sin aplicar anestesia local, dado el escaso dolor que produce, se realiza la punción de forma rápida, de un solo golpe, calculando el espesor de la lesión y de la masa a fin de que la aguja no sobrepase la lesión y poder evitar complicaciones al puncionar estructuras situadas más profundas.

A continuación se realiza el vacío, extrayendo suavemente el émbolo de la jeringa. En lesiones sólidas (placa o nódulo de MFQ), sin extraer la aguja de la lesión se realizan aspiraciones en diversos puntos, movilizándola en varias direcciones a fin de obtener una muestra representativa. Cuando se realiza la punción de un quiste debe intentarse vaciarlo por completo y palpar de nuevo la zona para comprobar si persiste o no alguna masa residual, en caso de existir se procede a puncionarla según la técnica descrita. Antes de extraer la aguja, se deja volver el émbolo suavemente a su posición normal para hacer desaparecer la presión negativa y no provocar hemorragias, además de evitar que se introduzca material dentro de la

jeringa. En caso de quistes, una vez que está vacío, se rellena con aire en la misma cantidad que el líquido extraído, utilizando una nueva jeringa para evitar al máximo la posibilidad de producir infecciones. Tras extraer la aguja y la jeringa, se hace presión sobre la zona de la punción con una torunda de algodón o una gasa durante 2 ó 3 minutos con el fin de evitar la formación de hematomas.

Si la lesión aspirada es sólida, se desconecta la aguja de la jeringa llenando ésta de aire, se vuelven a conectar y el material se va depositando sobre uno o varios portas, previamente preparados. Cuando el material aspirado es líquido, se introduce en uno o varios tubos de ensayo con unas gotas de heparina sódica al 1% para evitar su coagulación y se envía al laboratorio para su centrifugación inmediata a 1.000 rpm durante 10 minutos. Finalmente se decanta el líquido sobrenadante, y con el sedimento obtenido se realizan dos extensiones sobre portaobjetos y se fija en alcohol de 90 %.

V.2.- Extensión del material obtenido.

El material obtenido tras una punción realizada sobre una lesión sólida o tras la centrifugación del líquido quístico, se deposita sobre uno o varios portas, en un extremo de ellos, con el fin de que quede suficiente espacio para depositar todas las células

correctamente.

La extensión se realiza sujetando el porta con el material en un extremo, entre los dedos índice y pulgar de la mano izquierda, apoyándolo firmemente sobre el dedo corazón. Con la mano derecha se toma otro porta entre los dedos y se coloca un extremo sobre el material, formando un ángulo de 45°. Se realiza la extensión en esta posición haciendo pequeños movimientos osculatorios con el porta en la mano derecha, al tiempo que se realiza la extensión suavemente. Una vez terminada se introduce el porta inmediatamente en alcohol de 90°.

VI.- CITOLOGIA.

Para el estudio microscópico del material aspirado usamos la variante del método de Papanicolaou que a continuación describimos:

Alcohol 95°	10 pases
" 80°	" "
" 70°	" "
" 50°	" "
Agua del grifo	10 minutos
Hematoxilina de Harris	1 "
Agua del grifo	2 "
Agua + ClH 0,5%	3 ó 4 pases
Agua del grifo	10 minutos
Alcohol 50°	10 pases
" 70°	" "
" 80°	" "
" 95°	" "
OG 6	1,5 minutos
Alcohol 95°	10 pases
Alcohol 95°	10 pases
EA 65	3 minutos
Alcohol 95°	10 pases
Alcohol 95°	" "
Alcohol 95°	" "

Alcohol absoluto	"	"
"	"	"
Alcohol-Xilol	"	"
Xilol	"	"
"	"	"

Montaje con Bálsamo de Canadá.

El estudio citológico fue interpretado en todos los casos por el mismo citólogo.

VII.- PROCESAMIENTO DEL LIQUIDO.

Una vez centrifugado el contenido quístico y decantado el líquido sobrenadante, realizamos divisiones alicuotas del mismo que se congelaron a -80°C. hasta la realización de las mediciones pertinentes.

VIII.- METODOS BIOQUIMICOS.

VIII.1.- DETERMINACIONES BIOQUIMICAS.

VIII.1.1.- ELECTROLITOS Y PARAMETROS BIOQUIMICOS.

Los niveles de Na, K y Cl se determinaron mediante potenciometría indirecta, usando kits comerciales (Beckman Instruments Inc, Brea, USA).

Utilizando kits comerciales (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania) y el analizador automatizado Hitachi 747 (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania) se determinaron las concentraciones de: Glucosa, proteínas totales y calcio.

VIII.1.2.- PERFIL LIPIDICO.

El colesterol total y los triglicéridos se determinaron enzimáticamente (CHOD-PAP y GPO-PAP de Boehringer Mannheim, respectivamente) mediante el analizador automatizado Hitachi 747 (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania).

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se determinaron midiendo el colesterol en el sobrenadante que resultó de la precipitación selectiva de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las de muy baja densidad (VLDL) con ácido fosfotúngstico (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania) (0,5 mmol/l) y Cloruro Magnésico (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania) (25 mmol/l), y posterior centrifugación durante 20 minutos a 3000 rpm.

Las concentraciones de VLDL y LDL se calcularon indirectamente con las siguientes fórmulas (Friedwald y cols., 1972; Russell y Naito, 1986)

$$\text{VLDL (mg/dl)} = \text{Triglicéridos (mg/dl)} / 5$$

$$\text{LDL} = \text{Colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL}).$$

VIII.1.3.- DETERMINACIONES ENZIMATICAS.

Se determinaron utilizando kits comerciales (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania) y el

analizador automatizado Hitachi 747 (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania) las siguientes enzimas:

- Gamma-glutamyl-transpeptidasa (GGT)
- Fosfatasa alcalina
- Amilasa
- Lactato deshidrogenasa (LDH)

VIII.2.- MARCADORES TUMORALES CA 125, CA 15.3, CEA, β -hCG y α -FETOPROTEINA.

Estos parámetros se estudiaron por radioinmunoensayo (RIA) mediante diferentes kits comerciales: CA 125 y CA 15.3 (CIS Bioindustries, Gif-Sur-Yvette Cedex, Francia), CEA (Sorin Biomédica, Vercelli, Italia), y β -hCG (Becton Dickinson, New York, USA).

Estos marcadores tumorales se midieron con una técnica no competitiva, basada en hacer reaccionar las muestras con una fase sólida (bolita o tubo) que lleva fijado un anticuerpo monoclonal dirigido contra un único lugar antigénico de la sustancia a determinar, y con un anticuerpo monoclonal marcado con un isótopo radiactivo dirigido a diferentes lugares antigénicos de la molécula de la sustancia a determinar. Se produce la formación del siguiente "sandwich": fase sólida/sustancia/anticuerpo marcado radiactivamente. La bola se lava para eliminar el anticuerpo marcado no ligado. La radioactividad del "sandwich" es

directamente proporcional a la concentración de sustancia de la muestra. Cada prueba se realizó por duplicado.

Los niveles de α -Fetoproteína se determinaron por ensayo inmunoenzimático de micropartículas mediante kit comercial (Abbott Científica, Madrid, España). Las muestras se hacen reaccionar con micropartículas recubiertas de anticuerpos dirigidos contra la molécula de α -fetoproteína, posteriormente una alícuota del complejo anticuerpo-antígeno unido a micropartículas es transferida a una matriz de fibras de vidrio. Las micropartículas se unen de manera irreversible a las fibras de vidrio. Tras lavado de la matriz, se agrega un anticuerpo monoclonal marcado con Fosfatasa Alcalina dirigido a diferentes lugares antigénicos de la α -fetoproteína, el cual se une al complejo antígeno-anticuerpo. Posteriormente se añade fosfato de 4-metilumbeliferona, y el producto fluorescente es medido con el sistema IMx (Abbott Científica, Madrid, España). Cada prueba se realizó por duplicado.

VIII.3.- DETERMINACIONES HORMONALES.

VIII.3.1.- Estradiol, progesterona y testosterona total.

Estas hormonas se estudiaron por radioinmunoensayo (RIA) mediante kits comerciales (Sorin Biomédica, Vercelli, Italia).

directamente proporcional a la concentración de sustancia de la muestra. Cada prueba se realizó por duplicado.

Los niveles de α -Fetoproteína se determinaron por ensayo inmunoenzimático de micropartículas mediante kit comercial (Abbott Científica, Madrid, España). Las muestras se hacen reaccionar con micropartículas recubiertas de anticuerpos dirigidos contra la molécula de α -fetoproteína, posteriormente una alicuota del complejo anticuerpo-antígeno unido a micropartículas es transferida a una matriz de fibras de vidrio. Las micropartículas se unen de manera irreversible a las fibras de vidrio. Tras lavado de la matriz, se agrega un anticuerpo monoclonal marcado con Fosfatasa Alcalina dirigido a diferentes lugares antigénicos de la α -fetoproteína, el cual se une al complejo antígeno-anticuerpo. Posteriormente se añade fosfato de 4-metilumbeliferona, y el producto fluorescente es medido con el sistema IMx (Abbott Científica, Madrid, España). Cada prueba se realizó por duplicado.

VIII.3.- DETERMINACIONES HORMONALES.

VIII.3.1.- Estradiol, progesterona y testosterona total.

Estas hormonas se estudiaron por radioinmunoensayo (RIA) mediante kits comerciales (Sorin Biomédica, Vercelli, Italia).

El principio de este ensayo se basa en la competición por fijarse entre la hormona marcada con un isótopo radiactivo y la contenida en la prueba standard o en las muestras problema, a los anticuerpos anti-hormona unidos a una fase sólida (tubo). Tras incubación y lavado, la cantidad de hormona marcada fijada es inversamente proporcional a la cantidad de hormona presente en la muestra.

VIII.3.2.- SDHA, 17-OH-Progesterona y cortisol.

Los niveles de estas tres hormonas se investigaron por técnicas competitivas de RIA mediante kits comerciales (Immuchen, ICN Biomedicals, CA, USA). Los métodos empleados para la determinación de SDHA y cortisol presentan una reacción cruzada con la 17-OH-PG menor del 0.1 %.

VIII.3.3.- FSH, LH, PRL, TSH, FT, y FT,.

Estas hormonas se determinaron por radioinmunoensayo (RIA) según técnica no competitiva, mediante kits comerciales: FSH, LH, Prolactina (Sorin Biomedica, Vercelli, Italia) y TSH, FT3 y FT4 (INCSTAR Corporation, Stillwater, USA).

VIII.3.4.- Tiroxina (T4 total).

Esta hormona se midió mediante fluorometría (FPIA) usando kits comercial (Abbot Laboratories, Chicago, USA) y el sistema IMx (Abbott Científica, Madrid, España).

El principio de esta técnica se basa en la competición entre la hormona a medir y un trazador de tiroxina marcado con fluoresceína por los anticuerpos antihormona añadidos. La medición de la luz polarizada fluorescente por el sistema IMx (Abbott Científica, Madrid, España) nos indicará los niveles hormonales, siendo la cantidad de hormona marcada -con fluoresceína- fijada inversamente proporcional a la cantidad de hormona presente en la muestra.

IX.- METODOS ESTADISTICOS

Para la realización del estudio que pretende valorar que sustancias (variables estadísticas), tanto a nivel sérico como intraquístico, se encuentran implicadas en la fisiopatología de la enfermedad macroquística se utilizaron los siguientes paquetes estadísticos MICROSTAT (Ecosoft, INC) y BMDP (Biomedical Programs, Statistical Software, INC).

Se han considerado 3 grupos de pacientes, descritos anteriormente: 1) mujeres con mastopatía fibroquística sin presencia de macroquistes, 2) mujeres

con mastopatía fibroquística con macroquistes y cuyo líquido quístico presentaba una relación K/Na menor de 3, y por último, 3) un grupo de mujeres con mastopatía fibroquística con macroquistes y cuyo líquido quístico presentaba una relación K/Na mayor de 3.

Las distintas variables estudiadas se determinaron en el primer grupo en suero, y en el segundo y tercer grupo en suero y líquido quístico, y para su análisis estadístico se dieron los siguientes pasos:

IX.1.- Análisis Descriptivo

Todas las variables estudiadas se consideraron variables cuantitativas, excepto una (presencia de celularidad apocrina en el líquido quístico) que se consideró como variable cualitativa. Para las variables cuantitativas se realizó un análisis descriptivo de cada una de las variables objeto de estudio en cada grupo (MICROSTAT), calculándose los parámetros muestrales básicos: media, desviación típica y rango. Para la variable cuantitativa se realizó una tabla de 2x2 mostrándose el número de individuos observados que caen en cada casilla y su porcentaje (MICROSTAT).

IX.2.- Estudio de la Normalidad de las variables

Para comprobar si las variables seguían una distribución normal se utilizó el test de Shapiro-Wilk

(BMDP 2D), rechazándose la hipótesis nula de normalidad por debajo de un $p < 0,001$. Al considerar los 3 grupos de individuos a la vez, se comprobó que 19 variables no seguían una distribución normal. Estas variables se aproximaron a una distribución normal tras las siguientes transformaciones matemáticas: logarítmica en el caso de 16 de ellas (Estradiol, Progesterona, Testosterona, 17-OH-Progesterona, Cortisol, SDHA, FSH, LH, Prolactina, FT₃, CA 125, CA 15.3, Cloro, Glucosa, Amilasa y GGT) y de raíz cuadrada en 3 variables (FT₄, β -hCG y Calcio).

IX.3.- Análisis de la tabla 2x2

La investigación de la posible asociación de una característica quística determinada (presencia de celularidad apocrina) a un alto o bajo cociente K/Na intraquístico, se realizó mediante el cálculo de la cantidad experimental X^2_{exp} y el estudio de su significación, pretendiéndose comprobar si la proporción de quistes con celularidad apocrina es la misma en los dos tipos de quistes analizados (alto o bajo cociente K/Na).

IX.4.- Comparación de medias entre los diferentes grupos

IX.4.1.- Comparación de medias entre los distintos tipos de suero

Para analizar las diferencias de las medias de las variables cuantitativas en suero entre los tres grupos de mujeres estudiadas, se utilizaron técnicas de análisis multivariante, como es el análisis de la varianza múltiple de una vía, obteniéndose una T^2 de Hotelling no significativa, lo que nos indicaba que entre los vectores de medias de los diferentes grupos de sueros no existían diferencias estadísticamente significativas, no entrando a analizar estos datos de una manera univariante (BMDP 4V).

IX.4.2.- Comparación de medias entre suero y líquido quístico, y entre los dos tipos de líquido quístico.

El estudio de las diferencias en las medias entre los distintos tipos de líquido quístico (con alto o bajo cociente K/Na), y entre éstos y los diferentes tipos de suero (de mujeres con macroquistes con alto o bajo cociente K/Na intraquístico) se llevó a cabo también mediante técnicas de análisis multivariante, siendo en este caso un análisis de la varianza múltiple de dos vías con muestras apareadas la técnica empleada,

obteniéndose una T^2 de Hotelling significativa para $p < 0.0001$, lo que indicaba que entre los vectores de medias de los diferentes grupos existían diferencias estadísticamente significativas.

A continuación, a la vista de estos resultados procedimos a investigar que variables eran responsables de esas diferencias. Para ello realizamos un análisis de la varianza (BMDP 7D) de dos vías a cada variable, previo análisis de la interacción y de la homogeneidad de la varianzas (Test de Levene). Posteriormente se calculó la t de Tukey para comparar las medias de las variables entre: 1) suero y líquido quístico en el grupo de mujeres con relación K/Na baja intraquística; 2) suero y líquido quístico en el grupo de mujeres con relación K/Na alta intraquística; y 3) entre los dos tipos de líquidos quísticos. También se realizó el siguiente contraste a posteriori: el total de sueros de mujeres con mastopatía fibroquística con macroquiste versus el total de líquidos quísticos, para lo cual se calculó la t de Scheffe.

IX.5.- Correlaciones lineales simples

Se calcularon para comprobar si los niveles de una variable en suero se correlacionan con los niveles observados en líquido quístico, y para comprobar si dos variables diferentes en líquido quístico están relacionadas. Respecto a este último punto debemos

decir que, el cálculo de correlaciones y estudio de su significación, se hizo para cada uno de los parámetros estudiados en líquido quístico, con relación al conjunto de hormonas estudiadas en el líquido quístico (BMDP 6D). El estudio se realizó con el coeficiente de correlación lineal simple de Pearson, dándose la significación de cada uno de estos coeficientes con una precaución: al haber un número muy grande de correlaciones (más de 100 podían ser de interés), se realizó una penalización muy fuerte de la significación, dándose como significativas solo aquellas que lo fueran por debajo de un $p < 0,001$; lo que nos llevó a dar significativo a todo coeficiente que fuera superior a 0.415.

IX.6.- Regresión lineal múltiple paso a paso

Se realizó el estudio de regresión lineal múltiple paso a paso de cada uno de los parámetros del líquido quístico estudiados, frente a las distintas hormonas estudiadas en el, con objeto de determinar, en cada caso, el menor subconjunto de hormonas que determinasen mejor tal parámetro del líquido quístico. Cuando se determinó el subconjunto se obtenía, por así decirlo, las hormonas que mejor representaban a ese parámetro del líquido quístico.

En este método se enfrentan todas las variables

(variables candidatos), o sea, las diferentes hormonas estudiadas en el líquido quístico que tras el análisis univariante sospechamos que tienen alguna relación, al parámetro del líquido quístico (variable dependiente), pero de manera individualizada. Se escoge la variable (hormona) que tiene una mayor relación con él (Primera variable predictora), y elegida élla, se desquita el efecto (es decir el porcentaje de variabilidad que es capaz de explicar) de élla sobre el parámetro correspondiente. Hecho esto se vuelven a enfrentar las restantes variables (hormonas) con el parámetro, para ver si alguna sigue explicando una parte significativa de la variabilidad de dicho parámetro. Si esto es así, se elige aquella que explique un mayor porcentaje de variabilidad (Segunda variable predictora) y se desgaja esta variabilidad, volviéndose a repetir el proceso mientras haya una variable que explique algo de la restante variabilidad. La valoración del ajuste realizado se hace por medio del coeficiente de determinación (R^2), obtenido con la ecuación de regresión completa, que no es más que el porcentaje de variabilidad que son capaces de explicar las distintas variables introducidas en el modelo. Solo se consideraron significativas las variaciones de R^2 que fueran por debajo de un $p < 0,05$.

Este ajuste se basa en varios supuestos:

1.- Que el número de variables candidato sea menor

que el número de individuos incluidos en la muestra. Esta condición se cumplió siempre, pues el número de individuos (60) fue siempre muy superior al número de variables candidato.

2.- Que las variables candidatos y la dependiente sigan una distribución normal. No es condición obligatoria. Ver apartado IX.2.

3.- No existencia de multicolinealidad entre las variables candidatos. Para evitar esto sólo se admitieron como variables candidatos aquellas variables que tuvieran un coeficiente de determinación menor de 0,75 en función del resto de variables candidatos del modelo.

4.- Todos los residuales deben tener la misma varianza, si esto no se cumple tendremos heteroscedasticidad. Para detectarlo se analizaron gráficamente los residuos para ver si presentaban algún patrón de variación sistemático (BMDP 2R). En caso de presentarlo se utilizaron transformaciones matemáticas de la variable.

5.- Que los residuos sean aleatorios o no correlacionados. Si este supuesto se viola se crea el problema de autocorrelación. El método empleado para detectarlo fue el cálculo del estadístico "d" de Durbin-Watson (MICROSTAT).

RESULTADOS

I.- ABREVIATURAS DE LAS TABLAS.

- X^2 exp: Test de chi cuadrado.
- N.S.: No significativo.
- N: Número de casos.
- No macroq.: Grupo de enfermas sin macroquistes.
- Enf. macroq.: Total de enfermas con macroquistes.
- Quiste K/Na <3: Grupo de enfermas con macroquistes y relación K/Na <3 en el análisis del líquido quístico.
- Quiste K/Na >3: Grupo de enfermas con macroquistes y relación K/Na >3 en el análisis del líquido quístico.
- t_{exp} : Niveles en líquido quístico frente a niveles séricos
- t'_{exp} : Niveles en líquido quístico del grupo Quiste K/Na <3 frente a niveles en líquido quístico del grupo Quiste K/Na >3.
- *: $p < 0,005$.
- **: $p < 0,001$.
- ***: $p < 0,0001$.
- E_2 : Estradiol.
- PG: Progesterona.
- TST: Testosterona
- 17-OH: 17-OH-progesterona.
- Cort: Cortisol.
- SDHA: Sulfato de Dehidroepiandrosterona.
- PRL: Prolactina.
- Fosf. Alc.: Fosfatasa Alcalina.

II.- ABREVIATURAS DE LAS GRAFICAS.

- N.S.: No significativo.
- No macroq.: Grupo de enfermas sin macroquistes.
- Enf. macroq.: Total de enfermas con macroquistes.
- Quiste K/Na <3: Grupo de enfermas con macroquistes y relación K/Na <3 en el análisis del líquido quístico.
- Quiste K/Na >3: Grupo de enfermas con macroquistes y relación K/Na >3 en el análisis del líquido quístico.
- P: Niveles en líquido quístico frente a niveles séricos
- P': Niveles en líquido quístico del grupo Quiste K/Na <3 frente a niveles en líquido quístico del grupo Quiste K/Na >3.
- *: $p < 0,005$.
- **: $p < 0,001$.
- ***: $p < 0,0001$.
- Log.: Logaritmo.

PRESENCIA DE CELULARIDAD APOCRINA

Células apócrinas se encontraron en el estudio citológico de 18 de los 30 quistes mamarios con relación $K/Na > 3$ (60%), mientras que cuando el cociente era < 3 aparecieron en 12 casos de los 30 analizados (40%). Esta diferencia no mostró significación estadística (Tabla I; Gráfica 1).

TABLA I

PRESENCIA DE CELULARIDAD APOCRINA EN MACROQUISTES Y
RELACION CON EL TIPO DE QUISTE SEGUN EL COCIENTE K/NA.

	APOCR. NO	APOCR. SI
QUISTE K/Na <3	18 (60%)	12 (40%)
QUISTE K/Na >3	12 (40%)	18 (60%)

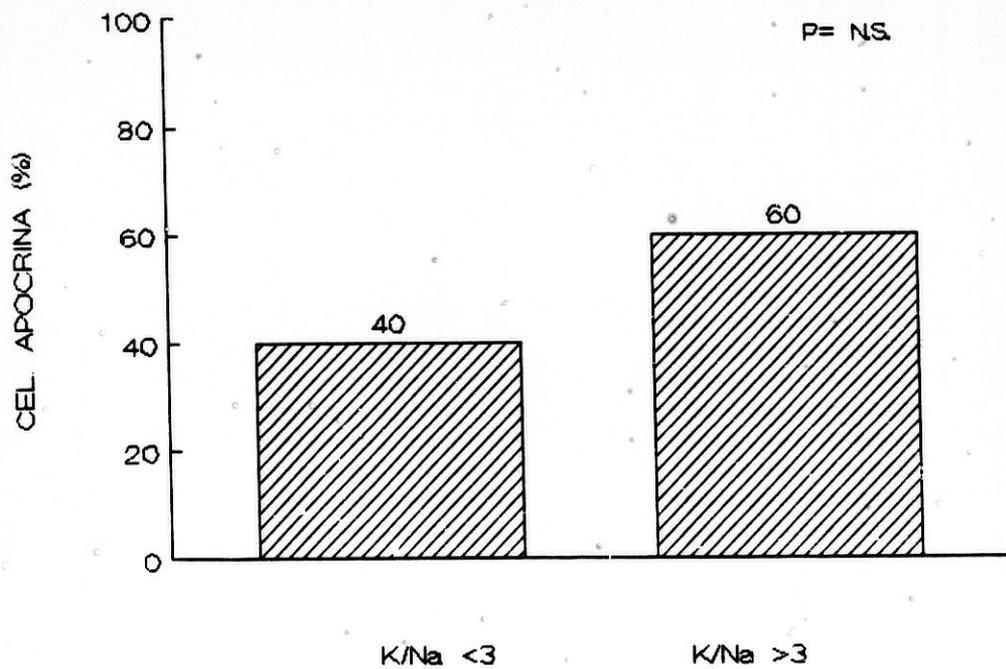
$X^2_{exp} = 2,40$

(p=0,121) N.S.

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 1

PRESENCIA DE CELULARIDAD APOCRINA EN MACROQUISTES Y
RELACION CON EL TIPO DE QUISTE SEGUN EL COCIENTE K/NA.



Ver abreviaturas de gráficas.

HORMONAS ESTEROIDEAS (ESTRADIOL, PROGESTERONA,
TESTOSTERONA, 17-OH-PROGESTERONA, CORTISOL, SDHA) EN
M.F.Q.

No se observan diferencias en los patrones hormonales séricos de los distintos grupos de M.F.Q. estudiados (Tabla II; Gráficas 2, 3, 4, 5, 6, 7).

En líquido quístico encontramos un aumento significativo ($p < 0,0001$) en las concentraciones de estradiol, progesterona, testosterona, 17-OH-progesterona y SDHA, y una disminución ($p < 0,0001$) del cortisol, frente a los niveles séricos (Tabla III; Gráficas 2, 3, 4, 5, 6, 7). Estas diferencias entre líquido y suero se mantienen en los dos grupos de quistes estudiados según el cociente K/Na (Tabla IV).

En los quistes con K/Na > 3 existe un incremento significativo ($p < 0,0001$) de estradiol, testosterona, 17-OH-progesterona y SDHA, al comparar con aquellos con cociente < 3 ; no encontrando diferencias intraquísticas en los niveles de cortisol y progesterona (Tabla IV; Gráficas 2, 3, 4, 5, 6, 7).

No hay ningún tipo de correlación entre los niveles séricos y quísticos de las hormonas estudiadas.

A nivel intraquístico existe correlación positiva entre las concentraciones de estradiol, testosterona, 17-OH-progesterona y SDHA (Tabla V).

El análisis de regresión múltiple paso a paso, relacionó los niveles de estradiol en líquido quístico con los de SDHA ($R^2=0,779$; $F_{exp}=204,9$; g.l.=1,58), no introduciendo ningún otro parametro hormonal más para explicar la variabilidad de los niveles intraquísticos de estradiol (Gráfica 8). Igualmente tras aplicar el mismo análisis estadístico, los niveles de 17-OH-progesterona solo se relacionaron con el estradiol ($R^2=0,479$; $F_{exp}=53,3$; g.l.=1,58) (Gráfica 9); y la testosterona y SDHA se relacionan exclusivamente entre si, de forma mutua ($R^2=0,862$; $F_{exp}=362,5$; g.l.=1,58) (Gráfica 10), no incluyendose en el modelo ninguna variable hormonal más que nos aportara información sobre la variabilidad de los niveles intraquísticos de dichas hormonas.

TABLA II
NIVELES HORMONALES SERICOS EN M.F.Q CON Y SIN MACROQUISTES MAMARIOS

	NO MACROQ.		ENF. MACROQ.		QUISTES K/Na<3		QUISTES K/Na>3	
	N=50	N=60	N=60	N=30	N=30	N=30	N=30	
ESTRADIOL (pg/ml)	121 ± 64,3 (33-296)	103,6 ± 66,5 (16,8-289)	101,2 ± 79,3 (16,8-289)	106 ± 51,9 (40-289)				
PROGESTER. (ng/ml)	5,9 ± 4,3 (0,3-16)	5,0 ± 3,5 (0,1-12,7)	5,4 ± 3,5 (0,1-12,7)	4,7 ± 3,5 (0,2-10,8)				
TESTOSTER. (ng/ml)	0,54 ± 0,3 (0,13-1,5)	0,48 ± 0,2 (0,16-1,0)	0,49 ± 0,2 (0,16-1,0)	0,48 ± 0,2 (0,2-1,0)				
17-OH-PG (ng/ml)	0,79 ± 0,3 (0,1-1,3)	0,68 ± 0,4 (0,1-2,0)	0,62 ± 0,4 (0,1-1,3)	0,71 ± 0,4 (0,1-2,0)				
CORTISOL (ng/ml)	108 ± 44,9 (54-189)	118 ± 42 (60-190)	112,3 ± 44,3 (60-178)	123,4 ± 39,6 (65-190)				
SDHA (ng/ml)	1.914 ± 1.126 (456-4.761)	1.617 ± 718 (458-3.713)	1.482 ± 700 (458-3.713)	1.752 ± 722 (600-3.500)				

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA III

COMPARACION DE LOS NIVELES HORMONALES EN SUERO Y
LIQUIDO QUISTICO DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA
MAMA.

	SUERO N=60	LIQ. QUISTICO N=60	t_{exp}
ESTRADIOL (pg/ml)	103,6 ± 66,5 (16,8-289)	1.820 ± 1.316 (193-4.229)	22,44***
PROGESTER. (ng/ml)	5,0 ± 3,5 (0,1-12,7)	47,6 ± 23,1 (12,8-98,8)	16,38***
TESTOSTER. (ng/ml)	0,48 ± 0,2 (0,16-1,0)	1,84 ± 1,14 (0,23-4,8)	17,11***
17-OH-PG. (ng/ml)	0,68 ± 0,4 (0,1-2,0)	33,7 ± 27,7 (2,8-95,1)	29,07***
CORTISOL (ng/ml)	118,0 ± 42,0 (60-190)	10,5 ± 4,7 (2,5-21,6)	26,52***
SDHA (ng/ml)	1.617 ± 718 (458-3.713)	47.925 ± 50.116 (301-191.100)	22,82***

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA IV

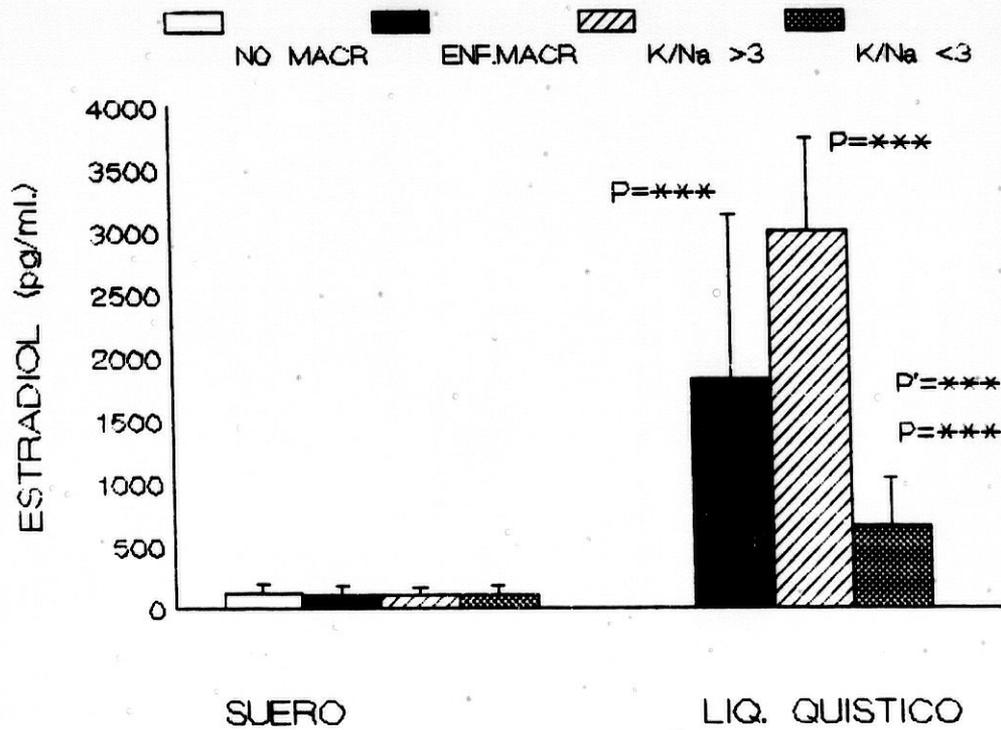
COMPARACION DE LOS NIVELES HORMONALES EN EL SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LOS DISTINTOS TIPOS DE QUISTE DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA MAMA DIFERENCIADOS SEGUN EL COCIENTE K/NA INTRAQUISTICO.

	QUISTES CON K/Na <3			QUISTES CON K/Na >3			
	SUERO N=30	LIQUIDO N=30	t _{exp}	SUERO N=30	LIQUIDO N=30	t _{exp}	t' _{exp}
ESTRAD. (pg/ml)	101 ±79 (16,8-289)	651 ±385 (193-1.492)	11,7***	106 ±51,9 (40-289)	2.989 ±742 (1.338-4.229)	20,0***	13,5***
PROGEST. (ng/ml)	5,4 ±3,5 (0,1-12,7)	42,5 ±20 (16,6-87)	10,8***	4,7 ±3,5 (0,2-10,8)	52,7 ±24,9 (12,8-98,8)	12,3***	1,4
TESTOST. (ng/ml)	0,5 ±0,2 (0,16-1)	0,92 ±0,4 (0,23-2)	5,9***	0,5 ±0,2 (0,2-1)	2,76 ±0,8 (1,5-4,8)	18,3***	10,6***
17-OH-PG (ng/ml)	0,6 ±0,4 (0,1-1,3)	15,8 ±13 (2,8-53,2)	17,3***	0,7 ±0,4 (0,1-2)	51,6 ±26,8 (11,5-95,1)	23,8***	7,1***
CORTIS. (ng/ml)	112 ±44 (60-178)	10,3 ±5,1 (4,4-21,6)	18,5***	123 ±39,6 (65-190)	10,8 ±4,4 (2,5-19,6)	18,9***	0,5
SDHA (ng/ml)	1.482 ±700 (458-3.713)	10.899 ±9.044 (301-30.052)	9,6***	1.752 ±722 (600-3.500)	84.949 ±46.817 (22.586-191.100)	22,6***	9,8***

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 2

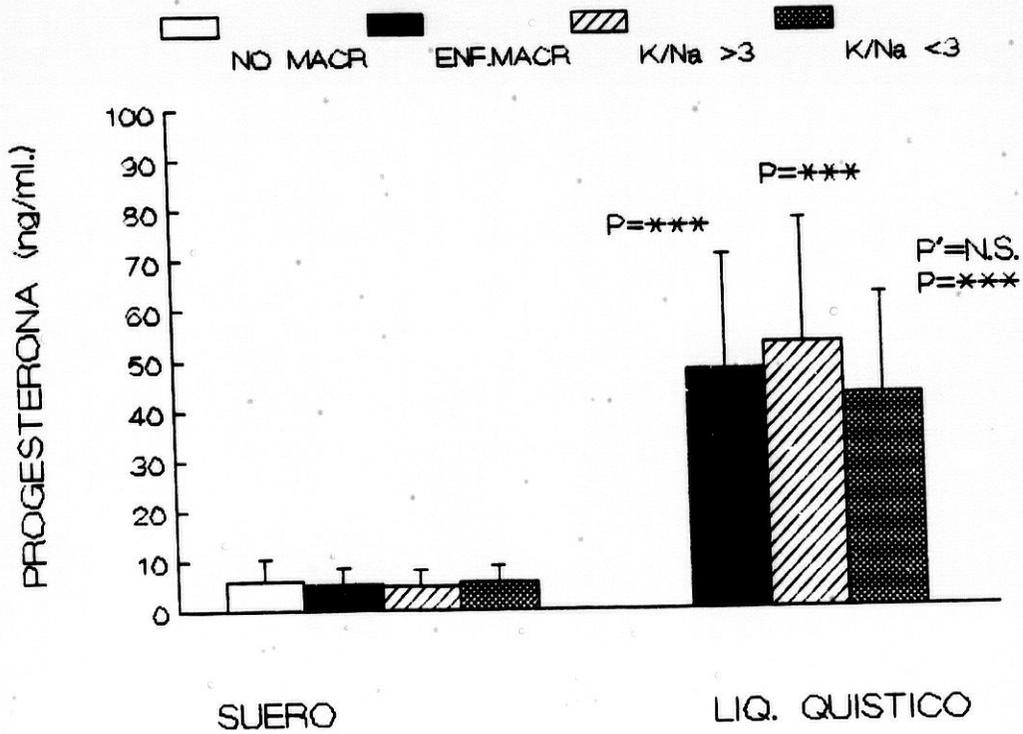
NIVELES DE ESTRADIOL EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE
M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 3

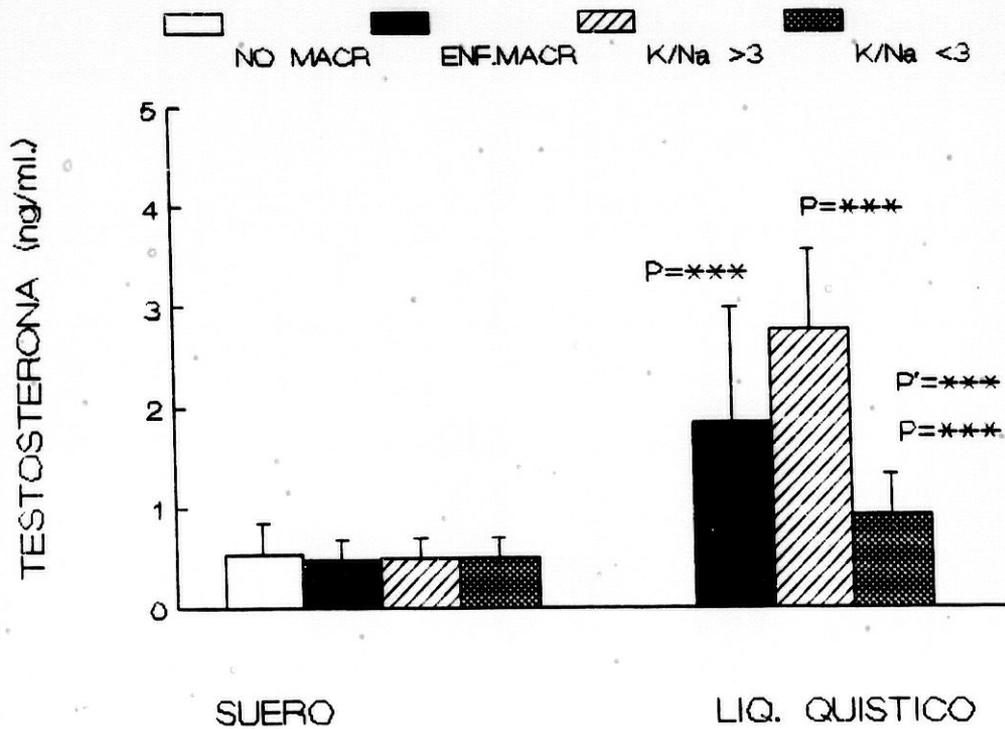
NIVELES DE PROGESTERONA EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 4

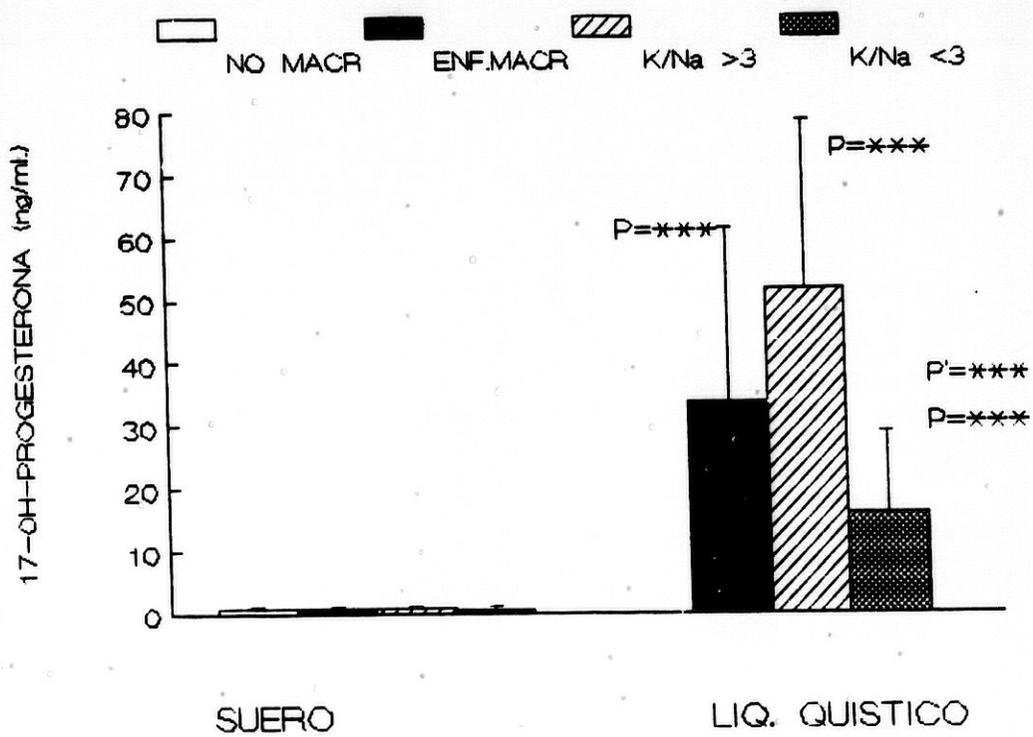
NIVELES DE TESTOSTERONA EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 5

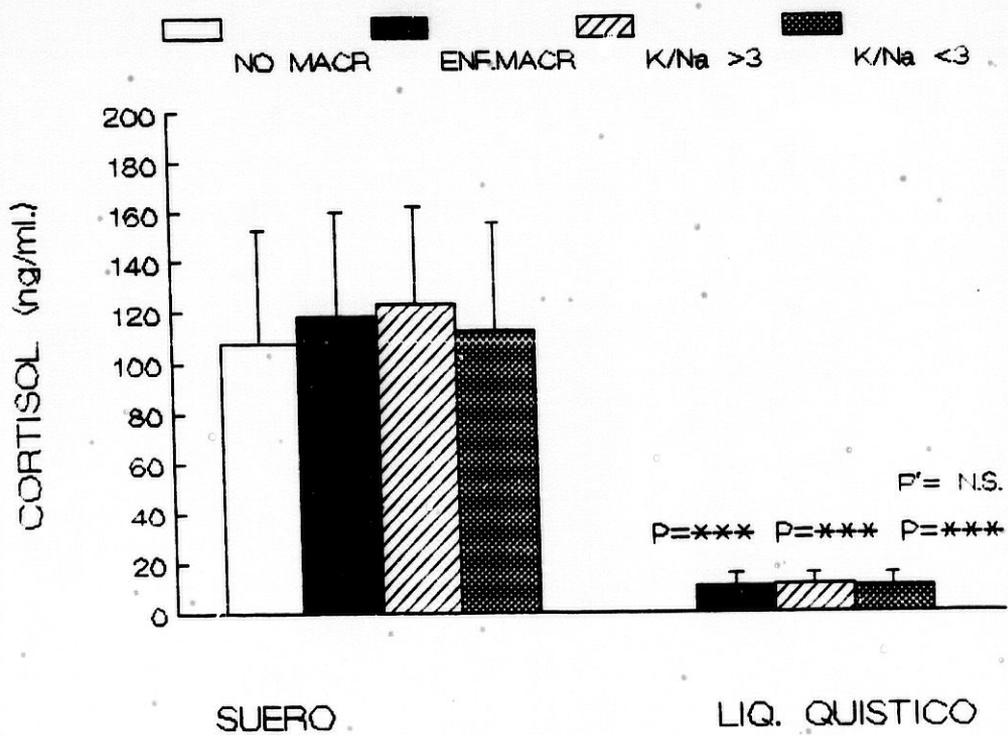
NIVELES DE 17-OH-PROGESTERONA EN SUERO Y LIQUIDO
QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 6

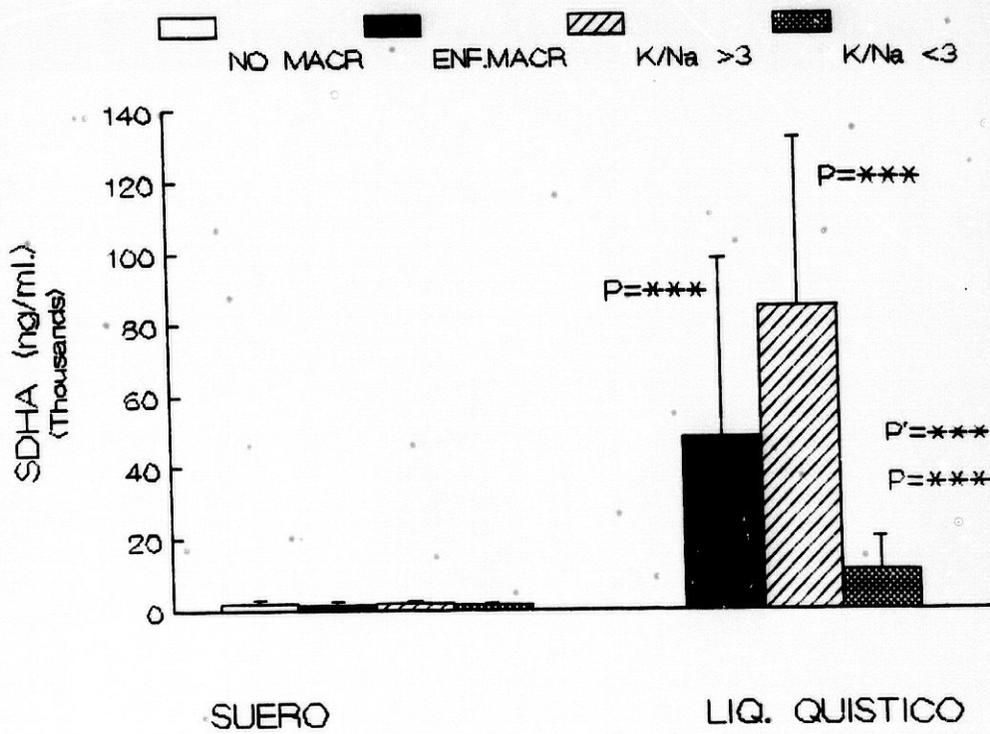
NIVELES DE CORTISOL EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 7

NIVELES DE SDHA EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE
M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

TABLA V

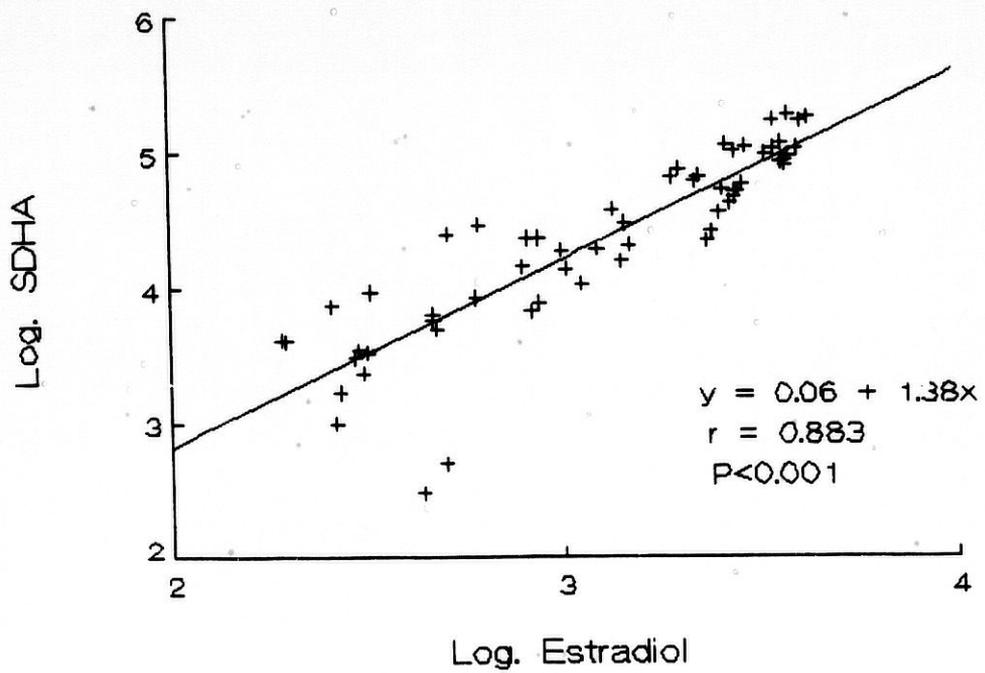
MATRIZ DE COEFICIENTES SIGNIFICATIVOS DE CORRELACION LINEAL SIMPLE DE PEARSON ENTRE LAS DISTINTAS HORMONAS ESTUDIADAS EN LIQUIDO QUISTICO.

	E ₂	PG	TST	17-OH	CORT	SDHA	FSH	LH	PRL	TSH	FT ₃	FT ₄	T ₄
E ₂	1	-	0.889	0.692	-	0.883	-	-	-	-	0.798	-	-
PG		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TST			1	0.630	-	0.929	-	-	-	-	0.779	-	-
17-OH				1	-	0.607	-	-	-	-	0.647	-	-
CORT					1	-	-	-	-	-	-	-	-
SDHA						1	-	-	-	-	0.792	-	-
FSH							1	-	-	-	-	-	-
LH								1	-	-	-	-	-
PRL									1	-	-	-	-
TSH										1	-	-	-
FT ₃											1	-	-
FT ₄												1	0.633
T ₄													1

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 8

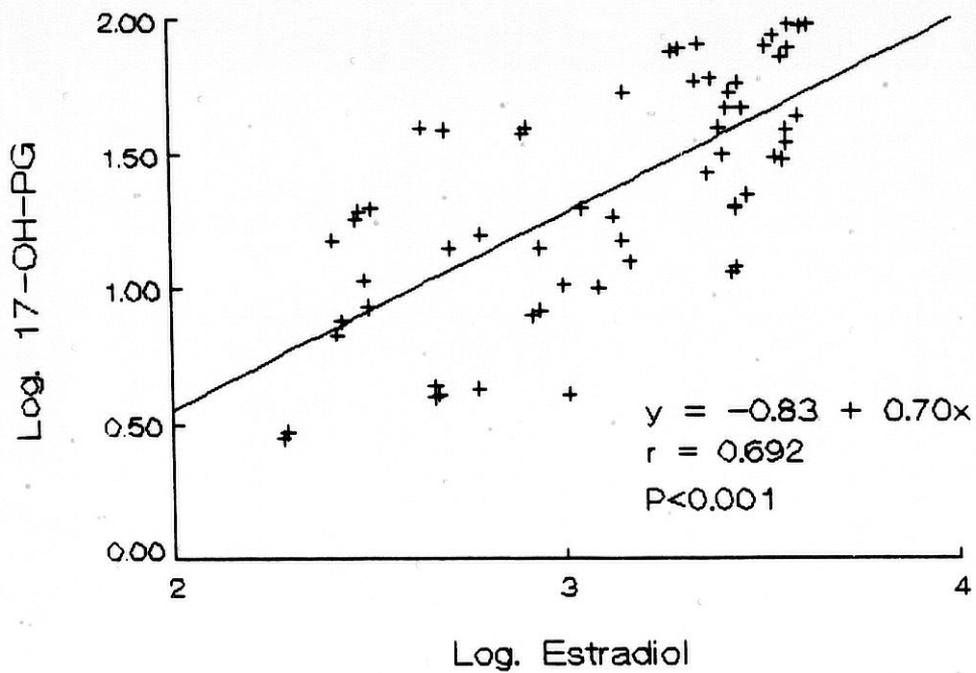
CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE ESTRADIOL Y SDHA.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 9

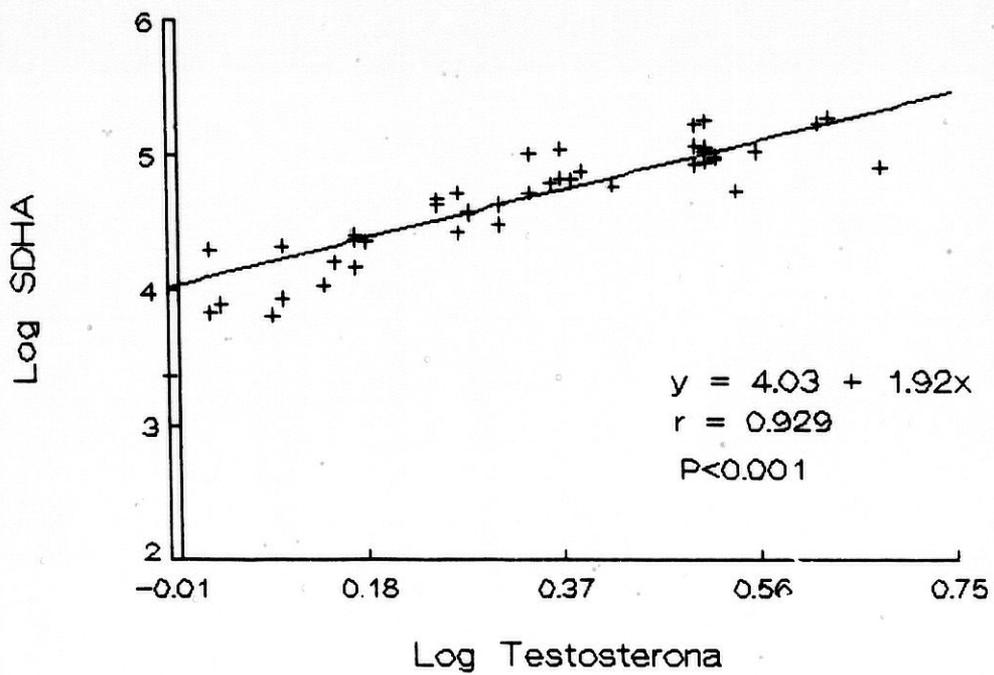
CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE ESTRADIOL Y 17-OH-PROGESTERONA.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 10

CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE TESTOSTERONA Y SDHA.



Ver abreviaturas de gráficas.

HORMONAS HIPOFISARIAS (FSH, LH, PROLACTINA) EN M.F.Q.

FSH, LH y Prolactina mantienen concentraciones séricas similares en todos los grupos estudiados, no apreciándose diferencias entre los valores de pacientes con o sin macroquistes de mama (Tabla VI ; Gráficas 11, 12, 13).

Al estudiar el líquido quístico, encontramos unos niveles significativamente disminuidos con respecto a los valores séricos hallados ($p < 0,0001$) en las tres hormonas analizadas (Tabla VII; Gráficas 11, 12, 13). Estas diferencias entre suero y líquido se mantienen al dividir los quistes según el cociente K/Na (Tabla VIII).

Los niveles intraquísticos de las hormonas hipofisarias estudiadas no se afectan por el patrón electrolítico del líquido quístico, no existiendo diferencias según el tipo de quiste (Tabla VIII, Gráficas 11, 12, 13).

Existe correlación positiva entre las concentraciones séricas y quísticas de FSH ($r=0.740$), LH

($r=0.718$) y prolactina ($r=0.471$) (Tabla IX).

A nivel intraquístico no existe ninguna correlación entre estas hormonas y el resto de parámetros hormonales estudiados (Tabla V).

TABLA VI

NIVELES SERICOS DE FSH, LH Y PROLACTINA EN M.F.Q. CON Y SIN QUISTES MAMARIOS.

	NO MACROQ.	ENF. MACROQ.	QUISTES K/Na<3	QUISTES K/Na>3
	N=50	N=60	N=30	N=30
FSH (mIU/ml)	10,6 ± 6,6 (2,0-28,9)	11,4 ± 6,7 (3,3-27,9)	11,4 ± 6,5 (3,3-24,3)	11,3 ± 6,9 (3,8-27,9)
LH (mIU/ml)	12,3 ± 5,4 (4,8-26,3)	10,9 ± 6,2 (2,0-35,6)	12,3 ± 7,3 (2,0-35,6)	9,5 ± 4,7 (2,4-20,0)
PRL (uIU/ml)	262,4 ± 120,8 (120,4-595,2)	234,3 ± 117,4 (15,6-523,0)	222,3 ± 129,0 (15,6-523,0)	246,3 ± 105,5 (114,4-500,0)

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA VII

COMPARACION DE LOS NIVELES DE FSH, LH Y PROLACTINA EN
SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA
DE LA MAMA.

	SUERO N=60	LIQ. QUISTICO N=60	t_{exp}
FSH (mIU/ml)	11,4 ± 6,7 (3,3-27,9)	2,8 ± 2,1 (0,1-8,6)	20,5***
LH (mIU/ml)	10,9 ± 6,2 (2,0-35,6)	1,8 ± 1,5 (0,1-4,6)	18,0***
PRL (uIU/ml)	234,3 ± 117,4 (15,6-523,0)	31,6 ± 12,3 (19,0-76,7)	27,5***

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA VIII

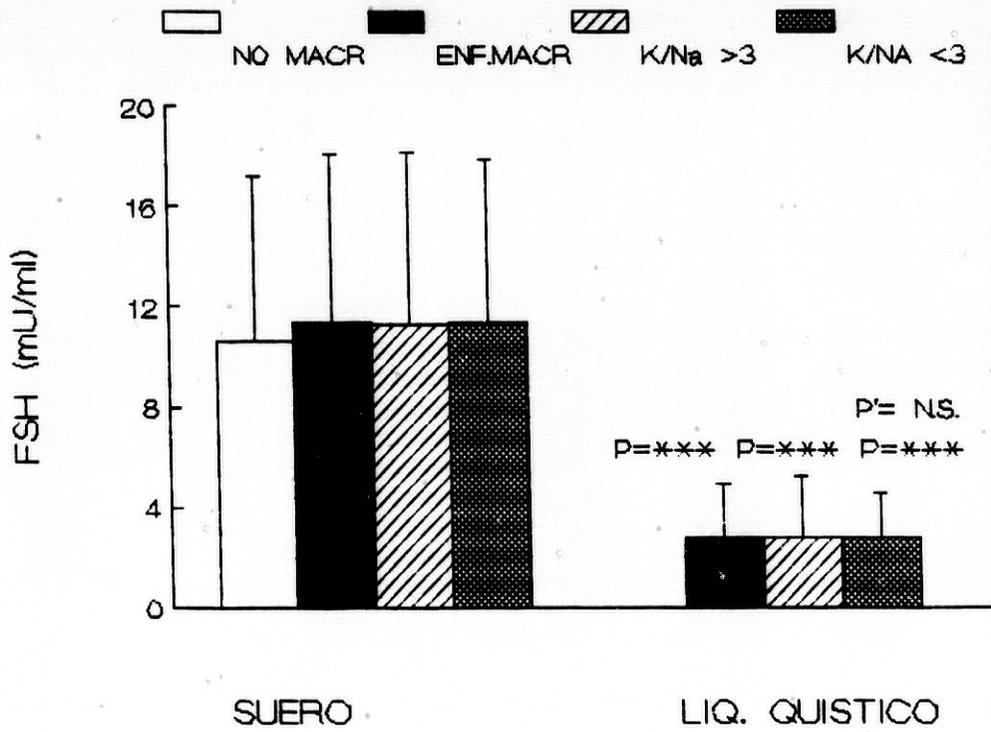
COMPARACION DE LOS NIVELES DE FSH, LH Y PROLACTINA EN EL SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LOS DE LOS DISTINTOS TIPOS DE QUISTE DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA MAMA DIFERENCIADOS SEGUN EL COCIENTE K/NA INTRAQUISTICO.

	QUISTES CON K/Na <3			QUISTES CON K/Na >3		
	SUERO N=30	LIQUIDO N=30	t ^{exp}	SUERO N=30	LIQUIDO N=30	t ^{exp}
FSH (mIU/ml)	11,4 ± 6,5 (3,3-24,3)	2,8 ± 1,8 (0,1-6,1)	14,2***	11,3 ± 6,9 (3,8-27,9)	2,8 ± 2,4 (0,4-8,6)	14,8***
LH (mIU/ml)	12,3 ± 7,3 (2,0-35,6)	2,1 ± 1,6 (0,1-4,5)	12,1***	9,5 ± 4,7 (2,4-20,0)	1,5 ± 1,4 (0,1-4,6)	13,3***
PRL (uIU/ml)	222 ± 129 (15,6-523)	30,5 ± 13,8 (19,0-76,7)	18,8***	246 ± 105 (114,4-500)	32,6 ± 10,7 (20,0-67,0)	20,1***

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 11

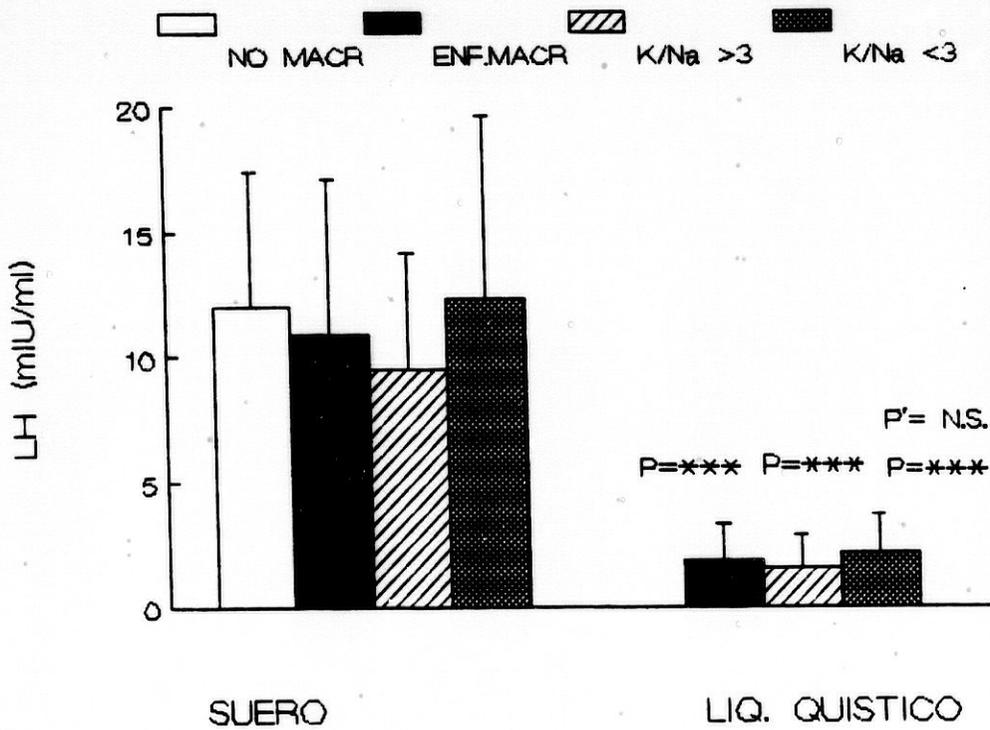
NIVELES DE FSH EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 12

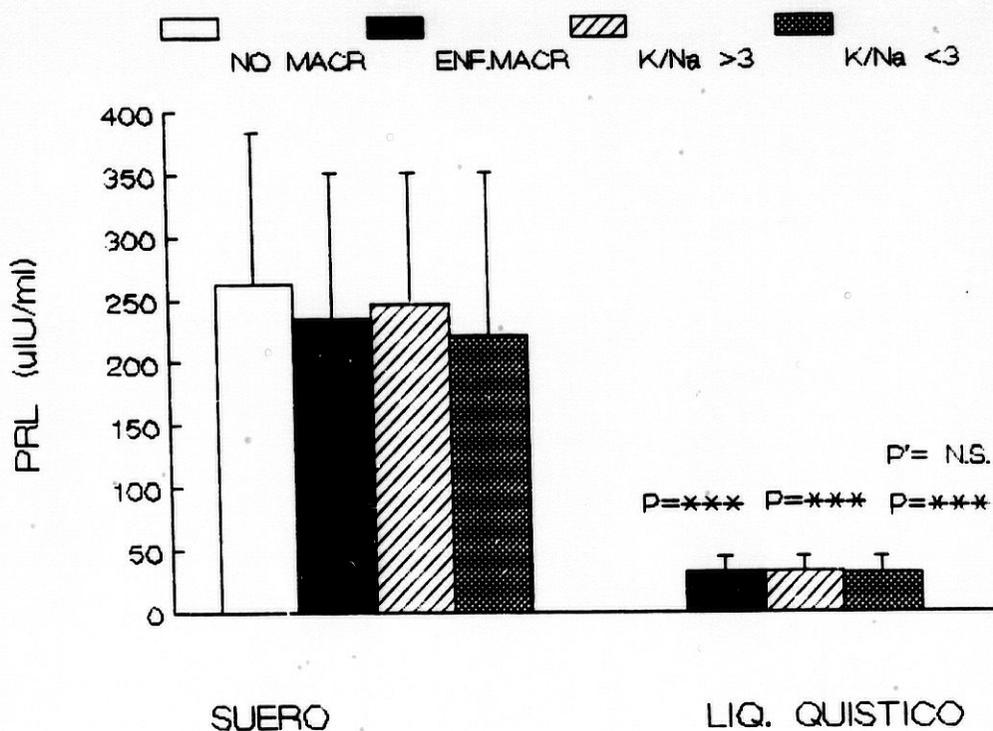
NIVELES DE LH EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 13

NIVELES DE PRL EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

TABLA IX

MATRIZ DE COEFICIENTES SIGNIFICATIVOS DE CORRELACION LINEAL SIMPLE DE PEARSON ENTRE LOS VALORES SERICOS Y QUISTICOS DE FSH, LH Y PRL.

	FSH	LH	PRL
FSH	0.740		
LH		0.718	
PRL			0.471

Ver abreviaturas de tablas.

HORMONAS TIROIDEAS EN M.F.Q.

No existen cambios en el estado tiroideo sérico entre los distintos grupos de M.F.Q. analizados (Tabla X, Gráficas 14, 15, 16, 17).

En líquido quístico encontramos un incremento significativo de FT, ($p < 0,0001$) y una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) de TSH, FT, y T, con respecto a los niveles séricos (Tabla XI; Gráficas 14, 15, 16, 17).

Estas diferencias entre líquido quístico y suero se mantienen independientemente del cociente K/Na intraquístico (Tabla XII).

En el análisis del líquido quístico encontramos que existe una diferencia significativa ($p < 0,0001$) en las concentraciones de FT, entre los quistes con cociente K/Na mayor o menor de tres, siendo los niveles más elevados cuando la relación K/Na > 3 (Tabla XII; Gráfica 15). No existen diferencias intraquísticas en el resto de las hormonas tiroideas estudiadas (Tabla XII; Gráficas 14, 16, 17).

Entre los niveles séricos y quísticos solo existe correlación significativa ($p < 0,001$) para la TSH ($r = 0.759$).

Al realizar el análisis de correlación lineal simple con los niveles de las diferentes hormonas estudiadas en líquido quístico, encontramos que la FT, mantiene correlación positiva con estradiol, testosterona, 17-OH-progesterona y SDHA (Tabla V). En el resto de las hormonas tiroideas solo existe correlación intraquística entre las concentraciones de T, y FT, (Tabla V).

El análisis de regresión múltiple paso a paso solo relacionó los niveles de FT, con los de estradiol ($R^2 = 0,798$; $F_{exp} = 102,2$; g.l. = 1,58), no encontrando ninguna hormona más que nos explique parcialmente la variabilidad de los niveles intraquísticos de FT, (Gráfica 18).

TABLA X

NIVELES SERICOS DE HORMONAS TIROIDEAS EN M.F.Q. CON Y
SIN MACROQUISTES MAMARIOS.

	<u>NO MACROO. ENF. MACROO.</u>		<u>OUIS.K/NA<3 OUIS.K/NA>3</u>	
	N=50	N=60	N=30	N=30
TSH (μ IU/ml)	1,8 \pm 0,9 (0,6-4,3)	1,8 \pm 0,9 (0,3-3,6)	1,9 \pm 0,7 (0,7-3,0)	1,8 \pm 1,0 (0,3-3,6)
FT ₃ (pg/ml)	3,4 \pm 0,9 (2,1-6,6)	3,2 \pm 0,7 (1,0-4,9)	3,3 \pm 0,6 (2,4-4,9)	3,0 \pm 0,9 (1,0-4,4)
FT ₄ (ng/dl)	1,5 \pm 0,3 (0,9-2,0)	1,5 \pm 0,2 (1,0-1,9)	1,6 \pm 0,2 (1,1-1,9)	1,5 \pm 0,2 (1,0-1,9)
T ₄ (mcg/dl)	9,1 \pm 1,3 (5,6-11,7)	8,9 \pm 1,3 (6,0-11,0)	8,9 \pm 1,4 (6,0-11,0)	9,0 \pm 1,1 (6,4-10,6)

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XI

COMPARACION DE LOS NIVELES DE HORMONAS TIROIDEAS
EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LA ENFERMEDAD
MACROQUISTICA DE LA MAMA

	SUERO N=60	LIQ. QUISTICO N=60	t_{exp}
TSH (μ IU/ml)	$1,8 \pm 0,9$ (0,3-3,6)	$0,2 \pm 0,2$ (0,0-0,7)	17,2***
FT ₃ (pg/ml)	$3,2 \pm 0,7$ (1,0-4,9)	$27,7 \pm 23,5$ (2,0-78,0)	18,1***
FT ₄ (ng/dl)	$1,5 \pm 0,2$ (1,0-1,9)	$0,4 \pm 0,3$ (0,1-1,5)	18,1***
T ₄ (mcg/dl)	$8,9 \pm 1,3$ (6,0-11,0)	$4,1 \pm 0,6$ (2,6-5,9)	25,1***

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XII

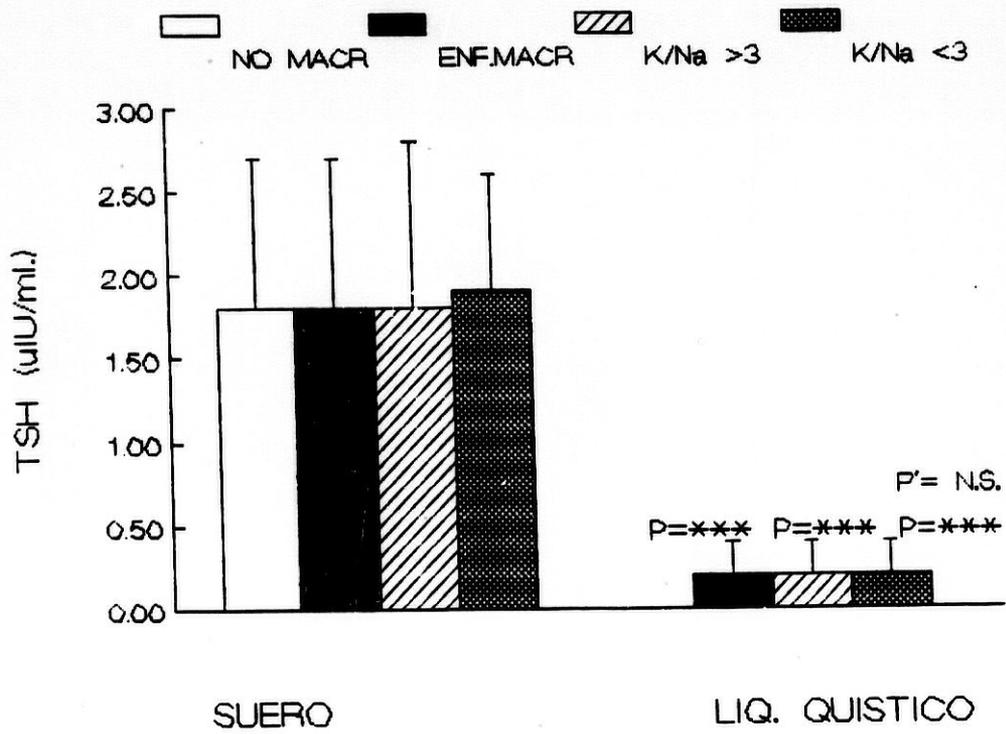
COMPARACION DE LOS NIVELES DE HORMONAS TIROIDEAS EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LOS DISTINTOS TIPOS DE QUISTES DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA MAMA DIFERENCIADOS SEGUN EL COCIENTE K/NA.

	QUISTES CON K/Na <3			QUISTES CON K/Na >3		
	SUERO N=30	LIQUIDO N=30	t ^{exp}	SUERO N=30	LIQUIDO N=30	t ^{exp}
TSH (μ IU/ml)	1,9 \pm 0,7 (0,7-3,0)	0,2 \pm 0,2 (0,01-0,6)	12,5***	1,8 \pm 1,0 (0,3-3,6)	0,2 \pm 0,2 (0,01-0,7)	11,8***
FT ₃ (pg/ml)	3,3 \pm 0,6 (2,4-4,9)	10,3 \pm 9,5 (2,0-34,5)	5,9***	3,0 \pm 0,9 (1,0-4,4)	45,2 \pm 20,1 (12,5-78)	19,7***
FT ₄ (ng/dl)	1,6 \pm 0,2 (1,1-1,9)	0,4 \pm 0,3 (0,1-1,1)	12,9***	1,5 \pm 0,2 (1,0-1,9)	0,4 \pm 0,3 (0,1-1,5)	12,6***
T ₄ (mcg/dl)	8,9 \pm 1,4 (6,0-11,0)	4,1 \pm 0,7 (2,8-5,9)	17,6***	9,0 \pm 1,1 (6,4-10,6)	4,0 \pm 0,5 (2,6-5,5)	17,9***

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 14

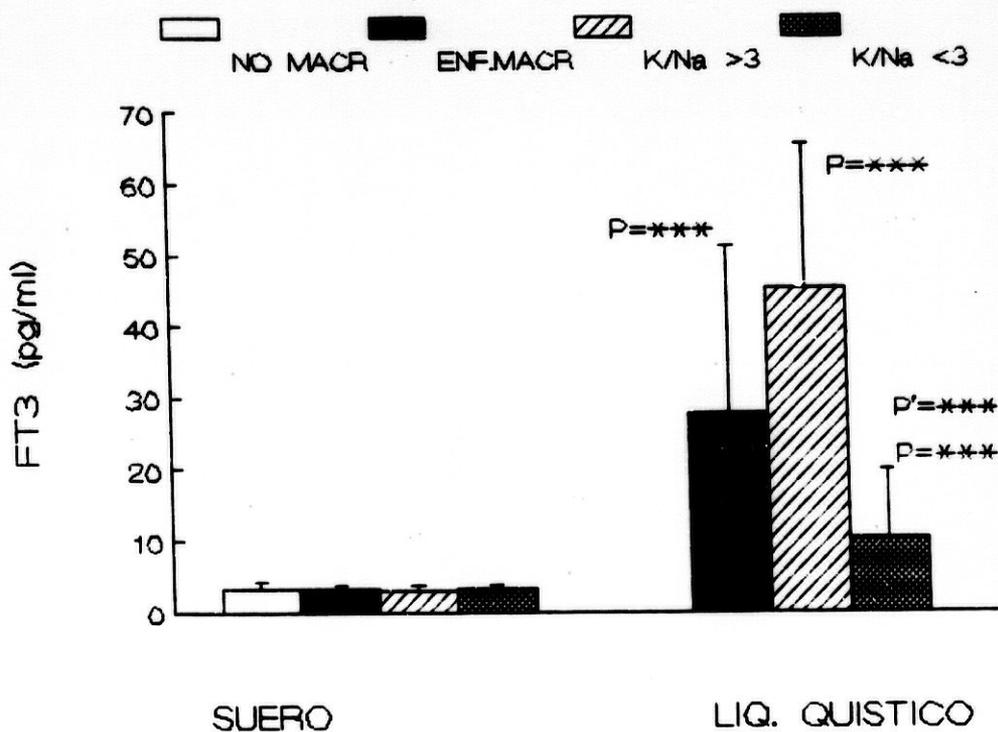
NIVELES DE TSH EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 15

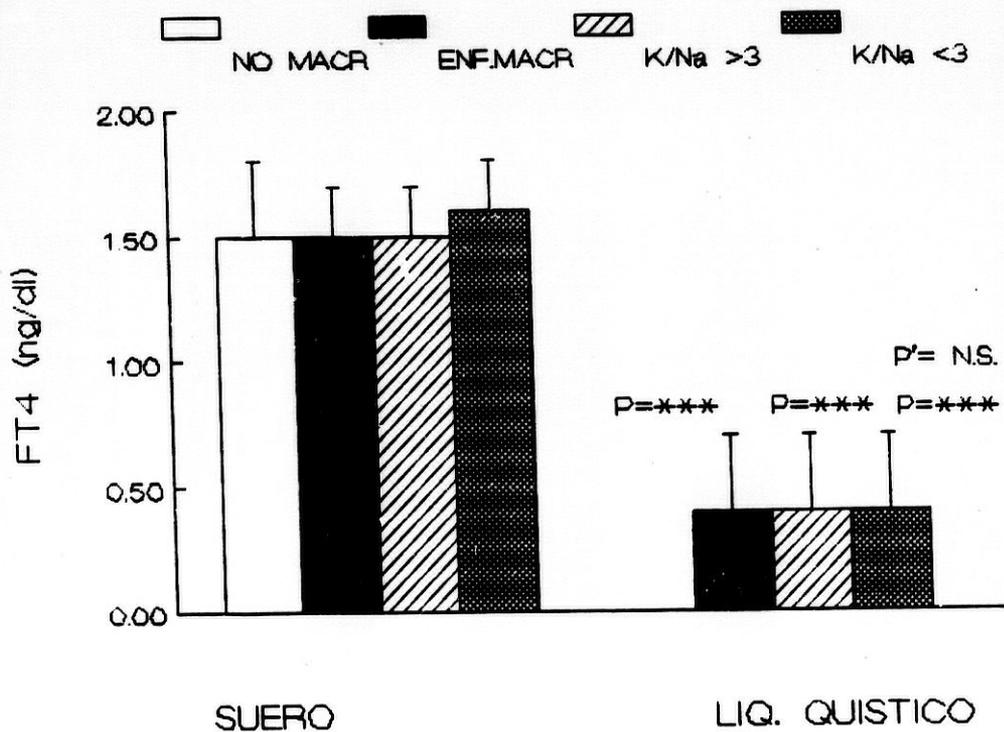
NIVELES DE FT, EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 16

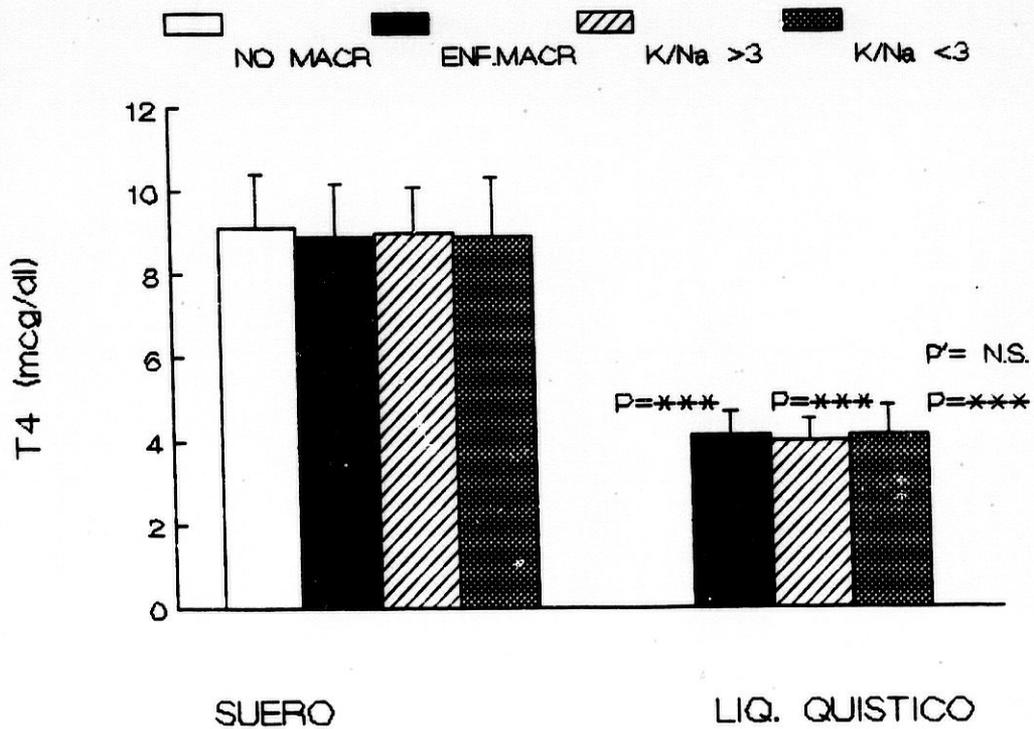
NIVELES DE FT₄ EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 17

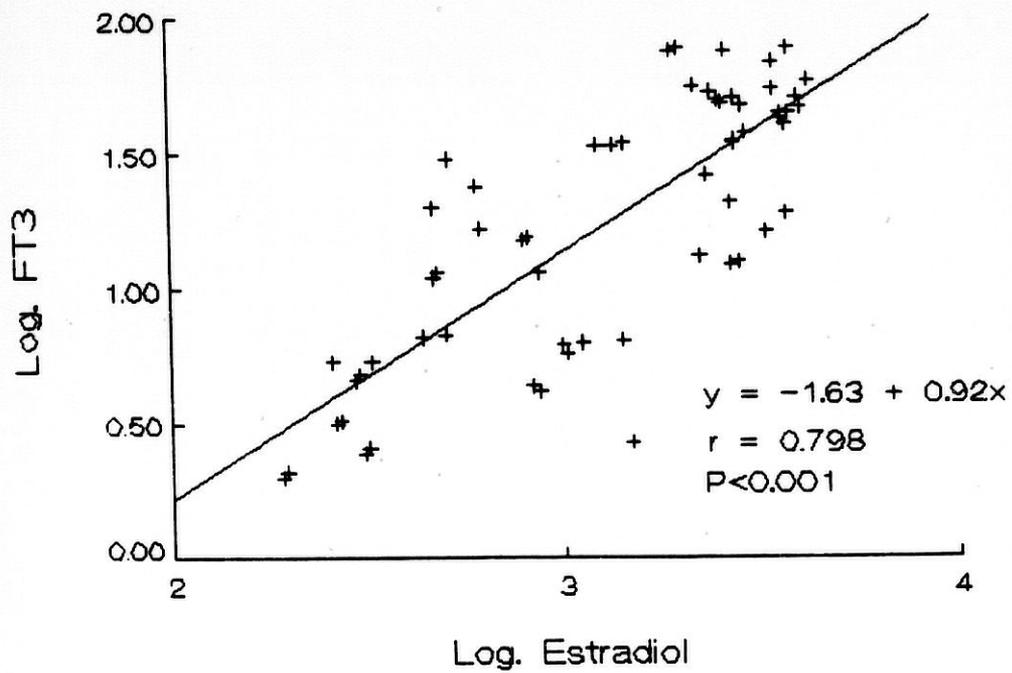
NIVELES DE T₄ EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 18

CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE FT, Y ESTRADIOL.



Ver abreviaturas de gráficas.

MARCADORES TUMORALES EN M.F.Q.

No existen diferencias en las concentraciones séricas de los diferentes marcadores tumorales analizados, entre las pacientes afectas de M.F.Q., independientemente del grupo de estudio al que pertenezcan (Tabla XIII; Gráficas 19, 20, 21, 22, 23).

En la enfermedad macroquística, encontramos en líquido quístico la existencia de un aumento significativo de CA 125 ($p < 0,0001$), β -HCG ($p < 0,0001$) y CEA ($p < 0,001$) con respecto al suero, y una disminución de α -fetoproteína a valores prácticamente indetectables. No apreciamos diferencias en el CA 15.3 (Tabla XIV, Gráficas 19, 20, 21, 22, 23).

Cuando dividimos los líquidos quísticos según el cociente K/Na observamos que cuando esta relación es menor de 3 hay un aumento estadísticamente significativo en líquido quístico con respecto a su suero de CA 125 ($p < 0,0001$), β -HCG ($p < 0,0001$) y CEA ($p < 0,005$), mientras que si el cociente K/Na es mayor de 3 solo existe aumento significativo de β -HCG ($p < 0,0001$). Los niveles de α -fetoproteína se mantienen indetectables en ambos tipos de líquidos, mientras que en las concentra-

ciones de CA 15.3 no se aprecian diferencias con los niveles séricos (Tabla XV, Gráficas 19, 20, 21, 22, 23).

Al comparar los líquidos entre si solo obtenemos diferencias en los niveles de CA 125 que se encuentran significativamente elevados ($p < 0,0001$) en los quistes con relación K/Na < 3 (Tabla XV, Gráfica 19).

No existe correlación entre los niveles de marcadores tumorales estudiados a nivel quístico y las concentraciones séricas de los mismos.

Al realizar el análisis de correlación lineal simple observamos que el CA 125 mantiene correlación intraquística negativa con el estradiol, testosterona, 17-OH-progesterona, SDHA y FT, (Tabla XVI).

Tras el análisis de regresión múltiple paso a paso, encontramos que la variabilidad en los niveles de CA 125 es explicada en primer lugar por la concentración de estradiol ($R^2=0,438$; $F_{exp}=45,2$; g.l.=1,58) (Gráfica 24), y en segundo lugar por la 17-OH-progesterona ($R^2=0,476$; $F_{exp}=4,1$; g.l.=2,57) (Gráfica 25).

TABLA XIII

NIVELES SERICOS DE MARCADORES TUMORALES EN LA M.F.Q. CON O SIN MACROQUISTES.

	NO MACROQ.		ENF. MACROQ.		QUISTES K/NA<3		QUISTES K/NA>3	
	N=50		N=60		N=30		N=30	
CA 125 (U/ml)	19,6 ± 10,7 (5,8-53)		19,5 ± 8,5 (5,9-43,7)		19,6 ± 10,1 (5,9-43,7)		19,4 ± 6,6 (11,0-28,0)	
CA 15.3 (U/ml)	17,4 ± 4,9 (12,5-41,0)		19,1 ± 5,5 (12,0-35,5)		20,4 ± 6,4 (12,3-35,5)		17,7 ± 4,1 (12,0-29,0)	
CEA (ng/ml)	4,1 ± 0,5 (3,6-6,4)		3,8 ± 0,4 (3,1-4,7)		3,8 ± 0,4 (3,1-4,7)		3,8 ± 0,3 (3,1-4,3)	
β-HCG (UI/l)	2,8 ± 1,5 (0,1-4,8)		2,9 ± 1,2 (0,5-5,0)		2,7 ± 1,4 (0,5-5,0)		3,2 ± 1,0 (0,7-4,9)	
α-FETOPR. (ng/ml)	2,8 ± 1,7 (0,4-4,8)		3,0 ± 1,2 (0,4-5,4)		2,7 ± 0,8 (0,4-5,0)		3,3 ± 1,3 (0,5-5,4)	

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XIV

COMPARACION DE LOS NIVELES DE MARCADORES TUMORALES EN
SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA
DE LA MAMA.

	SUERO N=60	LIQ. QUISTICO N=60	t_{exp}
CA 125 (U/ml)	19,5 ± 8,5 (5,9-43,7)	459,8 ± 836 (5,7-3.123)	11,3***
CA 15.3 (U/ml)	19,1 ± 5,5 (12,0-35,5)	20,2 ± 7,0 (11,6-39,9)	0,8
CEA (ng/ml)	3,8 ± 0,4 (3,1-4,7)	4,8 ± 1,8 (2,7-12,0)	3,9**
β-HCG (UI/l)	2,9 ± 1,2 (0,5-5,0)	10,5 ± 6,3 (0,4-25,0)	9,6***
α-FETOPR. (ng/ml)	3,0 ± 1,2 (0,4-5,4)	0,1 ± 0,1 (0,0-0,7)	18,1***

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XV

COMPARACION DE LOS NIVELES DE MARCADORES TUMORALES EN EL SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LOS DISTINTOS TIPOS DE QUISTE DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA MAMA DIFERENCIADOS SEGUN EL COCIENTE K/NA INTRAQUISTICO.

	QUISTES CON K/Na <3		QUISTES CON K/Na >3		t _{exp}	t' _{exp}
	SUERO	LIQUIDO	SUERO	LIQUIDO		
	N=30	N=30	N=30	N=30		
CA 125 (U/ml)	19,6 ± 10,1 (5,9-43,7)	866 ± 1037 (69-3.123)	19,4 ± 6,6 (11,0-28,0)	53,4 ± 67,6 (5,7-285)	2,1	8,9***
CA 15.3 (U/ml)	20,4 ± 6,4 (12,3-35,5)	21,3 ± 6,0 (11,6-38,6)	17,7 ± 4,1 (12,0-29,0)	18,9 ± 7,8 (13,2-39,9)	0,4	1,8
CEA (ng/ml)	3,8 ± 0,4 (3,1-4,7)	5,0 ± 1,8 (2,7-10,8)	3,8 ± 0,3 (3,1-4,3)	4,6 ± 1,9 (3,7-12,0)	2,3	0,7
β-HCG (UI/l)	2,7 ± 1,4 (0,5-5,0)	10,3 ± 6,9 (0,4-25,0)	3,2 ± 1,0 (0,7-4,9)	10,7 ± 5,7 (1,6-23,8)	6,8***	0,6
α-FETOPR. (ng/ml)	2,7 ± 0,8 (0,4-5,0)	0,1 ± 0,1 (0,0-0,7)	3,3 ± 1,3 (0,5-5,4)	0,1 ± 0,1 (0,0-0,4)	18,2***	0,1

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XV

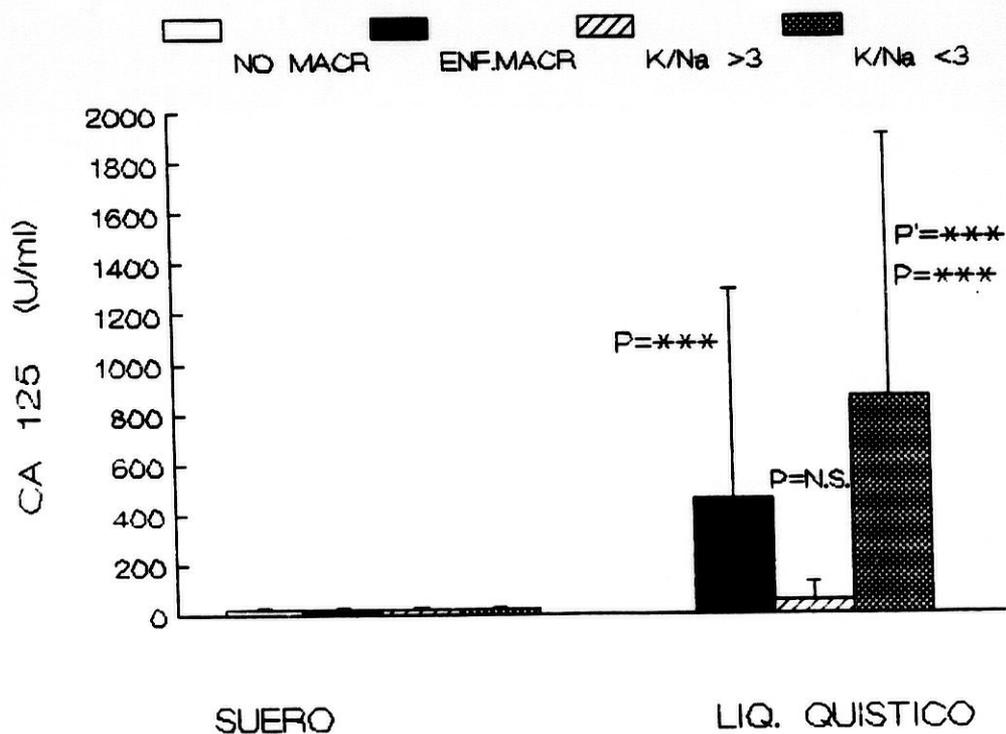
COMPARACION DE LOS NIVELES DE MARCADORES TUMORALES EN EL SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LOS DISTINTOS TIPOS DE QUISTE DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA MAMA DIFERENCIADOS SEGUN EL COCIENTE K/NA INTRAQUISTICO.

	QUISTES CON K/Na <3			QUISTES CON K/Na >3		
	SUERO	LIQUIDO	t ^{exp}	SUERO	LIQUIDO	t ^{exp}
	N=30	N=30		N=30	N=30	
CA 125 (U/ml)	19,6 ± 10,1 (5,9-43,7)	866 ± 1037 (69-3.123)	13,9***	19,4 ± 6,6 (11,0-28,0)	53,4 ± 67,6 (5,7-285)	2,1 8,9***
CA 15.3 (U/ml)	20,4 ± 6,4 (12,3-35,5)	21,3 ± 6,0 (11,6-38,6)	0,7	17,7 ± 4,1 (12,0-29,0)	18,9 ± 7,8 (13,2-39,9)	0,4 1,8
CEA (ng/ml)	3,8 ± 0,4 (3,1-4,7)	5,0 ± 1,8 (2,7-10,8)	3,3*	3,8 ± 0,3 (3,1-4,3)	4,6 ± 1,9 (3,7-12,0)	2,3 0,7
β-HCG (UI/l)	2,7 ± 1,4 (0,5-5,0)	10,3 ± 6,9 (0,4-25,0)	6,8***	3,2 ± 1,0 (0,7-4,9)	10,7 ± 5,7 (1,6-23,8)	6,8*** 0,6
α-FETOPR. (ng/ml)	2,7 ± 0,8 (0,4-5,0)	0,1 ± 0,1 (0,0-0,7)	17,9***	3,3 ± 1,3 (0,5-5,4)	0,1 ± 0,1 (0,0-0,4)	18,2*** 0,1

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 19

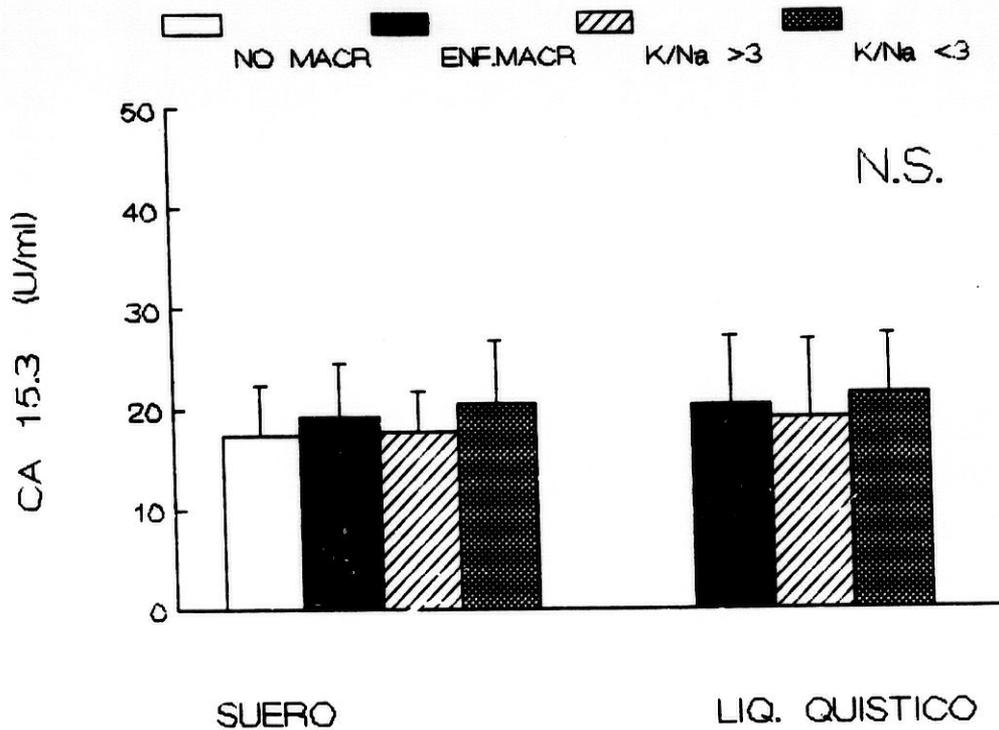
NIVELES DE CA 125 EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 20

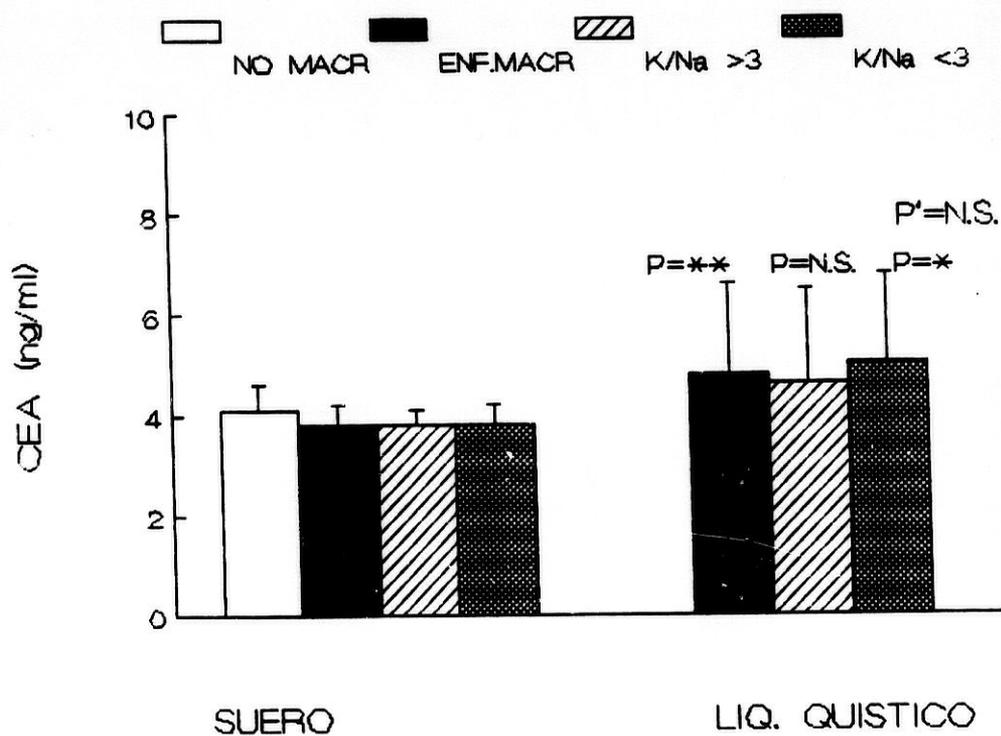
NIVELES DE CA 15.3 EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 21

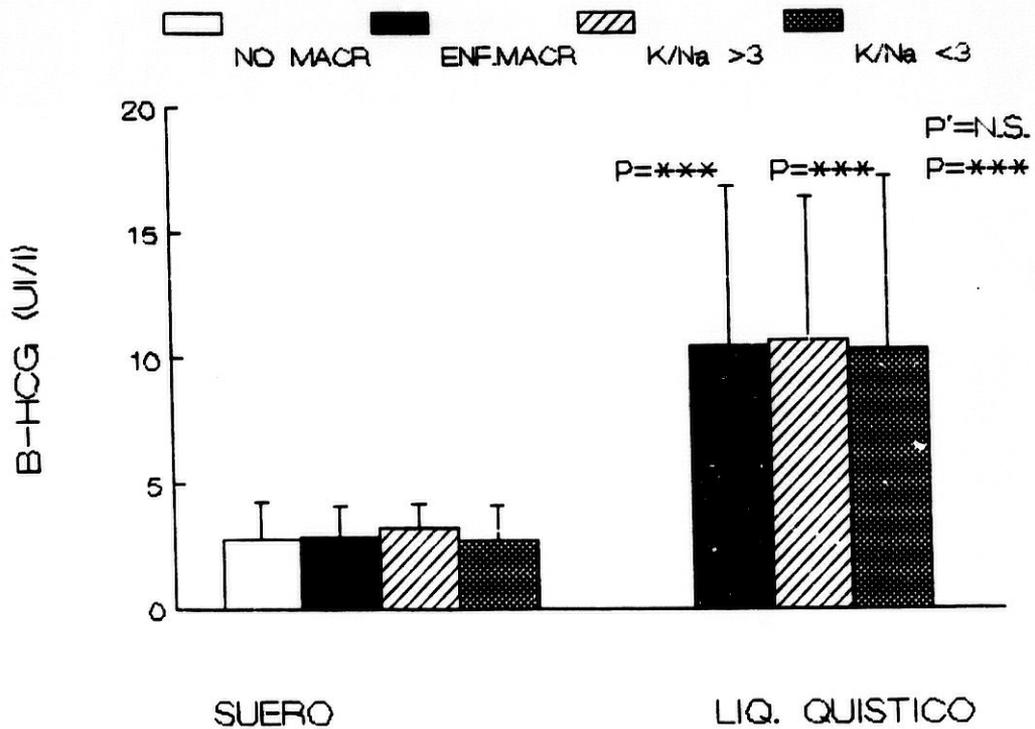
NIVELES DE CEA EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 22

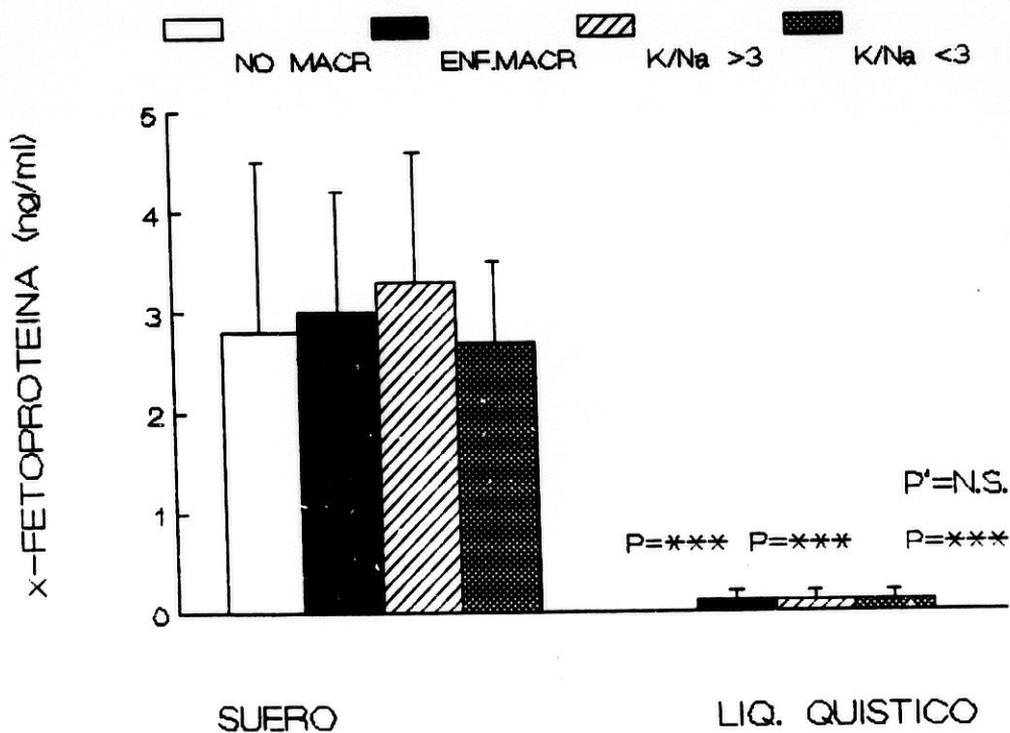
NIVELES DE β -HCG EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 23

NIVELES DE α -FETOPROTEINA EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

TABLA XVI

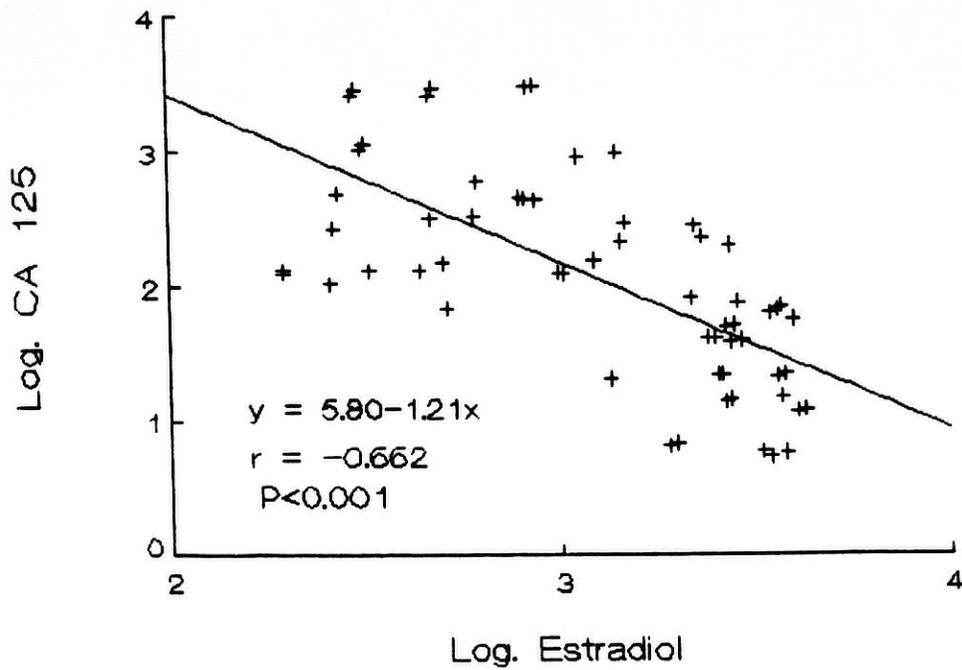
MATRIZ DE COEFICIENTES DE CORRELACION LINEAL SIMPLE DE PEARSON ENTRE LOS MARCADORES TUMORALES Y LAS DIFERENTES HORMONAS ESTUDIADAS EN LIQUIDO QUISTICO.

	<u>CA 125</u>	<u>CA 15.3</u>	<u>CEA</u>	<u>β-HCG</u>	<u>α-FP</u>
E ₂	-0.662	----	----	----	----
PG	----	----	----	----	----
TST	-0.637	----	----	----	----
17-OH	-0.598	----	----	----	----
CORT	----	----	----	----	----
SDHA	-0.674	----	----	----	----
FSH	----	----	----	----	----
LH	----	----	----	----	----
PRL	----	----	----	----	----
TSH	----	----	----	----	----
FT ₃	-0.685	----	----	----	----
FT ₄	----	----	----	----	----
T ₄	----	----	----	----	----

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 24

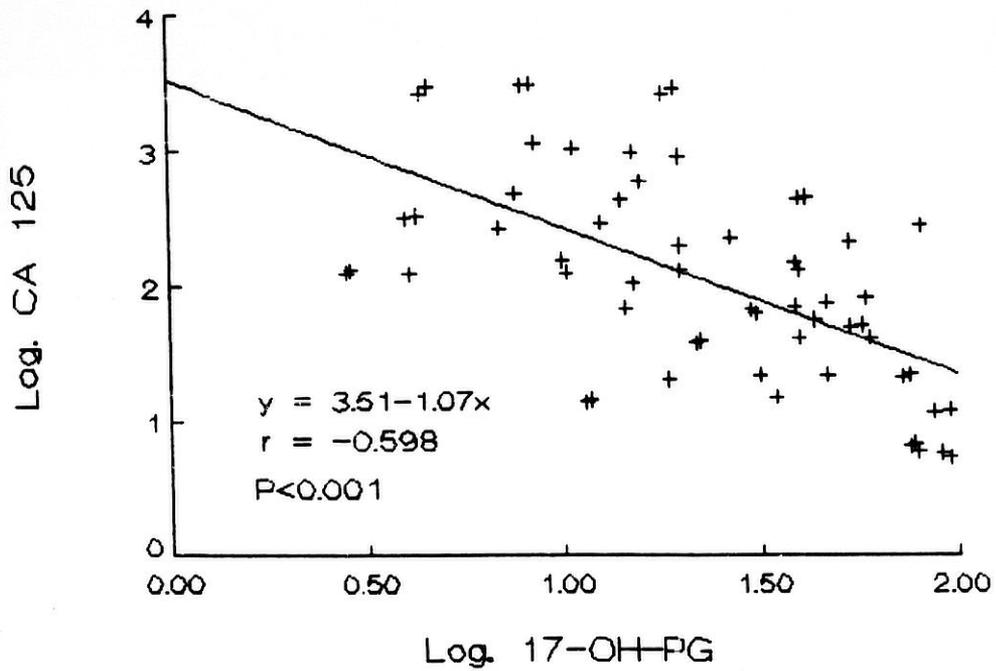
CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE CA 125 Y ESTRADIOL.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 25

CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE CA 125 Y 17-OH-PROGESTERONA.



Ver abreviaturas de gráficas.

PERFIL LIPIDICO EN LA M.F.Q.

Las pacientes analizadas no tienen diferencias en los niveles séricos de los lípidos estudiados, independientemente del grupo de M.F.Q. al que pertenezcan (Tabla XVII; Gráficos 26, 27, 28, 29, 30).

A nivel intraquístico encontramos unas concentraciones significativamente disminuidas ($p < 0,0001$) de triglicéridos y VLDL-colesterol, y aumentadas ($P < 0,0001$) de colesterol total y HDL-colesterol con relación a los niveles sanguíneos de la enfermedad macroquística. No encontramos diferencias en los niveles de LDL-colesterol (Tabla XVIII; Gráficas 26, 27, 28, 29, 30).

Al dividir los líquidos quísticos según el patrón electrolítico, apreciamos que todos los parámetros lipídicos medidos tienen diferencias significativas con sus respectivos sueros. Así, cuando en el líquido hay un cociente $K/Na < 3$ existen niveles significativamente elevados de colesterol total ($p < 0,0001$), HDL-colesterol ($p < 0,0001$) y LDL-colesterol ($p < 0,001$) y disminuidos de triglicéridos ($p < 0,001$) y VLDL-colesterol ($p < 0,001$). En los líquidos con $K/Na > 3$ existen las mismas diferencias con los niveles séricos, excepto el LDL-colesterol que

se encuentra significativamente disminuido ($p < 0,0001$) (Tabla XIX; Gráficas 26, 27, 28, 29, 30).

Si comparamos los líquidos quísticos entre si observamos que existe un aumento significativo de colesterol total ($P < 0,0001$) y HDL-colesterol ($p < 0,0001$) en los quistes donde predomina el K , existiendo por contra una disminución significativa de LDL-colesterol ($p < 0,0001$) en estos mismos quistes. No existen diferencias intraquísticas en las concentraciones de triglicéridos y VLDL-colesterol (Tabla XIX; Gráficos 26, 27, 28, 29, 30).

No hay ningún tipo de correlación entre los valores lipídicos medidos en líquido quístico y los niveles séricos correspondientes.

Existe correlación positiva intraquística entre los niveles de colesterol total y HDL-colesterol y hormonas como estradiol, 17-OH-progesterona, SDHA y FT₃; además, HDL-C se correlaciona positivamente con la testosterona. Estas hormonas, excepto 17-OH-progesterona, mantienen también correlación negativa con el LDL-colesterol (Tabla XX).

Tras el análisis de regresión múltiple paso a paso relacionamos los niveles de colesterol total con los de 17-OH-progesterona ($R^2 = 0,244$; $F_{exp} = 18,7$; g.l. = 1,58), sin que encontremos otras hormonas que nos expliquen algo de la variabilidad intraquística del colesterol total

(Gráfica 31).

La única variable candidato incluida en el modelo, que explica la variabilidad de los niveles intraquís-
ticos de HDL-C fué el estradiol ($R^2=0,516$; $F_{exp}=60,7$;
g.l.=1,58) (Gráfica 32); de igual forma el estradiol
fué también la única variable incluida en el modelo que
intenta explicar la variabilidad intraquística de los
niveles de LDL-C ($R^2=0,385$; $F_{exp}=36,3$; g.l.=1,58)
(Gráfica 33).

TABLA XVII

PERFIL LIPIDICO SERICO EN LA M.F.Q. CON O SIN MACROQUISTES MAMARIOS.

	NO MACROQ.		ENF. MACROQ.		QUISTES K/Na<3		QUISTES K/Na>3	
	N=50		N=60		N=30		N=30	
TRIGLICER. (mg/dl)	109,1 ± 19,7 (51-152)		109,7 ± 33,4 (45-192)		100,1 ± 25,2 (45-190)		119,2 ± 37,3 (67-192)	
COL. TOTAL (mg/dl)	177,2 ± 24,2 (130-229)		168,5 ± 25,9 (121-249)		158,3 ± 19,5 (121-219)		178,6 ± 27,8 (122-249)	
COL. HDL (mg/dl)	44,1 ± 12,1 (30-69)		49,0 ± 14,1 (31-78)		48,7 ± 14,9 (31-78)		49,2 ± 10,8 (35-76)	
COL. LDL (mg/dl)	111,3 ± 10,7 (90-130)		97,6 ± 15,9 (77-135)		89,6 ± 8,8 (77-103)		105,6 ± 19,2 (74-135)	
COL. VLDL (mg/dl)	21,8 ± 3,9 (10-30)		21,9 ± 6,7 (9-38)		20,0 ± 5,0 (9-38)		23,8 ± 7,5 (13-38)	

ver abreviaturas de tablas.

TABLA XVIII

COMPARACION DEL PERFIL LIPIDICO EN SUERO Y LIQUIDO
QUISTICO DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA MAMA.

	SUERO N=60	LIQ.QUISTICO N=60	t_{exp}
TRIGLICER. (mg/dl)	109,7 ± 33,4 (45-192)	50,3 ± 19,6 (16-89)	4,84***
COL. TOTAL (mg/dl)	168,5 ± 25,9 (121-249)	625,7 ± 207,2 (222-1.257)	9,97***
COL. HDL (mg/dl)	49,0 ± 14,1 (31-78)	521,7 ± 264,9 (62-1.230)	13,18***
COL. LDL (mg/dl)	97,6 ± 15,9 (77-135)	93,9 ± 153,8 (0,4-576)	0,23
COL. VLDL (mg/dl)	21,9 ± 6,7 (9-38)	10,0 ± 39 (3,2-17,8)	4,77***

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XIX

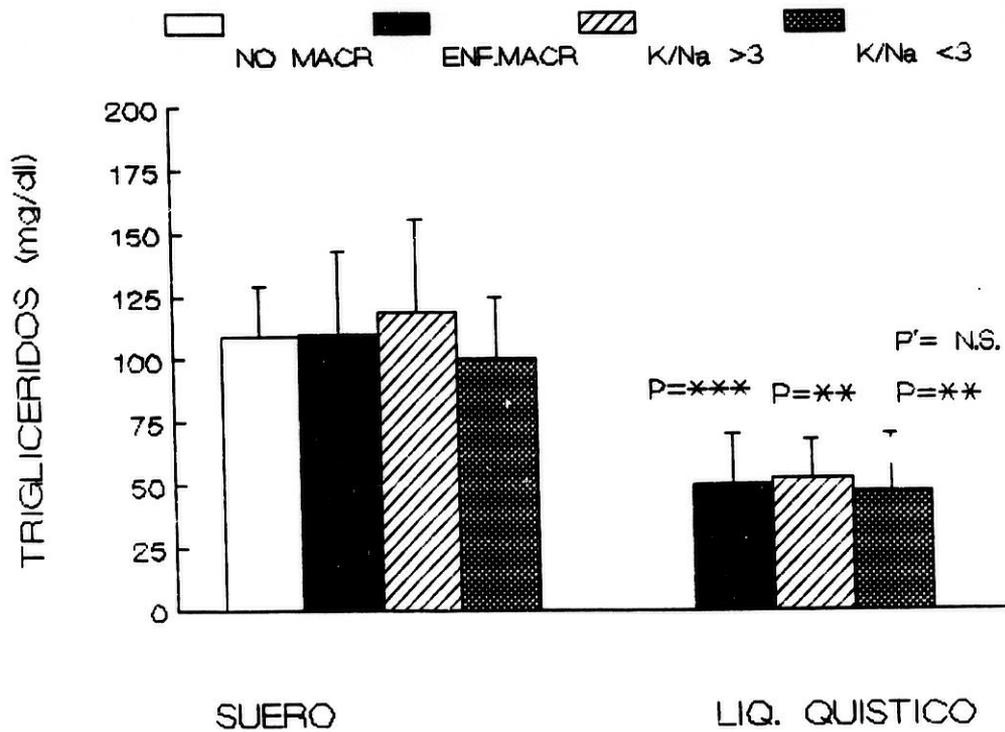
COMPARACION DEL PERFIL LIPIDICO EN EL SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LOS DISTINTOS TIPOS DE QUISTES DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA MAMA DIFERENCIADOS SEGUN EL COCIENTE K/NA INTRAQUISTICO.

	QUISTES CON K/Na <3			QUISTES CON K/Na >3		
	SUERO	LIQUIDO	t _{exp}	SUERO	LIQUIDO	t _{exp}
	N=30	N=30		N=30	N=30	
TRIGLICER. (mg/dl)	100 ±25 (45-190)	47 ±23 (16-89)	3,7**	119 ±37 (67-192)	53,1 ±15,4 (27-86)	3,9**
COL. TOTAL (mg/dl)	158 ±19 (121-249)	510 ±143 (222-789)	7,7***	178 ±27 (122-249)	741 ±198 (432-1.257)	8,9***
COL. HDL (mg/dl)	48,7 ±14,9 (31-78)	338 ±197 (62-780)	7,3***	49 ±11 (35-76)	705 ±185 (426-1.230)	14,0***
COL. LDL (mg/dl)	89,6 ±8,8 (77-103)	163 ±193 (0,8-576)	3,6**	106 ±19 (74-135)	25,2 ±35,6 (0,4-119)	4,2***
COL. VLDL (mg/dl)	20,0 ±5,0 (9-38)	9,5 ±4,6 (3,2-17,8)	3,3**	24 ±7,5 (13-38)	11 ±3,1 (5,4-17,2)	3,6**

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 26

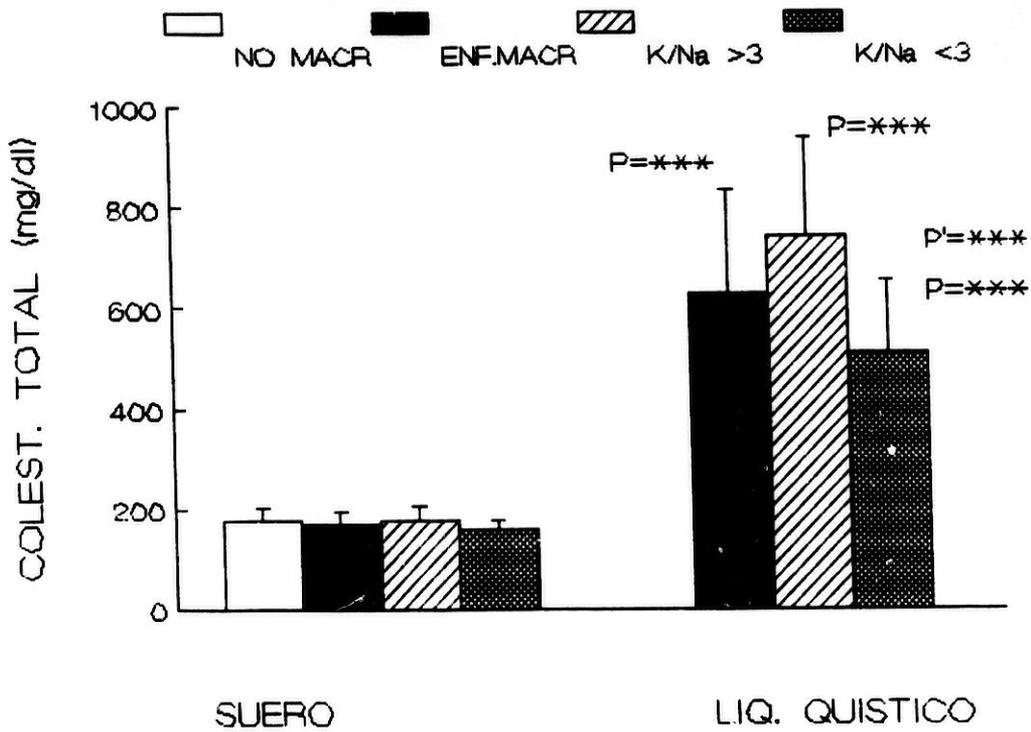
NIVELES DE TRIGLICERIDOS EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE
M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 27

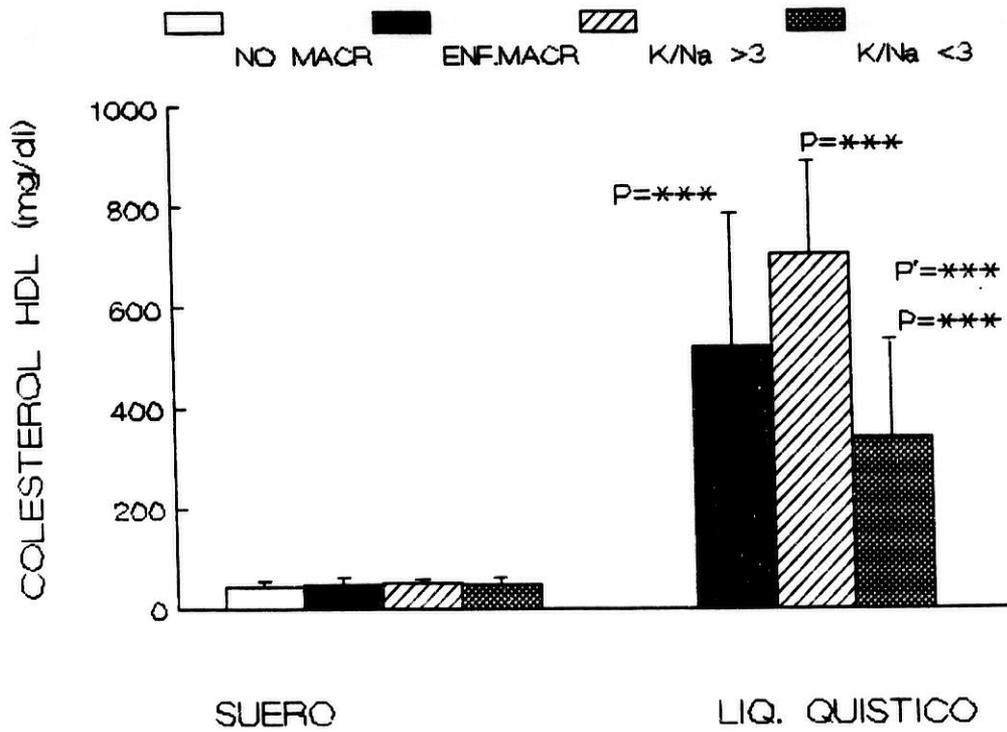
NIVELES DE COLESTEROL TOTAL EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO
DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 28

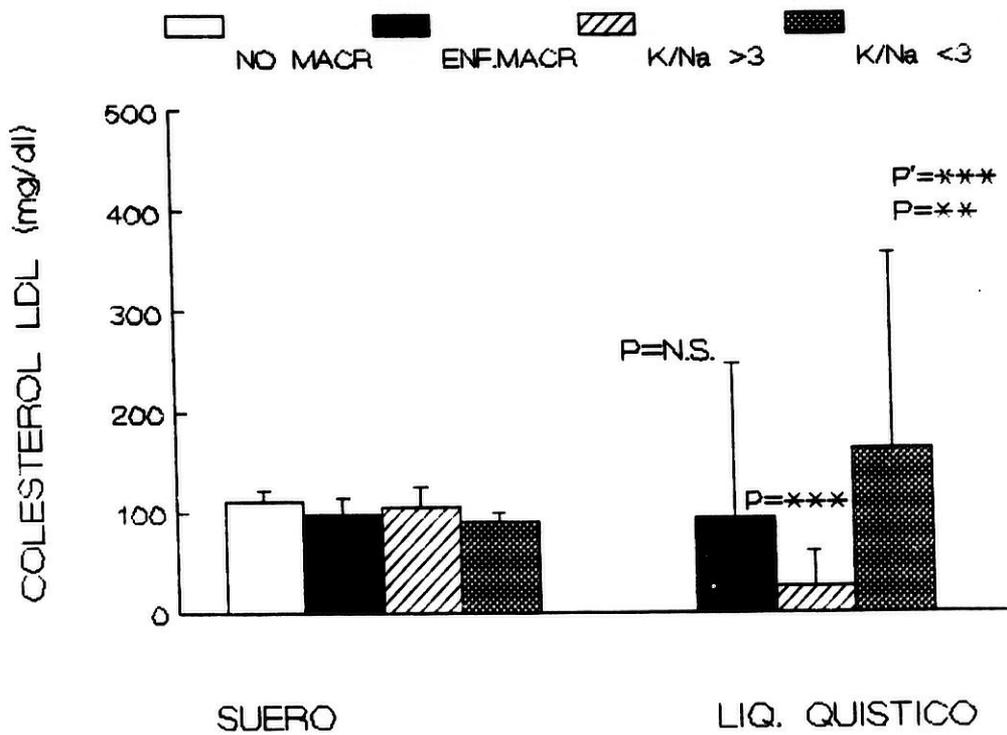
NIVELES DE HDL-C EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO
DE M.F.Q.



Ver abreviatura de gráficas.

GRAFICA 29

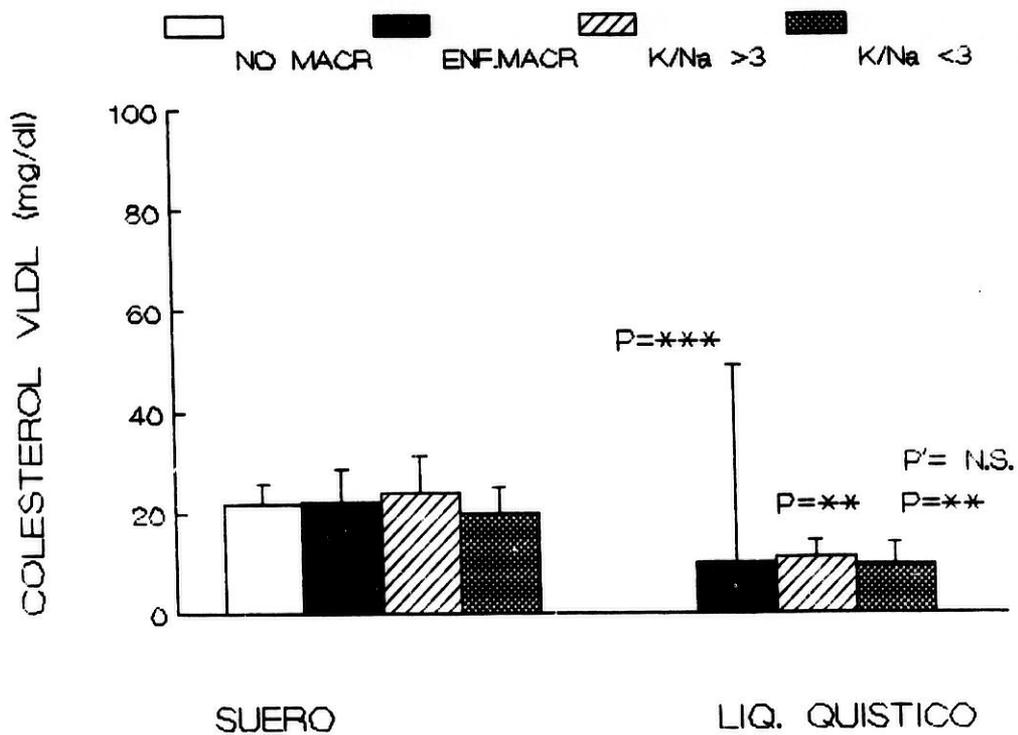
NIVELES DE LDL-C EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO
DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 30

NIVELES DE VLDL-C EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO
DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

TABLA XX

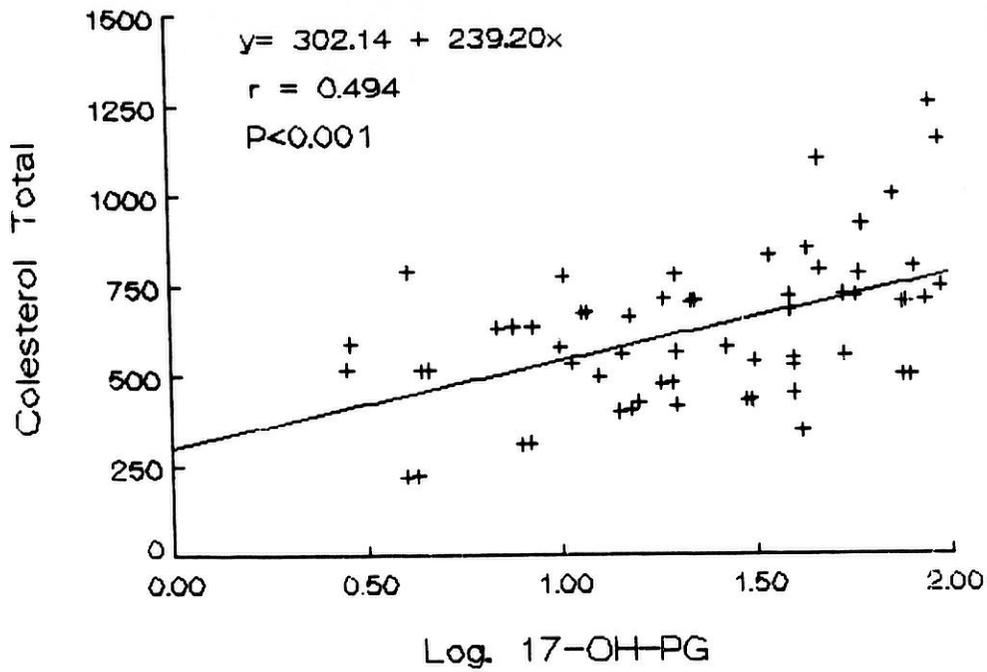
MATRIZ DE COEFICIENTES DE CORRELACION LINEAL SIMPLE DE
PEARSON ENTRE EL PERFIL LIPIDICO Y LAS DIFERENTES
HORMONAS ESTUDIADAS EN LIQUIDO QUISTICO.

	<u>COLEST.TOT.</u>	<u>HDL-C</u>	<u>LDL-C</u>	<u>VLDL-C</u>	<u>TRIGLIC.</u>
E ₂	0.454	0.715	-0.621	----	----
PG	----	----	----	----	----
TST	----	0.597	-0.477	----	----
17-OH	0.494	0.528	----	----	----
CORT	----	----	----	----	----
SDHA	0.458	0.658	-0.519	----	----
FSH	----	----	----	----	----
LH	----	----	----	----	----
PRL	----	----	----	----	----
TSH	----	----	----	----	----
FT ₃	0.437	0.601	-0.448	----	----
FT ₄	----	----	----	----	----
T ₄	----	----	----	----	----

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 31

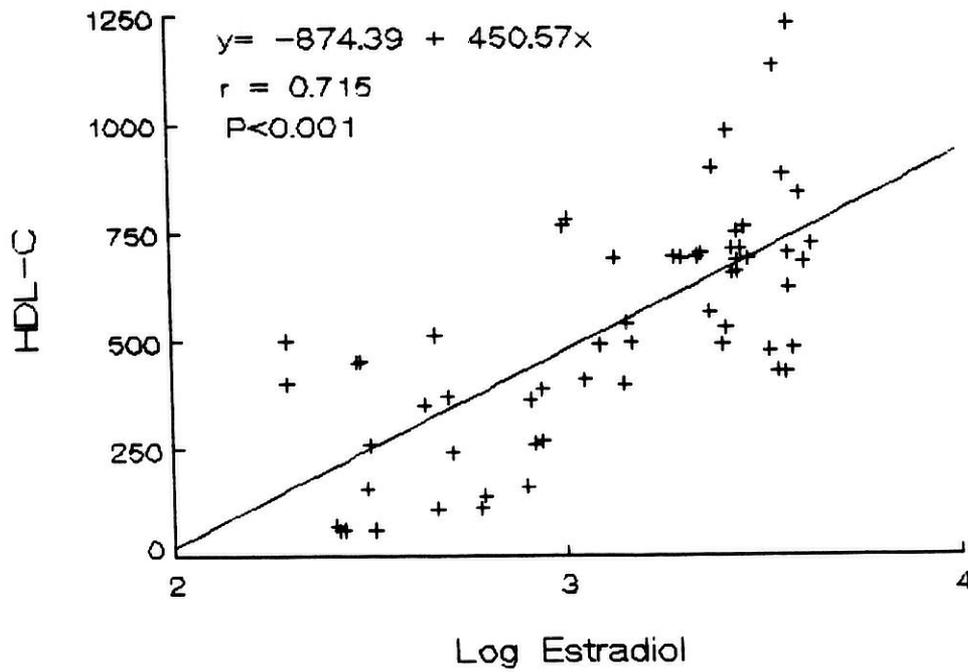
CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE COLESTEROL TOTAL Y 17-OH-
PROGESTERONA.



Ver abreviatura de gráficas.

GRAFICA 32

CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE HDL-C Y ESTRADIOL.



Ver abreviatura de gráficas.

PARAMETROS BIOQUIMICOS (CLORO, CALCIO, GLUCOSA Y
PROTEINAS) EN M.F.Q.

A nivel sérico no encontramos diferencias en las concentraciones de cloro, calcio, glucosa y proteínas totales, entre los distintos grupos de enfermas analizados (Tabla XXI; Gráficas 34, 35, 36, 37).

Al estudiar la enfermedad macroquística apreciamos una disminución significativa de las concentraciones de cloro, glucosa y proteínas totales en el líquido quístico con respecto al suero ($p < 0,0001$), sin apreciarse diferencias en los niveles de calcio (Tabla XXII; Gráficas 34, 35, 36, 37).

Al dividir los quistes según el cociente K/Na estas concentraciones quísticas disminuidas se mantienen, excepto para los niveles de cloro en los quistes con K/Na < 3 , donde no se encuentran diferencias con los valores séricos (Tabla XXIII; Gráficas 34, 35, 36, 37).

Al comparar entre si los líquidos quísticos encontramos que cuando el cociente K/Na > 3 existen unas concentraciones significativamente más bajas de cloro y glucosa que en aquellos quistes con K/Na < 3

($p < 0,0001$). No se observan diferencias intraquísticas en los niveles de calcio y proteínas (Tabla XXIII; Gráficas 34, 35, 36, 37).

No existe correlación entre las concentraciones séricas e intraquísticas de las sustancias analizadas.

Tras el análisis de correlación lineal simple se aprecia una correlación inversa entre las concentraciones de glucosa y cloro intraquístico, con los niveles de estradiol, testosterona, 17-OH-progesterona y FT, (Tabla XXIV).

El análisis de regresión múltiple paso a paso, relacionó los niveles de cloro y glucosa quísticos solo con el estradiol ($R^2=0,860$; $F_{exp}=164,7$; g.l.=1,58) y ($R^2=0,805$; $F_{exp}=107,1$; g.l.=1,58) respectivamente (Gráficas 38, 39).

TABLA XXI

NIVELES SERICOS DE DIVERSOS PARAMETROS BIOQUIMICOS EN M.F.Q. CON Y SIN
MACROQUISTES MAMARIOS.

	NO MACROQ. N=50	ENF. MACROQ. N=60	QUISTES K/Na<3 N=30	QUISTES K/Na>3 N=30
COLORO (mEq/l)	95,7 ± 13,8 (81-115)	100,1 ± 17,2 (75-119)	102,3 ± 15,2 (85-119)	97,9 ± 18,0 (75-119)
CALCIO (mg/dl)	9,5 ± 1,1 (8,1-11,1)	9,3 ± 0,8 (8,0-10,8)	9,2 ± 1,1 (8,0-10,8)	9,4 ± 0,7 (8,5-10,4)
GLUCOSA (mg/dl)	89,8 ± 16,1 (69-115)	93,7 ± 14,8 (65-111)	97,8 ± 10,8 (71-111)	89,6 ± 15,9 (65-109)
PROTEINAS (g/dl)	6,9 ± 1,0 (5,8-8,3)	7,2 ± 0,9 (5,8-8,4)	7,4 ± 0,8 (5,9-8,4)	7,0 ± 1,1 (5,8-8,3)

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XXI

NIVELES SERICOS DE DIVERSOS PARAMETROS BIOQUIMICOS EN M.F.Q. CON Y SIN
MACROQUISTES MAMARIOS.

	NO MACROQ.	ENF. MACROQ.	QUISTES K/Na<3	QUISTES K/Na>3
	N=50	N=60	N=30	N=30
COLORO (mEq/l)	95,7 ± 13,8 (81-115)	100,1 ± 17,2 (75-119)	102,3 ± 15,2 (85-119)	97,9 ± 18,0 (75-119)
CALCIO (mg/dl)	9,5 ± 1,1 (8,1-11,1)	9,3 ± 0,8 (8,0-10,8)	9,2 ± 1,1 (8,0-10,8)	9,4 ± 0,7 (8,5-10,4)
GLUCOSA (mg/dl)	89,8 ± 16,1 (69-115)	93,7 ± 14,8 (65-111)	97,8 ± 10,8 (71-111)	89,6 ± 15,9 (65-109)
PROTEINAS (g/dl)	6,9 ± 1,0 (5,8-8,3)	7,2 ± 0,9 (5,8-8,4)	7,4 ± 0,8 (5,9-8,4)	7,0 ± 1,1 (5,8-8,3)

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XXII

COMPARACION DE LOS NIVELES DE DIVERSOS PARAMETROS
BIOQUIMICOS EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LA ENFERMEDAD
MACROQUISTICA DE LA MAMA.

	SUERO N=60	LIQ. QUISTICO N=60	t_{exp}
CLORO (mEq/l)	100,1 ± 17,2 (75-119)	50,4 ± 36,1 (9-104)	4,79***
CALCIO (mg/dl)	9,3 ± 0,8 (8,0-10,8)	8,4 ± 1,9 (4,1-13,6)	0,81
GLUCOSA (mg/dl)	93,7 ± 14,8 (65-111)	32,6 ± 27,0 (4-74)	5,08***
PROTEINAS (g/dl)	7,2 ± 0,9 (5,8-8,4)	2,0 ± 0,7 (1,0-4,3)	5,71***

Ver abreviaturas de tablas

TABLA XXIII

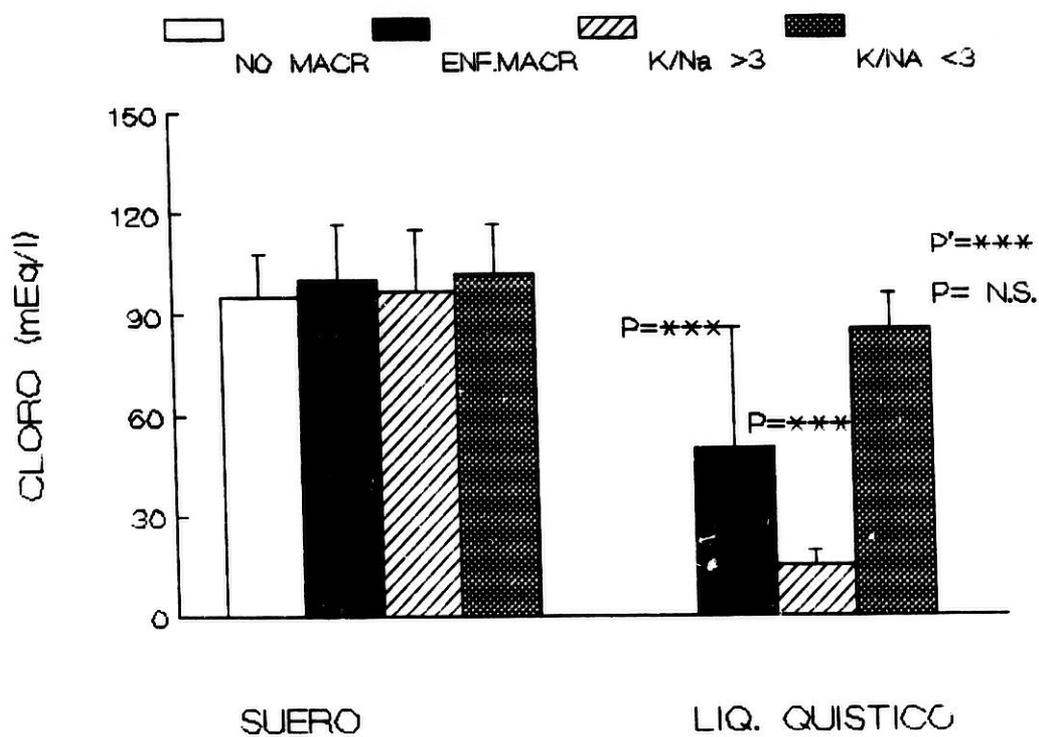
COMPARACION DE LOS NIVELES DE DIVERSOS PARAMETROS BIOQUIMICOS EN EL SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LOS DISTINTOS TIPOS DE QUISTE DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA MAMA DIFERENCIADOS SEGUN EL COCIENTE K/NA INTRAQUISTICO.

	QUISTES CON K/Na <3			QUISTES CON K/Na >3		
	SUERO N=30	LIQUIDO N=30	t _{exp}	SUERO N=30	LIQUIDO N=30	t _{exp}
CLORO (mEq/l)	102,3 ±15,2 (85-119)	85,1 ±11,2 (61-104)	1,98	97,9 ±18,0 (75-119)	15,6 ±4,7 (9-27)	5,28***
CALCIO (mg/dl)	9,2 ±1,1 (8,0-10,8)	8,0 ±1,4 (5,6-12,7)	0,27	9,4 ±0,7 (8,5-10,4)	8,8 ±2,3 (4,1-13,6)	0,12
GLUCOSA (mg/dl)	97,8 ±10,8 (71-111)	56,7 ±16,8 (24-74)	3,65**	89,6 ±15,9 (65-109)	8,7 ±4,2 (4-23)	9,27***
PROTEINAS (g/dl)	7,4 ±0,8 (5,9-8,4)	2,2 ±0,9 (1,1-4,3)	4,01***	7,0 ±1,1 (5,8-8,3)	1,8 ±0,4 (1,0-2,6)	4,12***
						0,25

ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 34

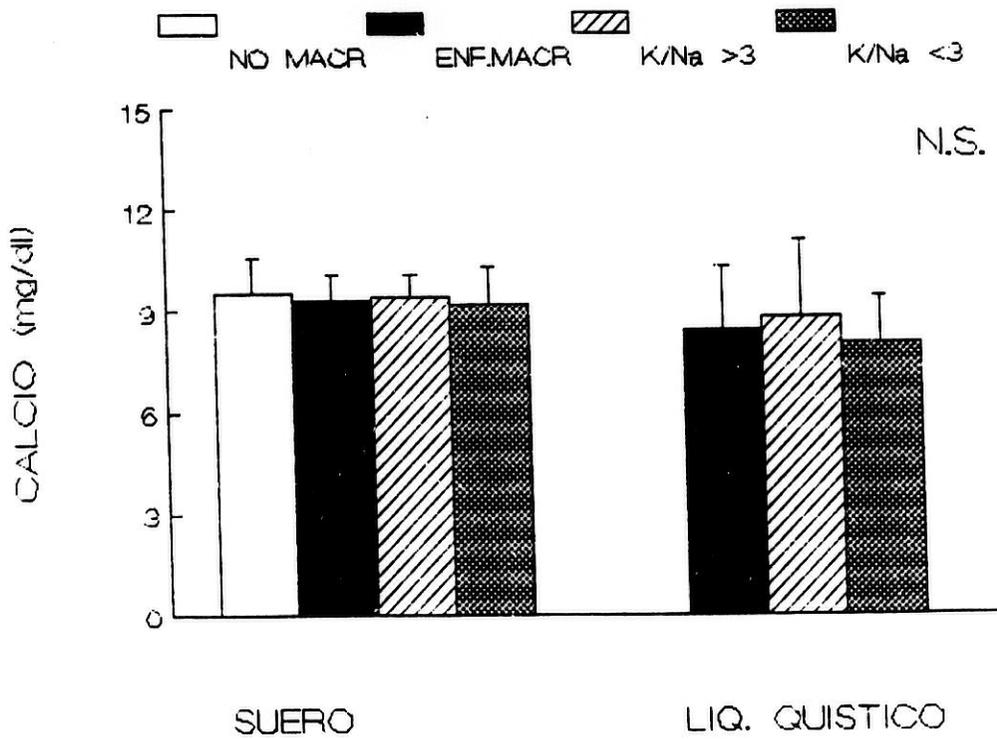
NIVELES DE CLORO EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 35

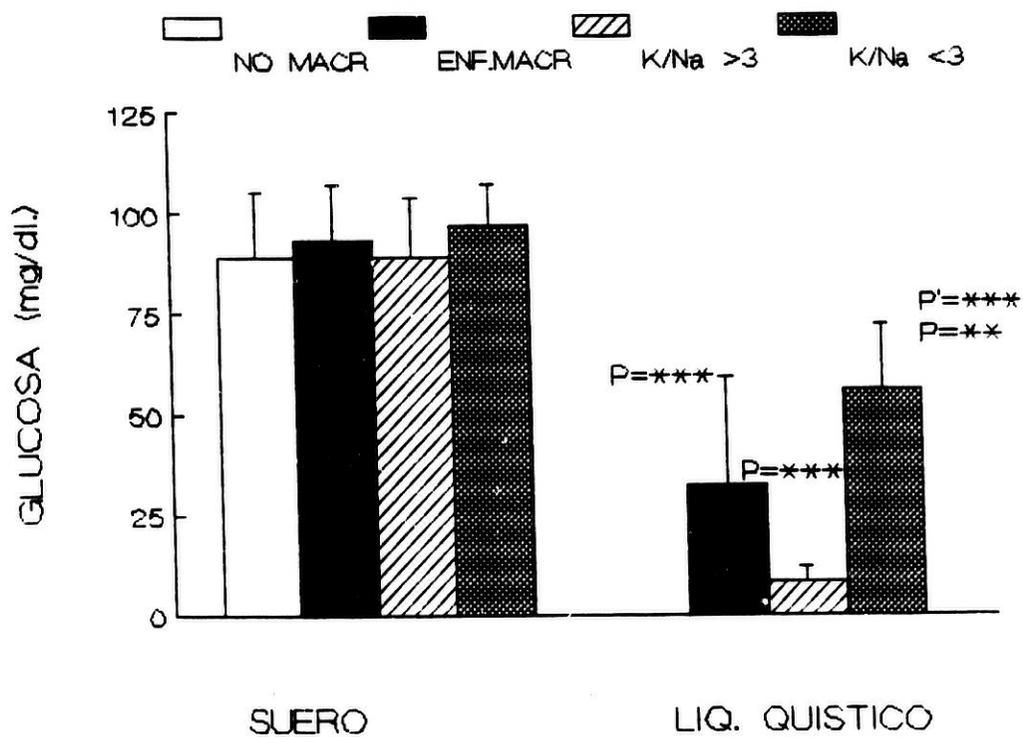
NIVELES DE CALCIO EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 36

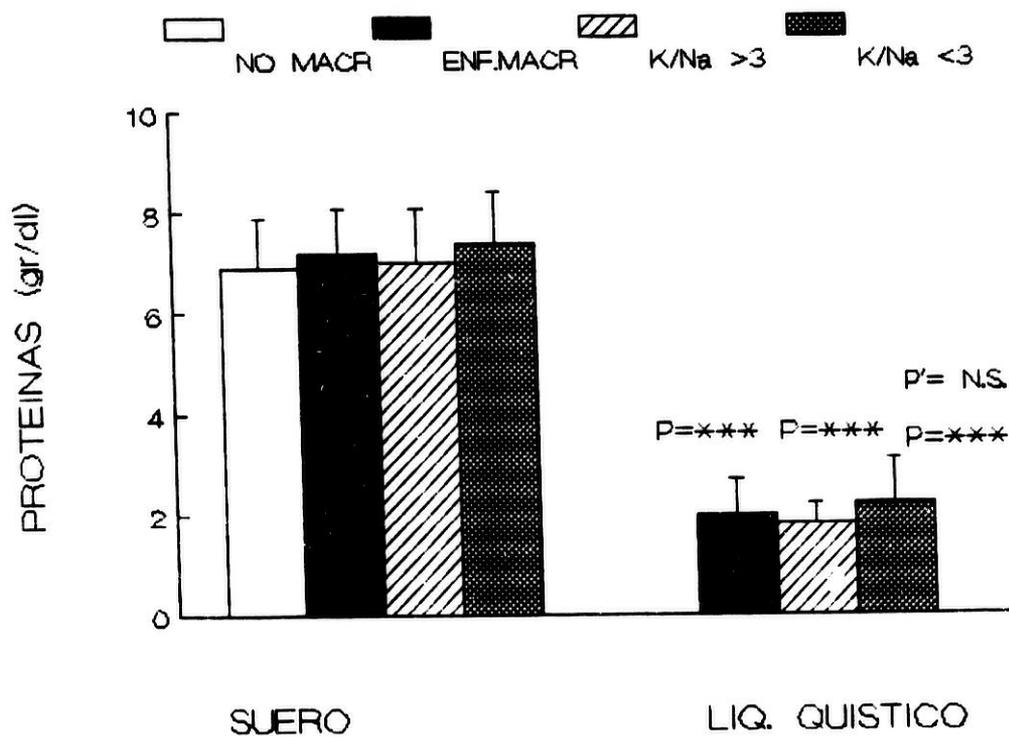
NIVELES DE GLUCOSA EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 37

NIVELES DE PROTEINAS EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

TABLA XXIV

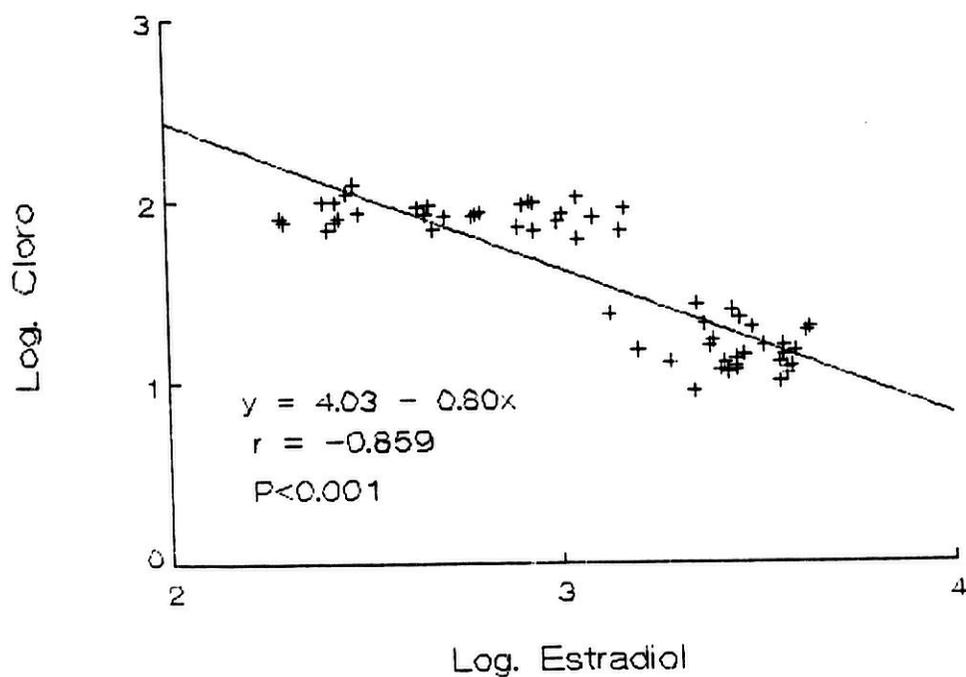
MATRIZ DE COEFICIENTES DE CORRELACION LINEAL SIMPLE DE PEARSON ENTRE LOS PARAMETROS BIOQUIMICOS Y LAS DIFERENTES HORMONAS ESTUDIADAS EN LIQUIDO QUISTICO.

	<u>COLORO</u>	<u>GLUCOSA</u>	<u>CALCIO</u>	<u>PROTEINAS</u>
E ₂	-0.859	-0.806	----	----
PG	----	----	----	----
TST	-0.811	-0.781	----	----
17-OH	-0.665	-0.604	----	----
CORT	----	----	----	----
SDHA	-0.803	-0.751	----	----
FSH	----	----	----	----
LH	----	----	----	----
PRL	----	----	----	----
TSH	----	----	----	----
FT ₃	-0.768	-0.749	----	----
FT ₄	----	----	----	----
T ₄	----	----	----	----

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 38

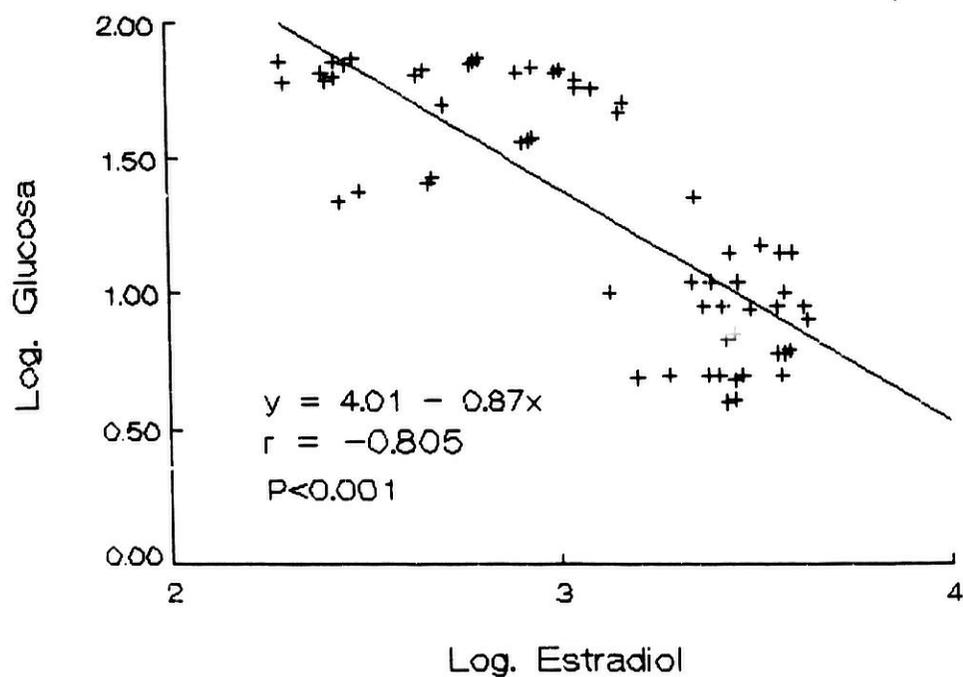
CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE CLORO Y ESTRADIOL.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 39

CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE GLUCOSA Y ESTRADIOL.



Ver abreviaturas de gráficas.

ENZIMAS (LDH, AMILASA, FOSFATASA ALCALINA Y GGT) EN
M.F.Q.

Los distintos tipos de M.F.Q. estudiados no presentan diferencias séricas al estudiar las concentraciones de las enzimas LDH, Amilasa, Fosfatasa Alcalina y GGT (Tabla XXV; Gráficas 40, 41, 42, 43).

En la enfermedad macroquística observamos que en el líquido quístico existe con respecto al suero, un aumento significativo de amilasa ($p < 0,0001$) y GGT ($p < 0,0001$), y una disminución de fosfatasa alcalina ($p < 0,001$), no apreciando diferencias en la LDH (Tabla XXVI; Gráficas 40, 41, 42, 43).

Al dividir los quistes según su cociente K/Na apreciamos que en aquellos con altos niveles de Na y bajos de K hay un incremento significativo, con relación a su suero, de LDH ($p < 0,0001$), amilasa ($p < 0,0001$) y GGT ($p < 0,0001$), existiendo una disminución de fosfatasa alcalina ($p < 0,0001$). Por contra en aquellos líquidos con relación K/Na > 3 hay un incremento significativo de amilasa ($p < 0,0001$) y GGT ($p < 0,0001$), pero la LDH está significativamente disminuida ($p < 0,0001$). La fosfatasa alcalina no presenta diferencias con el suero e.

este tipo de quistes (Tabla XXVII; Gráficas 40, 41, 42, 43).

Al comparar los líquidos quísticos entre sí encontramos que los quistes con altos niveles de K tienen de forma significativa niveles disminuidos de LDH ($p < 0,0001$) y aumentados de amilasa ($p < 0,0001$) y fosfatasa alcalina ($p < 0,0001$). No hay diferencias intraquísticas para los niveles de CPT (Tabla XXVII; Gráficas 40, 41, 42, 43).

No apreciamos correlación entre los niveles en suero de las enzimas estudiadas y sus concentraciones intraquísticas.

En líquido quístico encontramos que la LDH tiene correlación inversa con estradiol, testosterona, 17-OH-progesterona, SDHA y FT₃. Por contra fosfatasa alcalina y amilasa mantienen correlación positiva con las mismas hormonas (Tabla XXVIII).

Al realizar el análisis de regresión múltiple paso a paso encontramos que los niveles de fosfatasa alcalina y LDH solo mantienen relación con el estradiol ($R^2 = 0,467$; $F_{exp} = 50,8$; g.l.=1,58) y ($R^2 = 0,651$; $F_{exp} = 108,2$; g.l.=1,58) respectivamente-, sin que otras hormonas nos aporten información significativa sobre la variabilidad de sus concentraciones intraquísticas (Gráficas 44, 45).

Por contra, en este mismo tipo de análisis paso a

paso observamos que la amilasa se relaciona en un primer paso con la 17-OH-progesterona ($R^2=0,445$; $F_{exp}=46,4$; g.l.=1,58), y en un segundo paso con el estradiol ($R^2=0,500$; $F_{exp}=6,3$; g.l.=2,57) (Gráficas 46, 47).

TABLA XXV

NIVELES SERICOS (IU/l) DE DIVERSAS ENZIMAS EN LA M.F.Q. CON O SIN MACROQUISTES.

	NO MACROQ.	ENF. MACROQ.	QUISTES K/NA < 3	QUISTES K/NA > 3
	N=50	N=60	N=30	N=30
LDH	394 ± 58 (202-771)	351 ± 79 (215-810)	326 ± 64 (215-790)	378 ± 77 (251-810)
AMILASA	133 ± 47 (25-190)	135 ± 40 (51-210)	122 ± 24 (51-155)	148 ± 40 (80-210)
FOSF. ALC.	279 ± 57 (85-360)	266 ± 68 (100-352)	278 ± 53 (110-348)	254 ± 69 (100-352)
GGT	24 ± 11,7 (8,0-56,0)	24,7 ± 16,9 (6,8-75,0)	21,3 ± 12,8 (6,8-55,0)	28,1 ± 15,2 (11,0-75,0)

ver abreviaturas de tablas.

TABLA XXVI

COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DE DIVERSAS ENZIMAS
(IU/l) EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LA ENFERMEDAD
MACROQUISTICA DE LA MAMA.

	SUERO N=60	LIQ. QUISTICO N=60	t_{exp}
LDH	351 ± 79 (215-810)	301 ± 355 (10-1.207)	1,27
AMILASA	135 ± 40 (51-210)	906 ± 533 (168-2.327)	15,96***
FOSF.ALC.	266 ± 68 (100-352)	147 ± 172 (1-601)	4,23**
GGT	24 ± 11,7 (6,8-75,0)	5.403 ± 1967 (1.110-8.716)	29,14***

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XXVI

COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DE DIVERSAS ENZIMAS
(IU/1) EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LA ENFERMEDAD
MACROQUISTICA DE LA MAMA.

	SUERO N=60	LIQ. QUISTICO N=60	t_{exp}
LDH	351 ± 79 (215-810)	301 ± 355 (10-1.207)	1,27
AMILASA	135 ± 40 (51-210)	906 ± 533 (168-2.327)	15,96***
FOSF.ALC.	266 ± 68 (100-352)	147 ± 172 (1-601)	4,23**
GGT	24 ± 11,7 (6,8-75,0)	5.403 ± 1967 (1.110-8.716)	29,14***

Ver abreviaturas de tablas.

TABLA XXVII

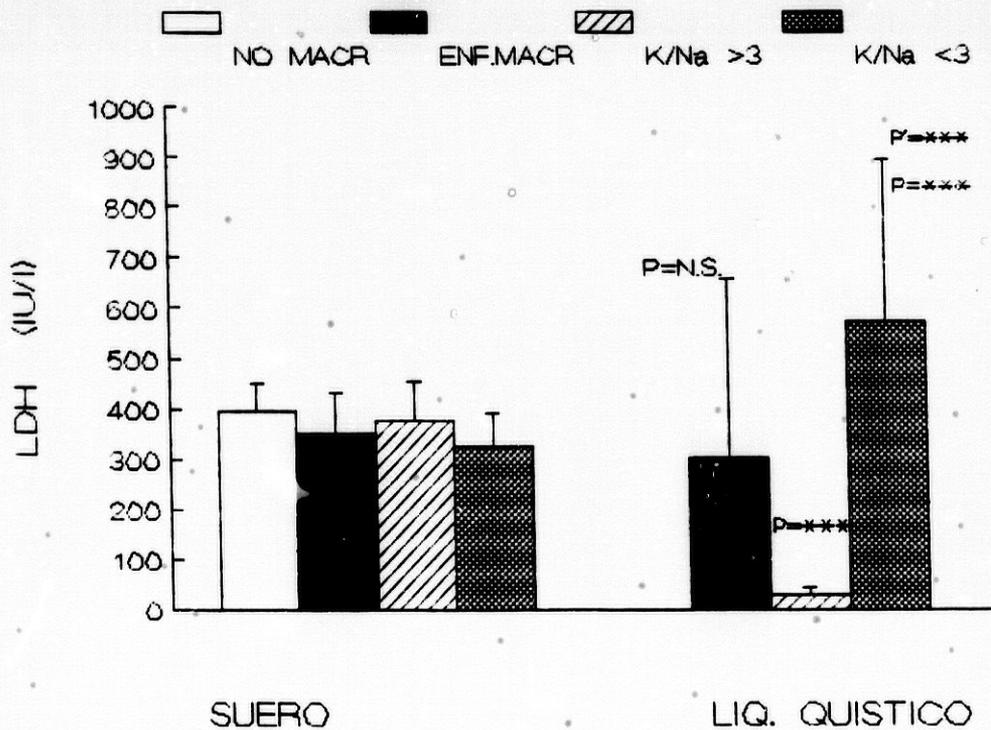
COMPARACION DE LOS NIVELES DE DIVERSAS ENZIMAS (IU/1) EN EL SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE LOS DISTINTOS TIPOS DE QUISTE DE LA ENFERMEDAD MACROQUISTICA DE LA MAMA DIFERENCIADOS SEGUN EL COCIENTE K/NA INTRAQUISTICO.

	QUISTES CON K/Na <3		QUISTES CON K/Na >3			
	SUERO	LIQUIDO	t _{exp}	SUERO	LIQUIDO	t _{exp}
	N=30	N=30		N=30	N=30	
LDH	326 ±64 (215-790)	574 ±319 (183-1.207)	4,1***	378 ±77 (251-810)	28,5 ±16,5 (10,0-80,0)	8,7***
AMILASA	122 ±24 (51-155)	579 ±266 (168-1.090)	7,9***	148 ±40 (80-210)	1.232 ±536 (457-2.327)	10,0***
FOSF.ALC.	278 ±53 (110-348)	15,1 ±16,4 (1,0-60,0)	10,3***	254 ±69 (100-352)	278 ±155 (90-601)	0,3
GGT	21,3 ±12,8 (6,8-55,0)	5.617 ±1.961 (1.334-8.413)	14,3***	28,1 ±15,2 (11,0-75,0)	5.188 ±1984 (1.110-8.716)	13,2***
						0,4

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 40

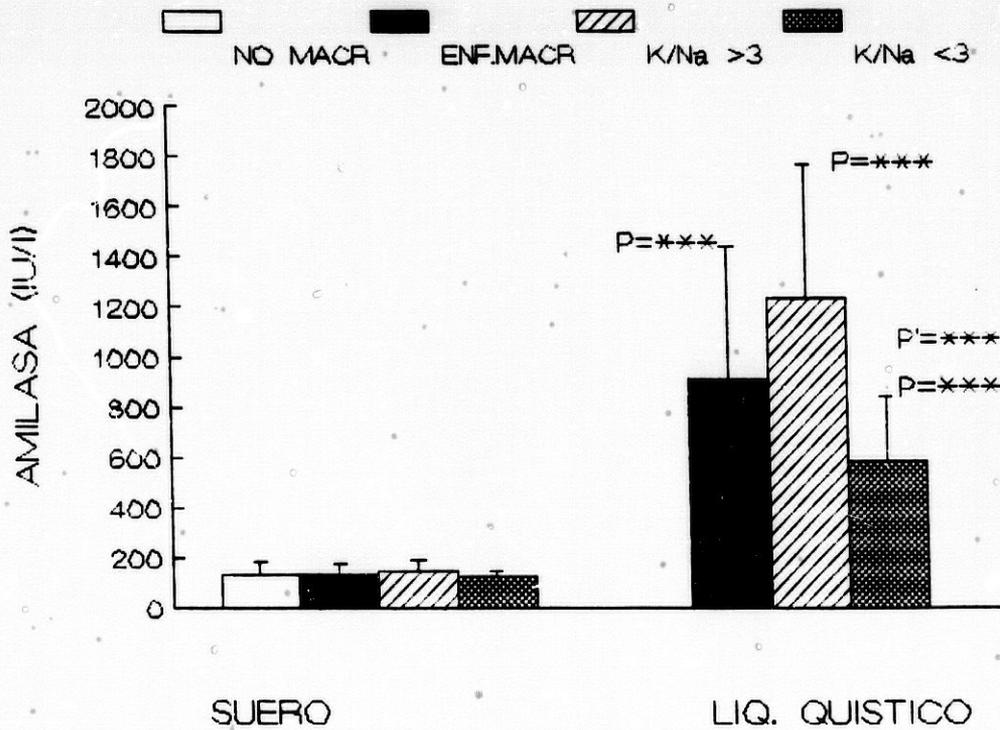
NIVELES DE LDH EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 41

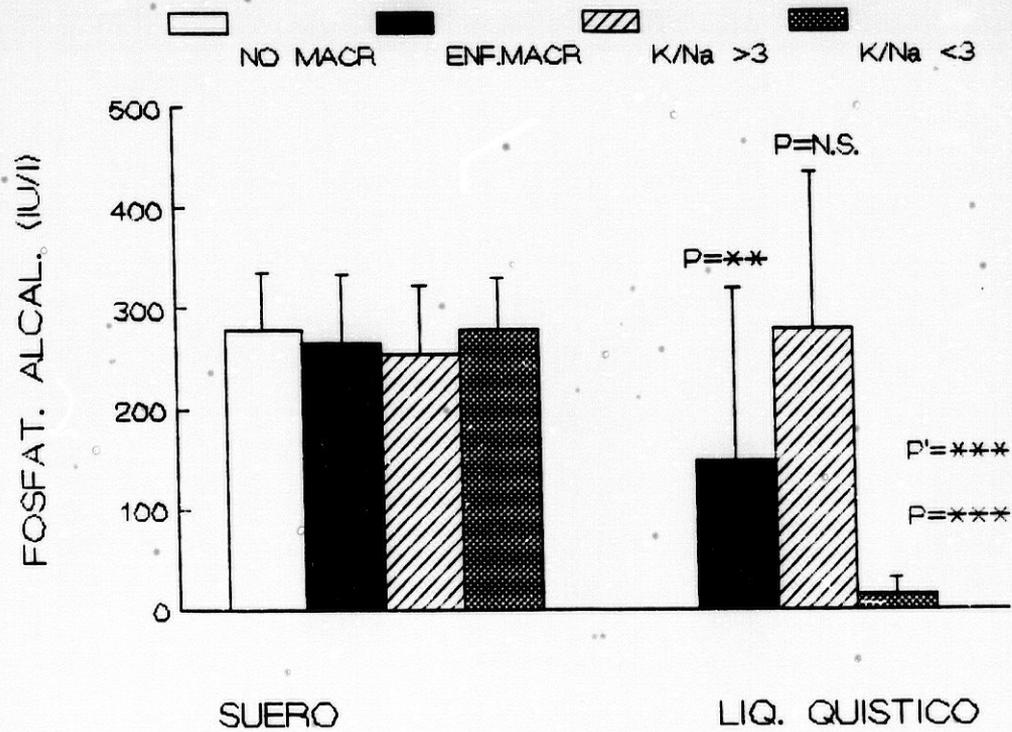
NIVELES DE AMILASA EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 42

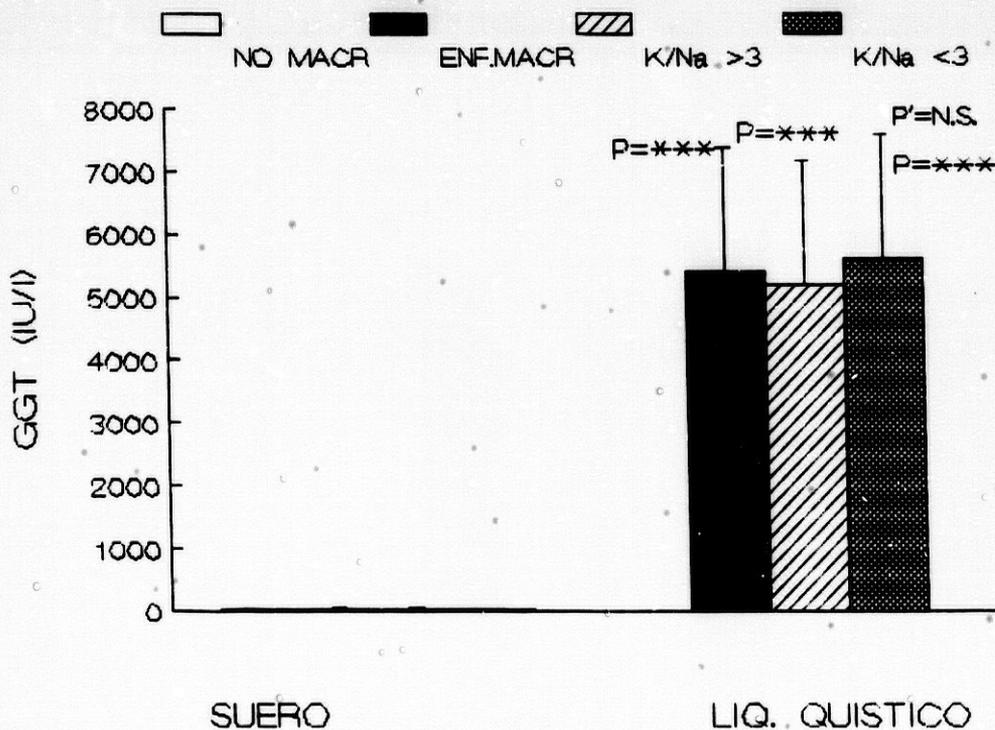
NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA EN SUERO Y LIQUIDO
QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 43

NIVELES DE GGT EN SUERO Y LIQUIDO QUISTICO DE M.F.Q.



Ver abreviaturas de gráficas.

TABLA XXVIII

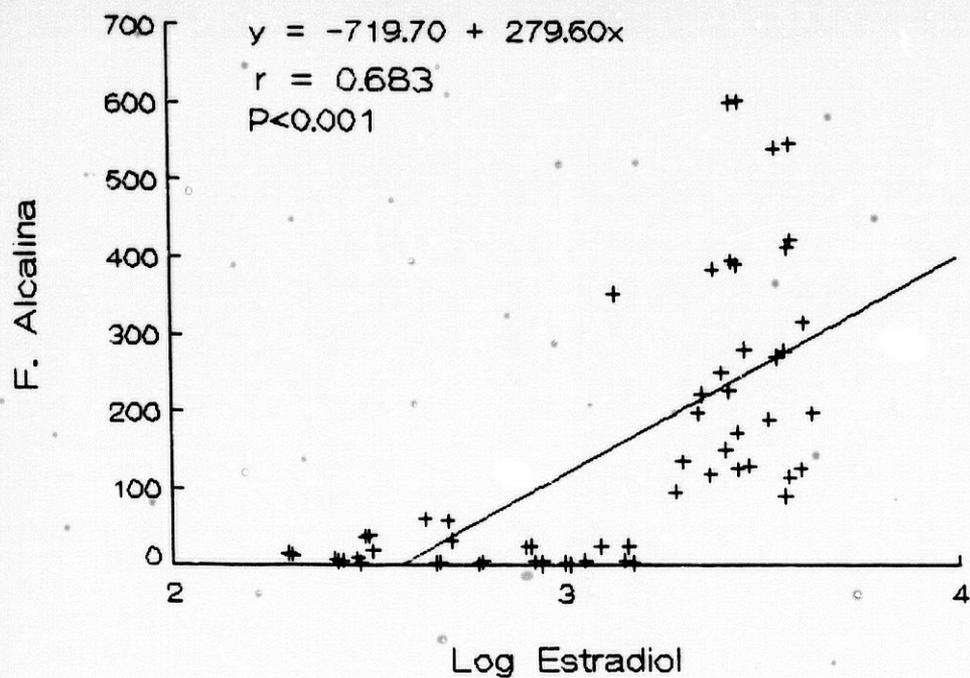
MATRIZ DE COEFICIENTES DE CORRELACION LINEAL SIMPLE DE PEARSON ENTRE LAS ENZIMAS Y LAS DIFERENTES HORMONAS ESTUDIADAS EN LIQUIDO QUISTICO.

	<u>LDH</u>	<u>FOS.ALCAL.</u>	<u>AMILASA</u>	<u>GGT</u>
E ₂	-0.807	0.683	0.631	----
PG	----	----	----	----
TST	-0.701	0.617	0.562	----
17-OH-PG	-0.560	0.580	0.667	----
CORT	----	----	----	----
SDHA	-0.799	0.601	0.668	----
FSH	----	----	----	----
LH	----	----	----	----
PRL	----	----	----	----
TSH	----	----	----	----
FT ₃	-0.672	0.532	0.607	----
FT ₄	----	----	----	----
T ₄	----	----	----	----

Ver abreviaturas de tablas.

GRAFICA 44

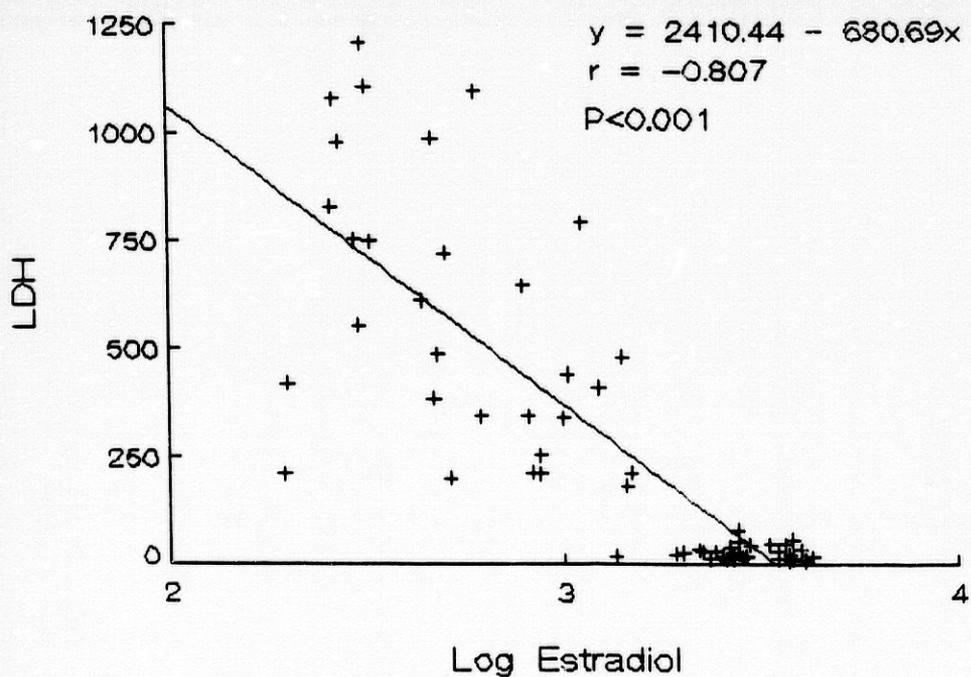
CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE FOSFATASA ALCALINA Y ESTRADIOL.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 45

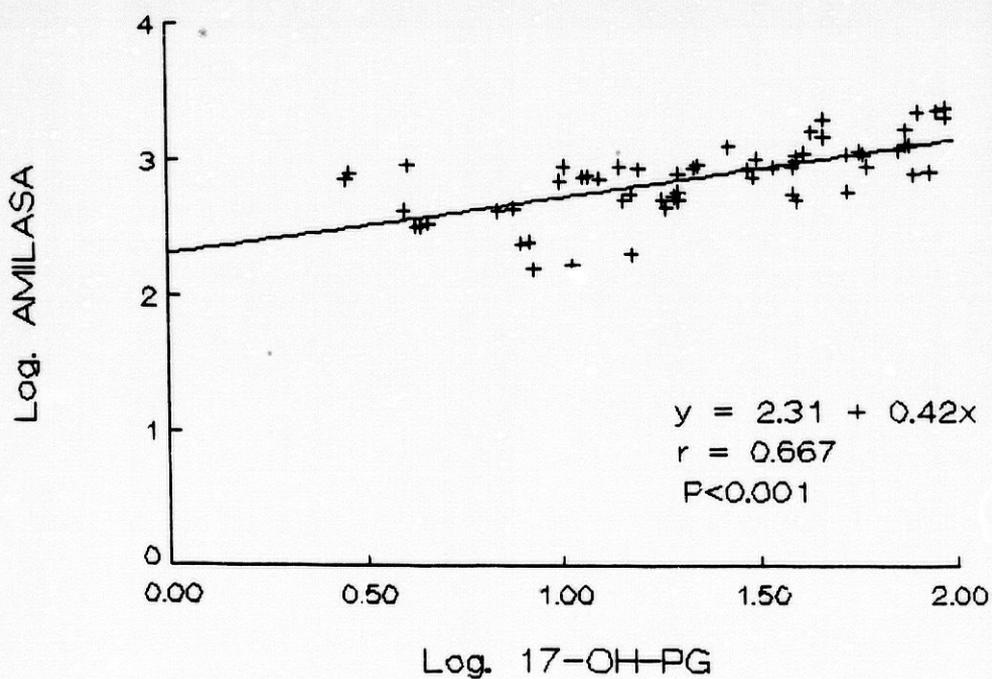
CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE LDH Y ESTRADIOL.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 46

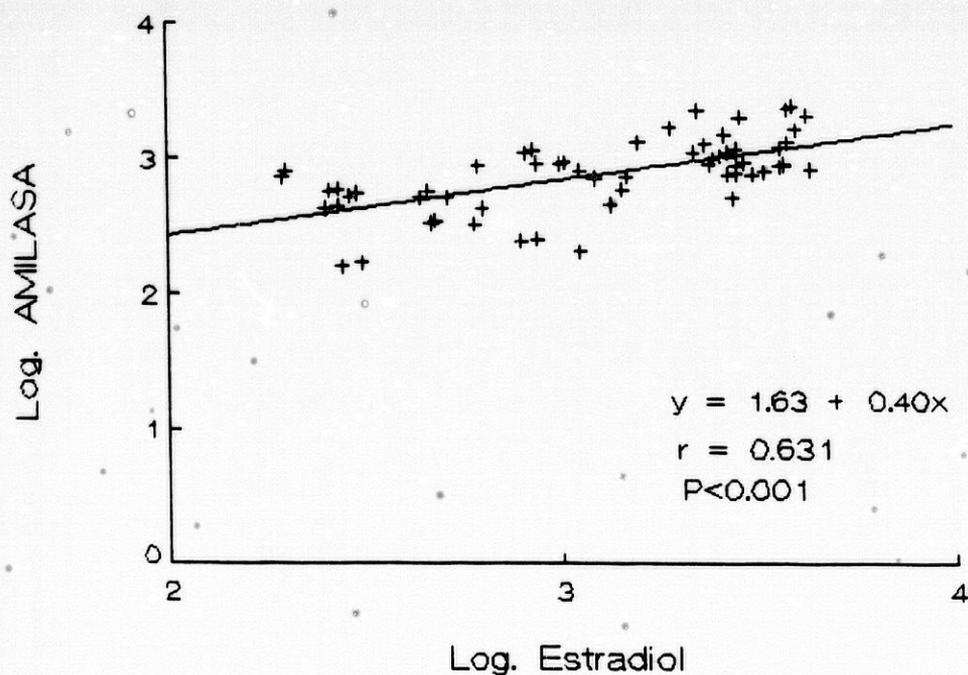
CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE AMILASA Y 17-OH-PROGESTERONA.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 47

CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE AMILASA Y ESTRADIOL.



Ver abreviaturas de gráficas.

CORRELACIONES INTRAQUISTICAS ENTRE LOS DISTINTOS
PARAMETROS ANALIZADOS Y EL COCIENTE K/NA.

Tras el análisis de correlación lineal simple, los parámetros quísticos que presentan una relación positiva con el cociente K/Na intraquístico son: estradiol, testosterona, 17-OH-progesterona, SDHA, FT₃, colesterol total, HDL-C, fosfatasa alcalina y amilasa; mientras que existe correlación negativa con: CA 125, cloro, glucosa, LDL-C y LDH (Tabla XXIX).

El análisis de regresión múltiple paso a paso relaciona los niveles del cociente K/Na en un primer paso con el estradiol ($R^2=0,820$; $F_{exp}=264,3$; g.l.=1,58), y en un segundo con el CA 125 ($R^2=0,881$; $F_{exp}=29,0$; g.l.=2,57), no introduciendo ningún parámetro más al modelo que nos explica la variabilidad de los niveles intraquísticos del cociente K/Na (Tabla XXX; Gráficas 48, 49).

TABLA XXIX

MATRIZ DE COEFICIENTES DE CORRELACION LINEAL SIMPLE DE PEARSON SIGNIFICATIVOS ENTRE EL COCIENTE K/NA Y EL RESTO DE LOS PARAMETROS ESTUDIADOS EN LIQUIDO QUISTICO.

<u>COCIENTE K/NA</u>	
ESTRADIOL	0.906
TESTOSTER.	0.875
17-OH-PG	0.703
SDHA	0.881
FT,	0.831
CA 125	-0.784
CLORO	-0.912
GLUCOSA	-0.894
COLEST.TOT.	0.482
HDL-C	0.659
LDL-C	-0.489
LDH	-0.813
FOSF.ALC.	0.709
AMILASA	0.656

* Ver abreviaturas de tablas.

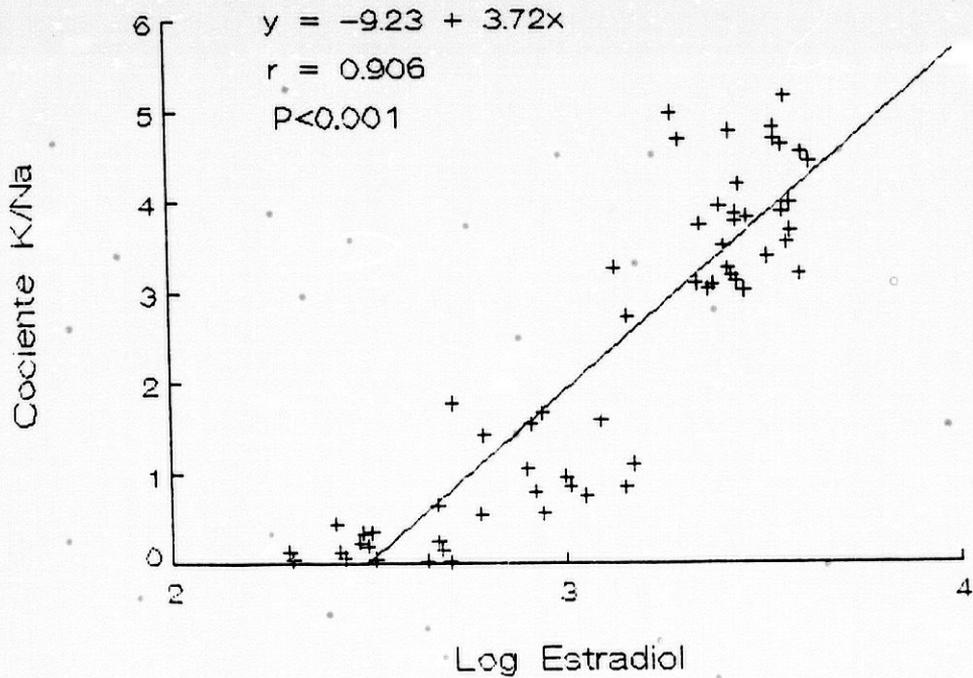
TABLA XXX

REGRESION MULTIPLE PASO A PASO DEL COCIENTE K/NA EN
LIQUIDO QUISTICO FRENTE A LOS DIFERENTES PARAMETROS
ESTUDIADOS.

Paso	Variable	R	R ²	%ΔR ²	F _{exp}	g.l.
1	ESTRADIOL	0,906	0,820	82,0	264,3	1,58
2	CA 125	0,939	0,881	6,1	29,0	2,57

GRAFICA 48

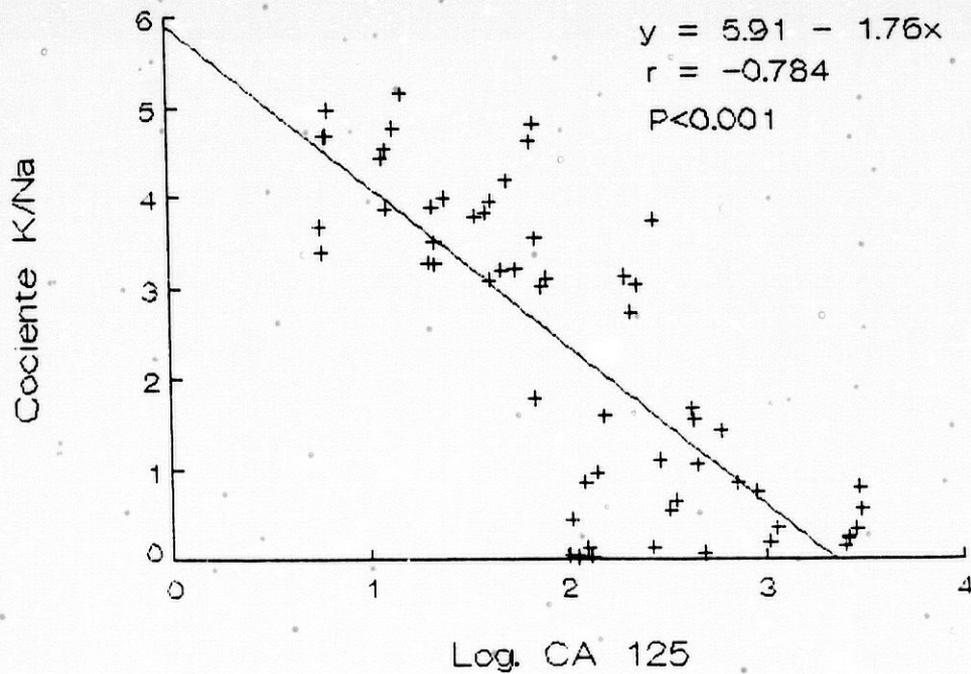
CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE ESTRADIOL Y EL COCIENTE K/NA.



Ver abreviaturas de gráficas.

GRAFICA 49

CORRELACION LINEAL SIMPLE ENTRE LOS VALORES
INTRAQUISTICOS DE CA 125 Y EL COCIENTE K/NA.



Ver abreviaturas de gráficas.

DISCUSSION

La mastopatía fibroquística (M.F.Q.) es la enfermedad mamaria benigna más frecuente. Afecta desde el punto de vista anatomopatológico a más del 50 % de las mujeres (Frantz y cols., 1951; Davis y cols., 1964) y clínicamente al 10-15% del total de la población femenina (Cuzick y cols., 1986), siendo la edad más habitual entre los 40 y 50 años, donde puede llegar a afectar clínicamente al 50% de las mujeres (Dohrman y cols., 1982; Fernández-Cid, 1988). Su frecuencia y la cancerofobia que produce cualquier problema mamario, han hecho que se saturen los consultorios ginecológicos y de patología mamaria, provocando un incremento de las necesidades humanas y económicas. Por otro lado, existen discrepancias sobre la terapia ideal, habiéndose descrito muy distintos tratamientos con resultados dispares (Minton y cols., 1979; Coutinho y Azadian-Boulanger, 1984; Fentiman y Powles, 1987; Fioretti y cols., 1988; Goodwin y cols., 1988; Fournier y cols., 1989; Mansel y Dogliotti, 1990; Andrews, 1990; De Vriese, 1991).

La etiología de la M.F.Q. y el mecanismo de formación de los quistes mamarios permanece oscuro. Se han descrito alteraciones hormonales como la insuficiencia lútea (Sitruk-Ware y cols., 1979; Ayers y Gidwani, 1983; Sitruk-Ware y cols., 1987), no comprobada por otros autores (Read y cols., 1985; Kumar y cols., 1986; Botija y cols., 1986) o la hiperprolac-

tinemia (Brown y cols., 1982; Peters y cols., 1984) como causa de la enfermedad, aunque también han surgido teorías no hormonales (Minton y Abou-Issa, 1989). Ninguna hipótesis ha sido confirmada en su totalidad.

La idea de la dependencia hormonal de la M.F.Q. surge en base a aspectos clínicos como son: la mejoría del proceso al llegar la menopausia (Wisbey y cols., 1983) o al instaurar tratamiento con antiestrógenos (Ricciardi e Ianniruberto, 1979; Loruso y cols., 1982; Pérez-López y cols., 1983), y la aparición del cuadro en mujeres menopausicas sometidas a terapia hormonal sustitutiva (Peck y Lowman, 1978). Ahora bien, no se ha aclarado que hormonas provocan la enfermedad, y si las alteraciones se producen en las fuentes de hormonas (ovario, hipófisis), en el camino de estas hacia el órgano diana, o en los procesos celulares que provocan en dicho órgano (Greenblatt y cols., 1982; Calaf, 1989).

Otro punto no aclarado es la relación entre M.F.Q. y cáncer de mama. Se ha descrito la continuidad entre lesiones benignas mamarias y cáncer (Wellings y cols., 1975, Skjorten y cols., 1991). Diversos autores encuentran un mayor riesgo de desarrollar cáncer en aquellas mujeres que padecen M.F.Q. (Azzopardi, 1979; Cuzick y cols., 1986; Vorherr, 1986; Kelsey y Berkowitz, 1988; Krieger y Hiatt, 1992), aunque el riesgo de malignización no es uniforme para todas las pacientes que padecen la enfermedad, concentrándose en

aquellas mujeres con lesiones epiteliales proliferativas -30% del total de M.F.Q.-, sobre todo si hay atipias celulares -5% de todas las M.F.Q.- (Bäsler, 1985; Dupont y Page, 1985; Page y cols., 1985; Vorherr, 1985; Hutter, 1985; Carter y cols., 1988; Gorins y Kottler, 1991). Un dato a tener presente en la relación entre MFQ y cancer de mama es la dependencia estrogénica de ambos procesos (Jordan, 1976; Pérez-López y cols., 1983; EBCTCG, 1992)

Como hemos visto hasta aquí, el estudio de la M.F.Q. queda justificado no solo por las incógnitas sobre su fisiopatología, tratamiento o cancerización, sino también por los problemas sociales y económicos que conlleva. Antes de introducirnos en el estudio de la M.F.Q. debemos precisar ciertas ideas sobre esta enfermedad.

El quiste mamario es el hallazgo anatómico-patológico fundamental de la M.F.Q., acompañado de otras lesiones: conductos en fondo de saco, metaplasia apocrina, fibrosis, adenosis y epiteliosis (Sandison, 1979; Haagensen, 1987b). Dentro de los quistes es preciso referirse fundamentalmente a los macroquistes, ya que dada su frecuencia constituyen una entidad clínica denominada Enfermedad Macroquística (Fernández Cid, 1988), que incrementa, según algunos autores, el riesgo relativo de padecer cáncer mamario (Harrington y Lesnick, 1980; Jones y Bradbeer, 1980; Hutchinson y

cols., 1980; Roberts y cols., 1984; Haagensen, 1987b).

A la hora de abordar el estudio de la M.F.Q., hay que tener en cuenta que si este proceso es un crecimiento disarmónico del tejido mamario (Weil, 1988), y el crecimiento de un tejido depende de su ambiente local, que regula la proliferación y la diferenciación celular, no sería erróneo pensar que la alteración que induce la aparición de la M.F.Q. se encuentra a nivel local, bien por hiperproducción de hormonas o por una alteración de la receptividad del tejido mamario inducida por factores paracrinos (Jacquemier y Martin, 1990). Esta explicación se reafirma al comprobar la mejoría del cuadro clínico que producen el tratamiento con danazol o bromocriptina, sin que se produzcan cambios en las hormonas séricas, lo que indica una actuación a nivel local (Nezhat y cols., 1980; Mansel y Dogliotti, 1990).

Dada la dificultad de medir la concentración de una sustancia en el tejido mamario, han surgido en la última década trabajos que realizan determinaciones de hormonas y otros parámetros en el líquido contenido en los macroquistes de la M.F.Q., pensando que el ambiente encontrado en este líquido es extrapolable al ambiente local del tejido mamario, fundamentalmente de la unidad ducto-lobular terminal (Bradlow y cols., 1981; Angeli y cols., 1984; Collette y cols., 1986, Dogliotti y cols., 1990). No obstante, para poder extrapolar las

conclusiones de los estudios realizados sobre enfermedad macroquística a la generalidad de la M.F.Q., es necesario comprobar que dichas entidades no difieren en su fisiopatología. Nosotros, no encontramos diferencias en los niveles séricos de los distintos parametros bioquímicos y hormonales estudiados, lo que nos hace pensar junto a otros autores (Rasmussen y Tobiassen, 1984; Vorher, 1986), que la enfermedad macroquística es simplemente una forma avanzada de M.F.Q.

El análisis del líquido de quistes de enfermedad macroquística, ha determinado la existencia de distintos tipos de macroquistes según el patrón electrolítico -relación K/Na- (Miller y cols., 1983; Bradlow y cols., 1986; Angeli y cols., 1990), que definen diferente riesgo de malignización del tejido sobre el que asientan (Skidmore, 1990), afirmándose que el riesgo es mayor cuando en el patrón intraquístico predomina el K (Pye y cols., 1984; Bradlow y cols., 1990; Naldoni y cols., 1990).

Una vez establecida la clasificación de los macroquistes mamarios, y dada la decisiva importancia que el microambiente bioquímico, enzimático y hormonal tiene en el desarrollo de lesiones mamarias, en este trabajo se estudian diferentes características del líquido de macroquistes mamarios, además de los niveles

y correlaciones existentes entre las hormonas que clásicamente se han involucrado en la etiología de la M.F.Q. y otra serie de parámetros bioquímicos, enzimáticos y marcadores tumorales, con el objetivo de profundizar en la fisiopatología de la M.F.Q.

La primera característica estudiada fué la existencia de cambios metaplásicos apocrinos tapizando la pared de los quistes mamarios, ya que su presencia se ha relacionado con un mayor riesgo de padecer cáncer de mama (Haagensen, 1987a; Wellings y Alpers, 1987; Haagensen Jr, 1991), describiéndose una asociación frecuente entre las zonas de hiperplasia y los quistes con revestimiento apocrino (Dixon y cols., 1985a; Toth y cols., 1990; Tavassoli y Norris, 1990).

Aproximadamente el 50% de todas las mamas muestran cambios apocrinos microscópicos (Frantz y cols., 1951; Sloss y cols., 1957; Wellings y Alpers, 1987), elevándose al 85% cuando sólo se analizan las mamas de mujeres con edad comprendida entre 20 y 54 años (Neilsen y cols., 1987). Nosotros encontramos que los cambios apocrinos se presentan con más frecuencia en los quistes con relación $K/Na > 3$, si bien no existe diferencia significativa con los quistes con relación $K/Na < 3$ (Tabla I; Gráfica 1). Aunque experimentos animales y en cultivos celulares de carcinoma humano han demostrado que los procesos secretorios del epitelio apocrino son estimulados por los andrógenos e

inhibidos por los estrógenos (Wales y Ebling, 1971; Simard y cols., 1990), nuestros resultados y los de otros autores (Dixon y cols., 1983a; Boccardo y cols., 1990), sugieren que no bastan los cambios apocrinos para justificar las diferencias existentes en el metabolismo esteroideo de los macroquistes con cociente $K/Na >3$ y <3 .

Como hemos referido anteriormente, la composición del líquido quístico es muy diferente a la existente en plasma (Kelsey y Berkowitz, 1988) tanto en sus niveles hormonales, como en los patrones bioquímicos, lipídicos, enzimáticos y de marcadores tumorales. Pasamos a discutir nuestros resultados sobre estas características de los líquidos de macroquistes mamarios.

I.- AMBIENTE HORMONAL

I.1.- ANDROGENOS.

El hallazgo más relevante al analizar nuestros resultados sobre hormonas en líquido quístico, es el gran aumento de la concentración de SDHA, que supera en más de 50 veces los niveles séricos, circunstancia observada también por otros autores (Bradlow y cols., 1981; Miller y cols., 1983; Dixon y cols., 1985c; Boccuzzi y cols., 1987). El incremento es más marcado en aquellos quistes con relación K/Na >3 (Tabla IV), existiendo diferencia estadísticamente significativa con los quistes con K/Na <3 ($p < 0,0001$).

Además hemos observado que la alta concentración de SDHA no mantiene correlación con los niveles séricos de las mismas pacientes, coincidiendo con lo descrito por otros autores (Scott y cols., 1990), lo que indica una formación intraquística, surgiendo la hipótesis de que es producto de la secreción activa de las células apocrinas que tapizan los quistes (Wales y Ebling, 1971; Labows y cols., 1979).

En nuestro estudio se aprecia que otros andrógenos como la testosterona, se encuentran más elevados en líquido quístico [$1,84 \pm 1,14$ ng/ml.] que en suero [$0,48 \pm 0,2$ ng/ml.], y que al igual que el SDHA están en concentraciones más altas en los quistes con cociente K/Na >3 [$2,76 \pm 0,8$ ng/ml.] (Belanger y cols.,

1990a; Secreto y cols., 1991). Teniendo en cuenta estos resultados, y dada la estrecha correlación entre los niveles de SDHA y testosterona observada por nosotros (Gráfica 10), parece confirmarse la hipótesis sugerida por diversos autores sobre la posibilidad de que los altos niveles de testosterona derivan del metabolismo del SDHA vía 17 β - α 1 deshidrogenasa (Miller y cols., 1973; Secreto y cols., 1990).

Bien "per se" o por transformación a estrógenos tras un proceso de aromatización a nivel local (Secreto y cols., 1984; Secreto y cols., 1990), como se puede pensar al encontrar correlación positiva entre SDHA y Estrona-sulfato (Miller y cols., 1990), los andrógenos pueden provocar proliferación epitelial. Se ha confirmado que los andrógenos estimulan la secreción por parte del epitelio apocrino, como se demuestra al administrar andrógenos sintéticos y comprobar el aumento sérico de GCDFP-15, proteína específica del epitelio apocrino (Dilley y cols., 1983; Haagensen Jr y cols., 1990). Además, producen "in vitro" un aumento en la multiplicación de células cancerosas con RE+ (Najid y Habrioux, 1990); también se ha descrito un aumento significativo de testosterona en fluido quístico de pacientes que padecen cáncer de mama (Hill y cols., 1983) y niveles urinarios elevados de la misma hormona han sido relacionados con el grado de hiperplasia de la M.F.Q. (Grattarola, 1978). Los resultados

obtenidos por nosotros y los hallazgos descritos, parecen confirmar la hipótesis de que los andrógenos intervienen en el control de las hormonas esteroideas a nivel mamario, y que tasas elevadas de andrógenos en líquido quístico pueden favorecer la metaplasia apocrina y la proliferación del tejido mamario (Secreto y cols., 1990).

I.2.- ESTROGENOS.

Observamos que en líquido quístico existe un aumento de estradiol total de hasta 15 veces con respecto al suero de las mismas pacientes [1.820 ± 1.316 pg/ml. vs. $103,6 \pm 66,5$ pg/ml.], confirmando los estudios de Schurz y cols. (1991). Además, se ha descrito un aumento intraquístico de otras formas estrogénicas: estradiol libre (Lai y cols., 1990b), estrona libre y sulfatada (Bradlow y cols., 1981) y estriol libre y sulfatado (Raju y cols., 1977; Vizoso y cols., 1990b). Las concentraciones de los estrógenos se encuentran aumentadas en los quistes con altos niveles de K (Raju y cols., 1985; Orlandi y cols., 1990; Szamel, 1990; Vizoso y cols., 1990b), predominando en este mismo tipo de quiste las formas libres sobre las sulfatadas (Castagnetta y cols., 1990). En nuestro estudio se describe un aumento significativo ($p < 0,0001$) de estradiol intraquístico en aquellos quistes con relación K/Na > 3 (Tabla IV; Gráfica 2)).

Los altos niveles de estrógenos encontrados en líquido quístico no provienen de la sangre, pues no hay correlación entre las concentraciones intraquística y sérica, mientras que si existe correlación positiva entre los estrógenos y los andrógenos intraquísticos -SDHA y testosterona-, como han observado otros autores (Scott y cols., 1990; Orlandi y cols., 1990). La estrecha relación observada en nuestro estudio entre los niveles de estradiol y los de SDHA (Gráfica 8), sugieren una transformación intraquística a partir de dicho andrógeno (Raju y cols., 1987) probablemente mediante un proceso de aromatización similar al que ocurre en el tejido periférico -grasa- (MacDonald y cols., 1978; O'Neill y cols., 1987).

Mediante análisis de regresión múltiple hemos observado que el cociente K/Na del líquido quístico se relaciona directamente con los niveles de estradiol intraquísticos (Tabla XXX; Gráfica 48). Dado que el riesgo de malignización de la mama afecta de enfermedad macroquística se ha asociado en parte con la relación K/Na intraquístico (Pye y cols., 1984; Bradlow y cols., 1990; Naldoni y cols., 1990), y ésta se relaciona íntimamente con los niveles de estradiol, sería en último término el estradiol o derivados estrogénicos formados localmente: estrona y metabolitos -estrona sulfatada, 16- α -hidroxiestrona- (Bonney y cols., 1983; Orlandi y cols., 1990), o sus precursores -andrógenos- (Secreto y cols., 1990) los iniciadores de un posible

proceso mamario proliferativo. El efecto proliferativo y carcinogénico "in vivo" de los estrógenos, se ha sugerido, al describirse cáncer de mama en dos transexuales que habían recibido tratamiento con esta hormona típicamente femenina (Symmers y cols., 1968).

Los estrógenos producen aumento de la actividad celular "per se" (Lippman y cols., 1976) y/o a través de los factores de crecimiento, favoreciendo la producción de factores proliferativos -EGF, TGF- α - y de sus receptores (Mukku y Stancel, 1985), además de frenar la secreción de factores antiproliferativos - TGF- β - (Lippman y cols., 1986; Houdebine, 1990). También se ha sugerido que el estradiol y los factores de crecimiento pueden actuar a través de la interacción con protooncogenes del tipo c-myc y c-fos (Wilding y cols., 1988), al comprobarse que el estradiol aumenta el RNAm de ambos protooncogenes, mientras que los antiestrógenos y la progesterona anulan éste efecto (Murphy y cols., 1987; Gompel y cols., 1990).

Un factor limitante de la actividad hormonal a nivel local es la presencia de receptores para la hormona en cuestión. Se ha descrito la presencia de niveles elevados de receptores esteroideos en tejido de M.F.Q. (Leclerq y cols., 1975; Kouyoumdjian y cols., 1986; Monsonego y cols., 1991), información no confirmada por todos los autores (Nardelli y cols., 1987).

I.3.- GESTAGENOS.

A diferencia de Bradlow y cols. (1981), que no encuentran diferencias con el suero, apreciamos un aumento significativo de progesterona en líquido quístico con relación a los niveles séricos de las mismas mujeres [47,6 ± 23,1 ng/ml. vs. 5 ± 3,5 ng/ml.], confirmando los resultados de De Boever y cols. (1983) y Schurz y cols. (1991). Las discrepancias con Bradlow pueden ser debidas a la técnica usada por este autor, con multiples diluciones que aumentaron el error inter e intraensayo.

La elevación de progesterona no se influye por el patrón electrolítico -K/Na- intraquístico (Tabla IV, Gráfica 3), lo que sugiere al relacionar los niveles de progesterona y estradiol, que en los quistes con patrón K/Na >3 existe un hiperestronismo absoluto y relativo. Además, como se sabe, los estrógenos inducen receptores para progesterona, la cual limita la cantidad de receptores de estrógenos y de progesterona. Si los niveles de progesterona son insuficientes, como ocurre en los quistes con relación K/NA >3, la receptividad tisular, en términos de receptores de estrógenos a cubrir será mayor.

Clásicamente se ha dicho que la progesterona tiene una acción antimitótica, antagonizando el efecto de los estrógenos a nivel ductal, y sinérgica con los estró-

genos sobre el epitelio lobular (Botija y cols., 1986; Colin, 1991). Estudios "in vitro" muestran que la progesterona disminuye la actividad mitótica de las células epiteliales mamarias normales (Gompel y cols., 1986), e inhibe parcialmente la respuesta proliferativa inducida por estrógenos en diversas líneas celulares de cáncer de mama (Clarke y Sutherland, 1990). Sin embargo los estudios "in vivo" son contradictorios, habiéndose descrito por algunos autores un aumento de la actividad mitótica en las células mamarias, con incremento de la síntesis de ADN (Meyer, 1977), en la segunda fase del ciclo menstrual, en los días en que coincide el pico de progesterona con el segundo pico de estradiol (Ferguson y Anderson, 1981; Longacre y Bartow, 1986; Going y cols., 1988). Estos datos hacen pensar que niveles elevados de progesterona junto a concentraciones elevadas de estrógenos pueden provocar un efecto proliferativo mayor que los estrógenos solos. Trabajos realizados en mujeres menopáusicas sometidas a terapia hormonal sustitutiva indican esta posibilidad, al describir que la asociación de progestinas incrementa el riesgo de cáncer de mama (Bergkvist y cols., 1989), si bien esta relación no está confirmada por otros autores (Gambrel Jr, 1990; Stafa y cols., 1992).

Nuestros resultados demuestran que existen concentraciones elevadas de 17-OH-progesterona en líquido quístico, fundamentalmente en aquellos quistes donde

predomina el K (Tabla III y IV, Gráfica 5). Dado que Belanger y cols. (1990b) demostraron que la pregnenolona es uno de los progestágenos predominantes en líquido quístico, se podría pensar que los altos niveles de 17-OH-progesterona se forman a partir de la progesterona por un lado, y a través del metabolismo de la pregnenolona vía 17-OH-pregnenolona por otro, lo que determinaría presencia de actividad 3 β -ol-deshidrogenasa e isomerasa, aunque esta hipótesis no está confirmada en tejido mamario benigno.

El hecho de que el patrón electrolítico no influya en la concentración de progesterona y sí en los niveles de 17-OH-progesterona, como demuestran nuestros resultados, y en los de pregnenolona (Belanger y cols., 1990b), parece indicar un cierto bloqueo de la enzima 17-hidroxilasa en los quistes con K/Na <3.

Según lo dicho hasta ahora, podemos pensar que tanto los niveles elevados de hormonas, como las correlaciones descritas, nos indican la existencia de un metabolismo quístico en el que existe un incremento de la formación de estrógenos previo paso por andrógenos (Miller y cols., 1990; Scott y cols., 1990; Orlandi y cols., 1990), predominando fundamentalmente las formas hormonales libres (Bradlow y cols., 1981; Rosner y cols., 1985; Angeli y cols., 1987). El estado de hiperestronismo que se produce es mayor en los quistes con

cociente K/Na >3, en los cuales la existencia de una menor concentración de progesterona potenciará el efecto estrogénico, que puede provocar un aumento de la proliferación epitelial mamaria (Vorher, 1986).

I.4.- CORTISOL.

En diferentes modelos animales y humanos se ha demostrado que el cortisol regula el crecimiento y desarrollo de tejidos que sintetizan hormonas esteroideas (Ben-Rafael y cols., 1988).

Nosotros encontramos en líquido quístico una disminución significativa del cortisol con respecto a su concentración sérica [10.5 ± 4.7 ng/ml. vs. 118 ± 42 ng/ml.], independientemente del patrón electrolítico intraquístico (Tabla IV). Al igual que Schurz y cols., (1991) no observamos relación entre los niveles intraquísticos y los valores sanguíneos encontrados en las mismas enfermas.

Los bajos niveles de cortisol descritos, junto con el aumento de 17-OH-progesterona pueden indicar la existencia de un déficit en líquido quístico de las enzimas 21-hidroxilasa y/o 11 β -hidroxilasa. También podría ser debido a que dados los altos niveles de otras hormonas esteroideas, estas desplazarán al cortisol de su unión con su proteína transportadora y al quedarse libre difundiera rápidamente al tejido

adyacente (Ben-Rafael y cols., 1988). Similares circunstancias se han descrito en fluidos biológicos con una elevada concentración de hormonas esteroideas (Jimena y cols., 1992a). No obstante, y dado que en líquido quístico existe una baja concentración de proteínas transportadoras de esteroides (Frairia y cols., 1983), la última hipótesis parece descartada.

I.5.- HORMONAS HIPOFISARIAS (FSH, LH, PROLACTINA).

En los quistes mamarios parece existir un transporte pasivo de las hormonas hipofisarias estudiadas -FSH, LH, PRL-, desde la sangre al líquido quístico, como se desprende de los bajos niveles intraquísticos encontrados con relación al plasma y de la correlación positiva entre valores séricos y quísticos observada por nosotros y otros autores (Angeli y cols., 1984; Abney y cols., 1988; Schurz y cols., 1991), independientemente del tipo de quiste (Tablas VII y VIII).

La importancia de la PRL en el desarrollo de M.F.Q. ha sido referida en estudios "in vitro", en los que se ha apreciado un aumento en el crecimiento de las células de algunas M.F.Q. al incubarlas con PRL (Salle y cols., 1991), mientras que "in vivo", en monos, disminuye la incidencia de preneoplasias, hiperplasias y se desacelera la progresión de las neoplasias

mamaria cuando se suprime la secreción de PRL (Welsch y Nagasawa, 1977). También se ha descrito una acción reguladora dispar de esta hormona sobre el balance hidroelectrolítico (Kumar y cols., 1984), cuya alteración se ha descrito como causa de la mastalgia que caracteriza la M.F.Q.

No hay que olvidar que más que la cantidad de hormona existente, debe de valorarse su actividad biológica, por aumento de la actividad de la hormona o por sensibilización del tejido mamario. Esto ha sido confirmado por Rose y cols. (1987) que describen un incremento de dicha actividad en la PRL encontrada en líquido quístico.

I.6.- HORMONAS TIROIDEAS.

Se ha descrito que la administración de tiroxina estimula la división celular mamaria, siendo esta mayor en los casos en que están los estrógenos presentes (McManus y Welsch, 1984). Clásicamente se ha involucrado a las hormonas tiroideas en la producción de patología mamaria benigna y maligna (Adamopoulos y cols., 1986), afirmándose que sensibilizarían anormalmente el tejido mamario para la acción de los estrógenos (Vorherr, 1986), o de la prolactina (Bhattacharya y Vonderhaar, 1979). Los datos sobre los niveles séricos de hormonas tiroideas encontrados en patología mamaria son contradictorios (Gorman y cols., 1977;

Miccoli y cols., 1987), habiéndose sugerido que serían cambios en el metabolismo tiroideo a nivel periférico los que podrían explicar la diferente actividad mamaria descrita (Adami y cols., 1978).

Los niveles de FT₃, fracción libre de la T₃, dependen en un 80% de su formación a nivel tisular a partir de la T₄, y son los que desarrollan la principal actividad biológica. Al igual que Angeli y cols. (1984) encontramos en líquido quístico un aumento significativo de FT₃, sobre todo en los quistes con relación K/Na >3 (Tabla XII). El resto de las hormonas tiroideas estudiadas -FT₃, T₄, TSH- se encuentran disminuidas con respecto al suero. Estos resultados concuerdan con los de otros autores (Angeli y cols., 1984; Cupceancu y cols., 1987), excepto los niveles de FT₃ que han sido encontrados elevados en líquido quístico por Angeli y cols. (1984); la distinta técnica usada para su medición -cromatografía- podría justificar la discordancia descrita.

La TSH, al igual que el resto de las hormonas hipofisarias estudiadas hasta ahora, mantiene correlación positiva con los niveles séricos, lo que indica un probable paso desde la sangre al interior del quiste.

La hormona tiroidea más importante a nivel local es la FT₃, que mantiene correlación positiva con

estradiol, testosterona, 17-OH-progesterona y SDHA (Tabla V), aunque en el análisis de regresión múltiple paso a paso la única hormona que incide en la variabilidad de sus valores es el estradiol (Gráfica 18). Este último dato relaciona la actividad de ambas hormonas sobre el tejido mamario, sin que pueda afirmarse que la FT, actúe potenciando la acción de los estrógenos o de cualquier otra hormona sobre el epitelio mamario (Angeli y cols., 1987). Sin embargo, al haberse descrito receptores para las hormonas tiroideas en células mamarias neoplásicas (Carbon y cols., 1981) y normales (Hayden y Forsyth, 1977) puede indicarse una posible acción directa de las hormonas tiroideas sobre el tejido mamario.

Como hemos dicho con anterioridad, en los quistes de la enfermedad macroquística, existe un incremento del metabolismo esteroideo que determina un estado de hiperestronismo. Este estado hormonal provoca proliferación epitelial mamaria (Vorher, 1986), que puede potenciarse por los altos niveles de hormonas tiroideas libres (McManus y Welsch, 1984), lo que conllevaría un mayor número de células en división, más vulnerables a agentes carcinogénicos y a errores de replicación (Kuttann, 1990). Los procesos descritos son más importantes en los líquidos quísticos con cociente K/Na >3, donde la concentración de andrógenos, estrógenos y FT, es significativamente más elevada que en los quistes con relación K/Na <3. Esta hipótesis es compatible con

la observación clínica de que es en los quistes con altos niveles de K donde se ha encontrado mayor proporción de malignización (Bradlow y cols., 1990; Naldoni y cols., 1990)

II.- MARCADORES TUMORALES.

Los marcadores tumorales se definen como aquella sustancia cuya presencia en sangre guarda relación e informa de patología tumoral (Kvinnskans, 1991). Hemos estudiado diversos marcadores tumorales en líquido quístico, no encontrando relación en ninguno de ellos entre los niveles intraquísticos y sus respectivos niveles séricos.

El CA 125 es un antígeno presente en la superficie celular del epitelio celómico fetal y en los órganos derivados de este epitelio en el adulto, que se eleva en procesos malignos: adenocarcinoma de ovario (Neunteufel y Breitnecker, 1989; Herruzo, 1990); benignos sin dependencia hormonal: enfermedad inflamatoria pélvica (Halila y cols., 1986; Mozas, 1991); y benignos con dependencia estrogénica: endometriosis, miomatosis uterina y menstruación (Barbieri y cols., 1986; Acien y cols., 1988). Además, se ha descrito aumento de CA 125 en órganos donde la acción esteroidea es fundamental, como las células del estroma endometrial humano en cultivo (Birschoff y cols., 1986), y en líquido folicu-

lar ovárico (Mordel y cols., 1992; Jimena y cols., 1992b).

En nuestro estudio se aprecia que los niveles de CA 125 son mayores en líquido quístico que en suero [459,8 ± 836 U/ml. vs. 19,5 ± 8,5 U/ml.], coincidiendo con otros autores (Dogliotti y cols., 1986). Encontramos al igual que Angeli y cols., (1987), que esta diferencia entre suero y líquido, solo es significativa en los quistes con relación K/Na <3 (Tabla XV). El origen y el significado de la alta concentración de CA 125 en los quistes con bajo K es desconocida (Inaudi y cols., 1990).

El análisis de regresión múltiple paso a paso indica que son el estradiol en un primer paso, y la 17-OH-progesterona en un segundo paso, las sustancias que más influyen en los niveles de CA 125 intraquísticos. Esto puede indicar que al contrario que en otros fluidos con niveles altos de esteroides -líquido folicular ovárico- (Jimena y cols., 1992b), en líquido quístico la concentración de CA 125 tiene cierta dependencia hormonal.

El CA 15.3 es una glicoproteína de alto peso molecular tipo mucina. Se ha descrito su elevación sérica en patología mamaria no neoplásica (Ruibal y cols., 1986). La acción biológica de este marcador es desconocida, aunque se ha sugerido su participación como modulador del sistema inmune, protegiendo las

células epiteliales de acciones citotóxicas (Hayes y cols., 1990).

No encontramos diferencias entre los niveles séricos y quísticos de CA 15.3 en pacientes que padecen enfermedad macroquística mamaria, independientemente del patrón K/Na. Nuestros resultados no confirman lo descrito por otros autores, que refieren aumento de los niveles de CA 15.3 en líquido quístico (Inaudi y cols., 1990), fundamentalmente en los quistes con alta concentración de K (Vizoso y cols., 1989). La presencia intraquística del marcador es justificada por algunos autores por la destrucción de células de revestimiento, ya que el CA 15.3 se encuentra en el borde apical de las células epiteliales secretorias mamarias (Sekine y cols., 1985). Según nuestros resultados podemos pensar que o bien no hay mayor destrucción celular en los quistes con altos niveles de K intraquísticos, o las células secretorias de los macroquistes no contienen este antígeno, teorías aún sin confirmar.

Los estudios sobre antígeno carcinoembrionario (CEA) en biopsias mamarias demuestran que un 64% de las muestras tisulares de mastopatía benigna contienen CEA (Fentiman y Wang, 1987). Además, ha sido publicada la presencia de CEA en fluidos orgánicos con concentraciones elevadas de esteroides, como es el caso del líquido folicular ovárico (Jimena y cols., 1992b). En líquido quístico mamario, el CEA está presente y

elevado significativamente sobre los niveles séricos de las mismas mujeres, resultados que son confirmados por otros autores (Molina y cols., 1985; Bradlow y cols., 1986; Angeli y cols., 1987). Se desconoce la causa de esta elevación o el significado biológico (Molina y cols., 1985; Angeli y cols., 1987). Podría explicarse según Gold y cols. (1978) por la existencia de antígenos que reaccionan de forma cruzada con el CEA; lo que hace pensar en la existencia de diferentes moléculas similares al CEA, que dificultarían su medición y complicarían la explicación de su existencia en un tejido determinado. Los problemas de purificación y caracterización del CEA y los antígenos relacionados con él se mantienen aún (Statland y Winkel, 1986), por lo que su sensibilidad es menor que la de otros marcadores (Monreal y cols., 1992).

Coincidiendo con Bradlow y cols. (1986), encontramos que los niveles más elevados de CEA se observan en los quistes con relación K/Na < 3 -Tabla XV, Gráfica 21-. En tejido tumoral el CEA se correlaciona inversamente con la concentración de receptores estrogénicos (Hartfield y cols., 1985; Podhajcer y cols., 1986), y como sabemos los receptores de estrógenos están modulados por los niveles de estradiol y progesterona. Hemos demostrado que en los quistes con relación K/Na > 3 existe un hiperestronismo absoluto y relativo, lo que hace pensar que deban de existir más receptores de estrógenos que cuando el cociente K/Na < 3 . Podemos

pensar que también en la enfermedad macroquística el CEA pueda servir de referencia para valorar indirectamente los niveles de receptores estrogénicos.

La concentración de β -HCG sérica es un marcador tumoral muy sensible de la enfermedad trofoblástica, aunque también existe aumento de sus niveles sanguíneos en otros tumores de origen ginecológico (Rutanen y Seppälä, 1978). Por otra parte se ha demostrado su presencia en la superficie y en el citoplasma de células de cáncer de mama (Castro y cols., 1980) y en diversos tejidos humanos normales (Yoshimoto y cols., 1979).

En líquido quístico encontramos, al igual que otros autores (Bradlow y cols., 1986; Abney y cols., 1988; Troccoli y cols., 1990), niveles aumentados con relación al suero del marcador trofoblástico β -HCG, independientemente del patrón electrolítico -Tabla XIV y XV; Gráfica 22-. El origen de estos altos niveles y su función biológica es desconocido. Se ha publicado que la alta concentración de β -HCG intraquística expresa un aumento de producción por las células quísticas de glicoproteínas y hormonas (Abney y cols., 1988; Troccoli y cols., 1990). La β -HCG tiene la capacidad de interferir en alguna vía metabólica esteroidea, como ha sido descrita por Jaffe y cols. (1988) en el testículo fetal de primates, donde la β -HCG actúa sobre las células de Leydig estimulando la producción de

testosterona.

La β -HCG inhibe in vitro la transformación linfocítica (Caldwell y cols., 1975), lo que lleva a pensar que las altas concentraciones del marcador intervienen en la respuesta inmunitaria, provocando una disminución de dicha respuesta (Horne y cols., 1976) y alterando el pronóstico de las lesiones mamarias (Castro y cols., 1980).

Otro marcador de origen embrionario, como es la α -fetoproteína, se ha sugerido que interviene en el metabolismo esteroideo y en fenómenos de inmunosupresión (Herruzo, 1990). En experimentación animal hay constancia que interviene en la regulación del crecimiento uterino de la rata (Mizejewski y Warner, 1989) y puede actuar de manera sinérgica con los factores de crecimiento en el folículo ovárico porcino, provocando un aumento de las células de la granulosa (Keel y cols., 1991). Su presencia también se ha descrito en el líquido folicular humano, que como sabemos es rico en esteroides (Jimena y cols., 1992b). En líquido quístico de enfermedad macroquística se encuentra en cantidades indetectables (Tabla XV; Gráfica 23). Esta baja concentración podría tener su origen en el efecto inhibitorio que ejercen algunos esteroides sobre la síntesis y metabolismo de la α -fetoproteína en determinados sistemas -hepático- (Lui y cols., 1991).

Los estudios que hemos realizado sobre marcadores tumorales nos muestran que el único que es capaz de mostrar diferencias entre los líquidos de macroquistes mamarios, es el CA 125. Por otro lado sabemos que este marcador mantiene correlación negativa con los niveles de K/Na, datos que corroboran los de Angeli y cols. (1987). Además, es el único marcador que expresa relación directa con las hormonas esteroideas. Estas circunstancias nos confirman que los dos tipos distintos de quistes existentes, con diferente estado hormonal y diferente pronóstico, pueden ser evaluados con la medición, entre otros parámetros, de los valores intraquísticos de CA 125.

III.- PERFIL LIPIDICO.

El colesterol es el substrato fundamental en la esteroidogénesis (Bolte y cols., 1974). Se obtiene, entre otras vías, a partir de las lipoproteínas circulantes, existiendo en muchas de las células capaces de sintetizar esteroides receptores celulares de superficie para las apolipoproteínas (Gwynne y Straus, 1982).

En nuestro estudio hemos comprobado que la concentración de colesterol total existente a nivel intraquístico es muy superior a los niveles séricos [625,7 ± 207,2 mg/dl. vs. 168,5 ± 25,9 mg/dl.), resultados que concuerdan con los publicados por otros autores

(Abramson, 1974; Petrakis y cols., 1981; Herranz, 1982). La existencia de correlación positiva en el análisis de regresión múltiple, entre colesterol total y 17-OH-progesterona parece reafirmar la hipótesis anteriormente reseñada del aumento del metabolismo intraquístico, con aumento de andrógenos y estrógenos vía: colesterol - pregnenolona - 17-OH-pregnenolona - 17-OH-progesterona - androstendiona.

Encontramos diferencias en las fracciones del colesterol según el patrón K/Na, ya que si bien predomina el HDL-C en todos los líquidos quísticos, en los quistes con menos esteroidogénesis -relación K/Na <3-, existe más LDL-C que en los quistes de mayor metabolismo esteroideogénico -K/Na >3- (Tabla XIX). Las bajas concentraciones de LDL-C en los quistes con altas concentraciones de K pueden reflejar una elevada utilización de estas lipoproteínas para la esteroidogénesis intraquística, no obstante si esta hipótesis fuera cierta, cabría haber esperado encontrar unos niveles de LDL-C mucho más altos de los observados en quistes con bajo nivel de K, que tienen una actividad esteroidogénica menor, y por tanto el LDL-C debería ser superior al HDL-C, lo cual como hemos comentado anteriormente no ocurre. Las diferencias reseñadas también pueden justificarse por el alto peso molecular del LDL-C respecto al HDL-C, el cual le impediría atravesar la pared quística, ya que las células que forman la pared de los quistes con relación K/Na >3 tienen sus uniones

celulares cerradas, frente a los quistes con relación <3 que las tienen abiertas (Bradlow y cols., 1990). Por último, también puede suceder que los altos niveles de HDL-C inhiban el transporte intraquístico del LDL-C, circunstancia descrita en otros fluidos orgánicos (Rajendran y cols., 1983).

La abundancia de HDL-C en líquido quístico nos hace pensar que el HDL-C se utilice como sustrato para la esteroidogénesis local, circunstancia descrita a nivel ovárico (Simpson y cols., 1980; Strauss y cols., 1981; Molina, 1989; Shi y cols., 1992).

Los niveles elevados de HDL-C en líquido quístico, deberían asociarse con un incremento de las apolipoproteínas correspondientes. Esto ha sido demostrado por Balbín y cols. (1990), los cuales observaron una altísima concentración de Apo D, la cual corresponde con la fracción HDL-C.

En el análisis de regresión múltiple paso a paso demostramos que la única variable intraquística que explica positivamente los niveles de HDL-C (Gráfica 32) y negativamente los de LDL-C es el estradiol (Gráfica 33), lo que parece indicar que existe relación entre estas subfracciones del colesterol y los niveles de estradiol intraquístico. Pensamos que en la enfermedad macroquística, la esteroidogénesis se produce fundamentalmente a partir del HDL-C, que se encuentra elevado en líquido quístico por un aumento de su paso a través de la pared del quiste, favorecido por ser una lipo-

proteína de bajo peso molecular. Además, estos resultados sugieren una diferente arquitectura de la pared quística en función de la unión de sus células.

El resto de los lípidos analizados en este trabajo: Triglicéridos y VLDL-C, se encuentran a menor concentración en líquido quístico que en suero, lo que nos hace pensar en un paso desde el tejido periquístico al líquido. Los triglicéridos han sido descritos elevados por Wynder y Hill (1977) en fluido mamario, obtenido a nivel ductal. El distinto origen del líquido analizado puede justificar la diferente concentración.

IV.- PARAMETROS BIOQUIMICOS.

El cloro es el principal anión del líquido extracelular. Junto al K y Na, es uno de los electrólitos que diferencian los distintos tipos de macroquiste, siendo sus niveles intraquísticos parejos a los de Na (Bradlow y cols., 1983; Bradlow y cols., 1986; Angeli y cols., 1990). En nuestro estudio confirmamos lo dicho anteriormente al encontrar una concentración de cloro intraquístico menor que la existente a nivel sérico [$50,4 \pm 36,1$ mEq/l. vs. $100,1 \pm 17,2$ mEq/l.], y que mantiene una correlación directa y positiva con la concentración de Na (Tabla XXIX). Esta relación cloro-sodio se debe a que el cloro sigue pasivamente en el organismo los movimientos del Na, que es regulado por

la bomba NA-K-ATPasa.

La glucosa es fundamental en la producción de energía. Encontramos en líquido quístico niveles disminuidos con respecto al suero, siendo sus concentraciones más bajas cuando el patrón K/Na >3 ; resultados que coinciden con los descritos en la literatura (Molina y cols., 1985). La glucosa difunde a través de las membranas biológicas a favor de gradiente, por un mecanismo de transporte facilitado; lo que en el quiste de mama provoca un paso desde el suero hacia el líquido quístico. El hecho de que esté significativamente disminuida en los quistes con altos niveles de K se puede deber a un mayor consumo, para aumentar la bio-disponibilidad energética en los quistes con mayor actividad metabólica.

Las hormonas son transportadas en el organismo principalmente por proteínas transportadoras y por la albúmina (Speroff y cols., 1986).

En líquido quístico encontramos una concentración proteica que es un tercio de la obtenida en suero - Tabla XXII; Gráfica 37-, coincidiendo con los datos descritos por otros autores (Herranz 1982; Bradlow y cols., 1986; Molina y cols., 1990). Molina y cols. (1990) observan que la albúmina está a unos niveles 25 a 100 veces menores en líquido quístico que en plasma. Bradlow y cols. (1981) y Angeli y cols. (1987) comprueban que todas las proteínas transportadoras de hormonas

están en líquido quístico muy por debajo de los niveles séricos, sobre todo en los quistes con alta concentración de K (Rosner y cols., 1985), que como hemos visto antes son los que más cantidad de hormonas -andrógenos y estrógenos- tienen.

Los hallazgos anteriores significan que la mayor parte de las hormonas intraquísticas están en forma libre, sobre todo en los quistes con patrón K/Na >3, que como hemos visto son los que tienen la mayor concentración de hormonas esteroideas, lo que facilitará su acción biológica (Rosner y cols., 1985). Este hecho viene a resaltar la importancia del hiperestronismo existente en los líquidos quísticos con cociente K/Na >3, y a reafirmar la existencia de diferentes tipos de quistes, en función de su fisiopatología.

V.- ENZIMAS.

Algunas enzimas -GGT, Fosfatasa Alcalina, LDH- han sido utilizadas como marcadores tumorales inespecíficos (Statland y Winkel, 1986). En líquido quístico existe un aumento de diversas enzimas, estando en discusión su origen (Abranson, 1974; Schwatz y cols., 1976).

En nuestro estudio observamos un incremento de los niveles de GGT con respecto al suero, confirmando lo publicado por otros autores (Biagioni y cols., 1985;

Bradlow y cols., 1986). Biagioni y cols. (1985) indican que la alta concentración de GGT se produce por paso desde el plasma y por producción local incrementada.

Otra enzima que hemos encontrado elevada en todos los líquidos quísticos es la amilasa (Tabla XXVII), coincidiendo con los hallazgos de Molina y cols. (1985) y Bradlow y cols. (1986), predominando de forma significativa en los quistes con altos niveles de K (Bradlow y cols., 1990). El estudio de isoamilasas realizado por Molina y cols. (1985) indica que estas tienen el mismo patrón en líquido quístico que en la leche, por lo que hay que pensar en un origen secretorio de la misma. La amilasa mantiene una correlación positiva intraquística con diversas hormonas estudiadas en líquido quístico, pero son 17-OH-progesterona y estradiol las dos hormonas que influyen decisivamente en los niveles intraquísticos de amilasa. Los datos anteriores revelan la existencia de dependencia hormonal sobre la secreción del epitelio quístico, confirmando la idea expuesta por Hughes y Bundred (1989).

La LDH cataliza las reacciones de óxido-reducción en la glucólisis anaeróbica, estando presente en numerosos tejidos. Hemos apreciado un aumento de LDH en los quistes con relación $K/Na < 3$ y una disminución cuando este cociente es mayor de 3, resultados que confirman los descritos por Bradlow y cols. (1990). La

baja concentración de esta enzima, típicamente citoplasmática, en los quistes con altos niveles de K, pone en tela de juicio la idea de la necrosis celular para justificar las concentraciones de enzimas y de electrólitos.

La Fosfatasa Alcalina es una enzima que a nivel sérico se encuentra elevada en el 9% de mujeres con alguna enfermedad ginecológica benigna (Statland y Winkel, 1986). Identificada en la mayor parte de los tejidos, se localiza usualmente en las membranas celulares. En líquido quístico mamario encontramos una concentración de fosfatasa alcalina muy disminuida en los quistes con K/Na <3, no alterándose si predomina el K (Tabla XXVII; Gráfica 41); resultados parecidos son obtenidos por Herranz (1982).

Existen discrepancias sobre el origen de las enzimas estudiadas en el líquido quístico, discutiéndose si provienen de la secreción por parte del epitelio quístico (Abranson, 1974) o de la necrosis de las células de revestimiento de la pared quística (Schwartz y cols., 1976).

El estudio de isoamilasas descrito anteriormente y el hecho de que sean las hormonas esteroideas las que expliquen las concentraciones de amilasa, LDH y fosfatasa alcalina, en los estudios de regresión múltiple, puede llevarnos a pensar que las enzimas son producto

fundamentalmente de la secreción por parte del epitelio quístico, lo que confirma la idea de las diferencias fundamentales en la fisiopatología de los macroquistes, ya que en aquellos con cociente $K/Na > 3$, es donde existe más amilasa, lo que justifica el origen secretorio, y menos LDH, que refuta la idea de la necrosis celular.

VI.- CONSIDERACIONES FINALES.

Chasalow y Bradlow (1990) explican la diferencia electrolítica de los quistes al describir una serie de sustancias, entre las que se encuentran esteroides libres y sulfatados, que son capaces de provocar un bloqueo de la bomba de Na-K, actuando sobre la enzima Na-K-ATPasa, produciendo un aumento del K intraquístico y la disminución del Na. De nuestro estudio se deriva que la hormona más importante en la regulación de los distintos procesos intraquísticos, entre los que incluimos la concentración de K y Na (Tabla XXX), es el estradiol, que podría gobernar el ambiente quístico según la hipótesis descrita.

En los quistes tipo I, y con relación al suero y a los líquidos quísticos con cociente $K/Na < 3$, encontramos concentraciones significativamente elevadas de SDHA, estradiol, testosterona, 17-OH-progesterona, FT₃, colesterol total, HDL-C y amilasa. En aquellos fluidos con relación $K/Na < 3$ hay un aumento de CA 125,

LDL-C, cloro, glucosa y LDH, con respecto a los quistes con cociente K/Na >3.

La formación de los quistes imbrica procesos obstructivos (Azzopardi y cols., 1979; Vorher, 1986) y secretorios (Dogliotti y cols., 1990). Como hemos referido a lo largo de nuestro trabajo, hay dos tipos de macroquistes mamarios con diferente fisiopatología: aquellos con relación K/Na >3, con predominio secretorio, en los que existe un metabolismo intraquístico incrementado, formándose a partir de los andrógenos una gran cantidad de estrógenos (Miller y cols., 1990; Scot y cols., 1990; Orlandi y cols., 1990), que se encuentran en su mayor parte en forma libre (Bradlow y cols., 1981; Rosner y cols., 1985; Angeli y cols., 1987), y que no son balanceados por los niveles de progesterona, lo que puede provocar proliferación celular y por consiguiente la formación de un terreno electivo para la eventual proliferación maligna (De Sanso y cols., 1981), lo que es compatible con la apreciación por parte de diversos autores (Bradlow y cols., 1990; Naldoni y cols., 1990), de que es estos quistes donde hay mayor tasa de malignización.

El otro grupo de macroquistes es aquel con relación K/Na <3, que se formarán fundamentalmente por procesos obstructivos (Angeli y cols., 1990), y que aunque tengan alguna actividad secretoria, esta es significativamente menor que en el grupo anteriormente

descrito.

La existencia de grandes diferencias en la fisiopatología de los macroquistes mamarios debe condicionar el pronóstico y la terapéutica.

VII.- VIGILANCIA Y TRATAMIENTO DE LOS MACROQUISTES.-

El hecho de demostrar que existe un hiperestronismo en líquido quístico, nos debe inducir a hacer tratamiento etiológico de la enfermedad macroquística, y por consiguiente de la MFQ, sobre todo en los casos de macroquistes con cociente K/Na >3, debiendo valorarse además las distintas dosis que se deben utilizar según el estado esteroideo de los quistes estudiados.

Se deberá intentar disminuir los niveles y la acción de los estrógenos a nivel local, y para ello se utilizarán fundamentalmente fármacos antiestrógenos -Tamoxifeno-, o sustancias que compensen el hiperestronismo existente -Progestágenos-: disminuyendo los receptores de estradiol (Mauvais-Jarvis y cols. 1990; Maudelonde y cols., 1991) y aumentando el paso de estradiol a estrona por activación de la enzima 17- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (Sitruk-Ware y cols., 1985; Gompel y cols., 1986).

El tamoxifeno actúa a nivel local, impidiendo la unión del estradiol a su receptor y aumentando el factor de crecimiento antiproliferativo TGF- β (Lippman

y cols., 1986). Ha demostrado su efectividad en numerosos trabajos (Loruso y cols., 1982; Pérez-López y cols., 1983; Fentiman, 1986; Fentiman y Powles, 1987), si bien su uso no se ha generalizado debido a sus efectos secundarios. Se está experimentando con el tamoxifeno percutáneo y con su metabolito 4-OH-tamoxifeno percutáneo (Freiss y cols., 1991), que es entre 100 y 1000 veces más potente que el tamoxifeno (Maudelonde, 1991), intentando evitar su paso hepático; esta fórmula puede ser en principio el fármaco ideal (Rodríguez-García y cols., 1992), aunque faltaría por determinar la dosis a administrar, la cual cabría esperar fuera menor en los quistes con K/Na <3.

CONCLUSIONES

1- Existen dos tipos de macroquistes mamarios que se diferencian en su fisiopatología y en la actividad metabólica intraquistica.

2- Los procesos metabólicos que tienen lugar a nivel intraquistico, en la enfermedad macroquistica de la mama, no tienen reflejo a nivel sérico.

3- Los parámetros bioquímicos que mejor definen los dos tipos de macroquistes mamarios son la concentración de Estradiol y CA 125 en líquido quístico.

4- En el ambiente hormonal intraquistico existe una gran actividad metabólica esteroidea.

5- El substrato fundamental en la esteroidogénesis intraquistica parece ser el HDL-C.

6- En el líquido quístico existe un hiperandrogenismo e hiperestronismo, que se acentúa significativamente cuando el quiste tiene un cociente K/Na >3.

7- Los bajos niveles de proteínas encontrados en líquido quístico sugieren que las hormonas se encuentran fundamentalmente en forma libre, circunstancia que potenciará su actividad.

8- La mayor actividad estrogénica encontrada en los quistes con relación K/NA >3 nos hace pensar que si es cierto que los estrógenos son carcinógenos o cocarcinógenos, estos quistes tendrían mayor riesgo de malignización.

9- Las diferencias reseñadas anteriormente deberán tenerse en cuenta a la hora de emitir un pronóstico y establecer el seguimiento.

10- El tratamiento etiológico de la MFQ debe basarse en fármacos que bloqueen la acción estrogénica a nivel local.

BIBLIOGRAFIA

Abney TO, Teran AZ, Mahesh VB, Mullins WB, Greenblatt RB. Fibrocystic breast disease: the significance of beta-human chorionic gonadotropin and other polypeptides in breast cyst fluid. *Fertil Steril* 1988; 49: 638-43.

Abranson DJ. Clinical evaluation of aspiration of cysts of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1974; 139: 531-7.

Abul-Hajj YJ, Iverson R, Kiang DT. Metabolism of pregnenolone by human breast cancer. *Steroids* 1979; 34: 817-27.

Acien P, Burford G, Irvine L, Shaw RW. CA-125 en fisiología y patología benigna y maligna ginecológica: Revisión de la literatura y aportación de resultados propios. *Rev Esp Obst Ginecol* 1988; 47: 425-52.

Adami HO, Rimsten A, Thorén L, Vegelius J, Wide L. Thyroid disease and function in breast cancer patients and non-hospitalized controls evaluated by determination of TSH, T3, rT3 and T4 levels in serum. *Acta Chir Scand* 1978; 144: 89-97.

Adamopoulos DA, Vassilaros S, Kapolla N, Papadimantis J, Georgiakodis F, Michalakis A. Thyroid disease in patients with benign and malignant mastopathy. *Cancer* 1986; 57: 125-8.

Andrews WC. Hormonal management of fibrocystic disease of the breast. *Journ Reprod Medic* 1990; 35(1 Suppl): 87-90.

Angeli A, Bradlow HL, Bodian CA, Chasalow FI, Dogliotti L, Haagensen DE Jr. Criteria for Classifying Breast Cyst Fluids. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 49-52.

Angeli A, Dogliotti L, Agrimonti F, Faggiuolo R, Cavallo R, Tibo A. Thyroid hormone levels in human breast cyst fluid. *Acta Endocrinol* 1984; 107: 230-6.

Angeli A, Dogliotti L, Orlandi F, Beccati D. Mammary cysts: pathophysiology and biochemistry. *Nucl Med Biol* 1987; 14:397-406.

Arrick BA, Korc M, Derynck R. Differential regulation of expression of three Transforming Growth Factor β species in human breast cancer cell lines by estradiol. *Cancer Res* 1990; 50: 299-303.

Arteaga CL, Tandon AK, Von Hoff DD, Osborne K. Transforming Growth Factor β : Potential Autocrine Growth Inhibitor of Estrogen Receptor-negative Human Breast Cancer Cells. *Cancer Res* 1988; 48: 3898-904.

Ayers JWT, Gidwani GP. The "luteal breast": hormonal and sonographic investigation of benign breast disease in patients with cyclic mastalgia. *Fertil Steril* 1983; 40: 779-84.

Azzopardi JG, Ahmed A, Millis RR, editores. *Problems in Breast Pathology*. Vol. 2. London: Saunders, 1979.

Balbín M, Freije JM, Fueyo A, Sánchez LM, López-Otín C. Apolipoprotein D is the major protein component in cyst fluid from women with human breast gross cystic disease. *Biochem J* 1990; 271: 803-7.

Balbín M, Vizoso F, Sánchez LM, Venta R, Ruibal A, Fueyo A et al. GCDFP-70 protein in cyst fluid identified as albumin and used to classify cysts in women with breast gross cystic disease. *Clin Chem* 1991; 37: 547-51.

Banerjee S, Katz J, Levitz M, Finlay TH. Purification and properties of an esterase from human breast cyst fluid. *Cancer Res* 1991; 51: 1092-8.

Barbieri RL, Niloff JM, Bast RC Jr, Schaetzl E, Kistner RW, Knapp RC. Elevated serum concentrations of CA-125 in patients with advanced endometriosis. *Fertil Steril* 1986; 45: 630-4.

Bässler R. *Patología de las enfermedades benignas de la mama*. Sandorama 1985 (I): 13-23.

Battaglia F, Rossi S, Scambia G, Lanzone A, Benedetti-Panici P, Ferrandina G et al. Epidermal growth factor levels in human breast cyst fluid. *Anticancer Res* 1989; 9: 1661-3.

Beccati D, Grilli N, Schincaglia P, Naldoni C, Tavolazzi L, Ranaldi R et al. Apocrine cells in breast cyst fluid and their relationship to cyst type: a morphometric study. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24: 597-602.

Bélanger A, Brochu M, Cliche J. Levels of plasma steroid glucuronide in intact and castrated patients with prostatic cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 812-6.

Bélanger A, Caron S, Labrie F, Naldoni C, Dogliotti L, Angeli A. Levels of eighteen non-conjugated and conjugated steroids in human breast cyst fluid: relationships with cyst type. *Eur J Cancer* 1990a; 26: 277-81.

Bélanger A, Labrie F, Angeli A. Unconjugated and glucuronide steroid levels in human breast cyst fluid. *Ann N Y Acad Sci* 1990b; 586: 93-100.

Ben-Rafael Z, Benadiva ZA, Garcia CJ, Flickinger GL. Cortisol stimulation of estradiol and progesterone secretion by human granulosa cells is independent of follicle-stimulating hormone effects. *Fertil Steril* 1988; 49: 813-6.

Bergkvist L, Adami HO, Persson I, Hoover R, Schairer C. The risk of breast cancer after estrogen and estrogen-progestin replacement. *N Engl J Med* 1989; 321:293-7.

Bhattacharya A, Vonderhaar BK. Thyroid hormone regulation of prolactin binding to mouse mammary glands. *Biochem Biophys Res Commun* 1979; 88: 1405. (Citado por Angeli y cols., 1987).

Biagioni S, Mannello F, Stella F, Battistelli S, Marcheggiani F, Cerroni L et al. Lactate dehydrogenase, isoenzyme patterns and cation levels in human breast gross cyst fluid. *Clin Chim Acta* 1987; 169 (1): 91-7.

Biagioni S, Stella F, Mannello F, Cerroni L, Stella C, Troccoli R. Alpha 1-antitrypsin, transferrin, alkaline phosphatase, phosphohexoseisomerase and gamma-glutamyl-transferase in breast cyst fluid. *Tumori* 1985; 71: 135-40.

Birschhoff P, Tseng L, Brioschi PA, Herrman WL. Cancer antigen 125 is produced by human endometrial stromal cells. *Human Reprod* 1986; 1: 423-6.

Boccardo F, Torrisi R, Zanardi S, Valenti G, Pensa F, De Franchis V et al. EGF in breast cyst fluid: relationships with intracystic androgens, estradiol and progesterone. *Int J Cancer* 1991; 47: 523-6.

Boccardo F, Valenti G, Zanardi S, Cerruti G, Fassio T, Bruzzi P et al. Epidermal growth factor in breast cyst fluid: relationship with intracystic cation and androgen conjugate content. *Cancer Res* 1988; 48: 5860-3.

Boccardo F, Zanardi S, Valenti G, Cannata D, Maisto L, Nicoló G et al. Epidermal Growth Factor in Breast Cyst Fluids. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 137-42.

Bocuzzi G, Brignardello E, Massobrio M, Bonino L. Breast duct fluid dehydroepiandrosterone sulphate in fibrocystic disease. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987; 23: 1099-102.

Bolte E, Coudert S, Lefevre Y. Steroid production from plasma cholesterol. II. In vitro conversion of plasma cholesterol to ovarian progesterone and adrenal C₁, and C₂₁ steroids in the human. *J Clin Endocrinol Metab* 1974; 38: 394-8.

Bonney RC, Reed MJ, Davidson K, Beranek PA, James VHT. The relationship between 17 β hydroxysteroid dehydrogenase activity and oestrogen concentration in human breast tumours and normal breast tissue. Clin Endocrinol 1983; 19: 727-39.

Botija J, De la Cal C, García FJ, Maestre J, Vilar E, Pineda H et al. Estado hormonal en las mastopatías fibro-quísticas. Toko-Gin Práct 1986; 45(1): 39-44.

Bradlow HL, Breed CN, Nisselbaum J, Fleisher M, Schwartz MK. PH as a marker of breast cyst fluid biochemical type. Eur J Surg Oncol 1987; 13: 331-4.

Bradlow HL, Fleisher M, Breed CN, Chasalow FI. Biochemical Classification of Patients With Gross Cystic Breast Disease. Ann N Y Acad Sci 1990; 586: 12-6.

Bradlow HL, Fleisher M, Schwartz MK, Nisselbaum J, Breed CN. Classification of patients with gross cystic breast disease according to the biochemical composition of breast cyst fluid. In: Dogliotti L, Mansel RE, eds. Fibrocystic Breast Disease. Aulendorf: Ed. Cantor, 1986: 9-20.

Bradlow HL, Rosenfeld RA, Kream J, Fleisher M, O'Connor J, Schwartz MK. Steroid hormone accumulation in human breast cyst fluid. Cancer Res 1981; 41: 105-7.

Bradlow HL, Skidmore FD, Schwartz MK, Fleisher M, Schwartz C. Cations in breast cyst fluid. In: Angeli A, Bradlow HL, Dogliotti L, ed. Endocrinology of Cystic Breast Disease. New York: Raven Press, 1983: 197-202.

Brinton L, Vessey M, Flavel R, Yeates D. Risk factors for benign breast disease. Am J Epidemiol 1981, 113: 203-9.

Brown RW, Meehan C, Martin FIR, Bhathal PS. Breast tumors in patients with hyperprolactinemia. Cancer 1982; 50: 125-9.

Bundred NJ, Scott WN, Davies SJ, Miller WR, Mansel RE. Zinc alpha-2 glycoprotein levels in serum and breast fluids: a potential marker of apocrine activity. Eur J Cancer 1991; 27: 549-52.

Bussolati G, Papotti M, Gugliotta P. History and histochemistry of cystic breast disease. In: Angeli A, Bradlow HL, Dogliotti L, ed. Endocrinology of Cystic Breast Disease. New York: Raven Press, 1983: 7-18.

Calaf J. Control hormonal de la mama. En: Fresnadillo A, ed. Patología mamaria benigna. Barcelona: Sandoz, 1989; 13-8.

Calero F. Patología de la mama. Métodos diagnósticos. Enfermedades benignas de la mama. En: Celorio JA, Calero F, Armas A, eds. Fundamentos de Oncología Ginecológica. Bilbao: Edic. Díaz de Santos S.A., 1986: 569-623.

Caldwell JL, Stites DP, Fedenberg HH. Human chorionic gonadotropin: effects of crude and purified preparation on lymphocyte responses to phytohemagglutinin and allogeneic stimulation. *J Immunol* 1975; 115: 1249-53.

Carlström K, Döberl A, Gershagen S, Rannevik G, Rasmusen T, Tobiassen T. Elevated peripheral levels of androgens and of some steroid sensitive plasma proteins in patients with severe fibrocystic breast disease. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984; 123 (Suppl): 157-8.

Carter CL, Corle DK, Micozzi MS, Schatzkin A, Taylor PR. A prospective study of the development of breast cancer in 16,692 women with benign breast disease. *Am J Epidemiol* 1988; 128: 467-77.

Castagnetta L, Granata OM, Brignone G, Blasi L, Arcuri F, Mesiti M et al. Steroid patterns of benign breast disease. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 121-36.

Castro A, Buschbaum P, Nadji M, Voigt W, Tabei S, Morales A. Immunochemical demonstration of human chorionic gonadotrophin (hCG) in tissue of breast carcinoma. *Acta Endocrinol* 1980; 94: 511-6.

Cerbon MA, Pichon MF, Milgrom E. Thyroid hormone receptors in human breast cancer. *Cancer Res* 1981; 41: 4167-73.

Ciatto S, Biggeri A, Rosselli Del Turco M, Bartoli D, Iossa A. Risk of breast cancer subsequent to proven gross cystic disease. *Eur J Cancer* 1990; 26: 555-7.

Clarke CL, Sutherland RL. Progestin regulation of cellular proliferation. *Endocrine Rev* 1990; 11: 266-301.

Colin C. Hormonothérapie substitutive de la ménopause et risque de cancer du sein. *Rev Fr Gynécol Obstét* 1991; 86: 27-8.

Colomb E, Berthon P, Calvo F, Martin PM. Ambivalence de l'effet de la progestérone sur le cycle des cellules épithéliales mammaires normales en culture. In: Scali P, Villet R, eds. Hormones et sein. Paris: Masson, 1990: 48-50.

Collette J, Hendrick JC, Jaspar JM, Franchimont P. Presence of α -Lactalbumin, Epidermal Growth Factor, Epithelial Membrane Antigen and Gross Cystic Disease Fluid Protein (15.000 Daltons) in breast cyst fluid. *Cancer Res* 1986; 46: 3728-33.

Collette J, Van Cauwenberge JR, Dejardin L, Carlisi A, Jaspar JM, Franchimont P. Epidermal growth factor and prolactin in human breast cyst fluid. Possible correlations with GCDFP-15. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 146-57.

Contesso G, Bertin F, Terrier P, Petit JY, Le M. Qu'est-ce qu'une << mastopathie à risque >> pour l'anatomopathologiste. *Rev Fr Gynécol Obstét* 1991; 86: 9-12.

Coutinho EM, Azadian-Boulanger G. Treatment of fibrocystic disease of the breast with anti-estrogen, anti-progesterone propretier. *Int J Gynaecol Obstet* 1984; 22: 363-6.

Cupceancu B, Pop A, Purice M, Mogos I. Serum and intracystic levels of thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3) in women with breast macrocysts. *Endocrinologie* 1987; 25: 209-15.

Cuzick J, Wang DY, Bulbrook RD. The prevention of breast cancer. *Lancet* 1986; 1: 83-6.

Chasalow FI, Bradlow HL. Digoxinlike materials in human breast cyst fluids. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 107-16.

Damjanov I, Mildner B, Knowles BB. Immunohistochemical localization of the epidermal growth factor receptor in normal human tissues. *Lab Invest* 1986; 55: 588-92.

Davis HH, Simons M, Davis JB. Cystic disease of the breast: relationship to carcinoma. *Cancer* 1964, 17: 957-78.

De Boever J, Verheugen C, Van Maele G, Vandekerckhove D. Steroid Concentrations in Serum, Glandular Breast Tissue, and Breast Cyst Fluid of Control and Progesterone-Treated Patients. In: Angeli A, Bradlow HL, Dogliotti L, eds. *Endocrinology of Cystic Breast Disease*. New York: Raven Press, 1983: 93-9.

De Sanso G, Bracco G, Tanferna M, Graffino W, Panazzolo A. Ruolo dei tumori benigni e delle displasie mammarie nella cancerogenesi in relazione alla attività degli enzimi lisosomiali α -arilsolfatasi e β -glucuconidasi. *Min Gin* 1981; 33: 185-96.

De Vriese G. Goserelin, an LH-RH agonist, in the treatment of women with fibrocystic mastopathy. A pilot study. *J Obstetr Gynaecol* 1991; 11: 272-6.

Devitt JE. Benign breast disease in the postmenopausal woman. *World J Surg* 1989; 13: 731-5.

Devitt JE. Fibrocystic disease of the breast is not premalignant. *Surg Gynecol Obstet* 1972; 134: 803-6.

Dilley WG, Leinght GS (Jr), Silva JS, Haagensen DE (Jr), Wells SA (Jr). Androgen-stimulation of gross cystic disease fluid protein and carcinoembryonic antigen in patients with metastatic breast carcinoma. *J Nat Cancer Inst* 1983; 70: 69-74.

Dixon JM, Lumsden AB, Miller WR. The relationship of cyst type to risk factors for breast cancer and the subsequent development of breast cancer in patients with breast cystic disease. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1985a; 21: 1047-50.

Dixon JM, Miller WR, Scott WN, Forrest APM. The morphological basis of human breast cyst populations. *Br J Surg* 1983a; 70: 604-6.

Dixon JM, Miller WR, Scott WN. pH of human breast cyst fluid. *Clin Oncol* 1984; 10: 721-4.

Dixon JM, Miller WR, Yap PL, Scott WN, Forrest APM. Further studies on human breast cyst fluids. *Br J Surg* 1983b; 70:684.

Dixon JM, Scott WN, Miller WR. Natural history of cystic disease: the importance of cyst type. *Br J Surg* 1985b; 72:190-2.

Dixon JM, Scott WN, Miller WR. An analysis of the content and morphology of human breast microcysts. *Eur J Surg Oncol* 1985c; 11:151-4.

Dohrmann P, Hughes ES, McDermott FT, Price B. Aspiration of breast cysts. *Austr N Z J Surg* 1982; 52: 605-7.

Dogliotti L, Orlandi F, Angeli A. The endocrine basis of benign breast disorders. *World J Surg* 1989; 13: 674-9.

Dogliotti L, Orlandi F, Caraci P, Puligheddu B, Torta M, Angeli A. Biochemistry of Breast Cyst Fluid. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 17-28.

Dogliotti L, Orlandi F, Torta M, Buzzi G, Naldoni C, Mazzotti A et al. Cations and dehydroepiandrosterone-sulfate in cyst fluid of pre- and menopausal patients with gross cystic disease of the breast. Evidence for the existence of subpopulation of cysts. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22: 1301-7.

Donegan WL. Epidemiología. En: Donegan W, Spratt JS, eds. *Cancer de mama*. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana S.A., 1982: 22-43.

Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med* 1985; 312: 146-51.

Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group. Tratamiento sistémico del cáncer precoz de mama con hormonas, fármacos citotóxicos e inmunoterapia. *The Lancet* (Ed. esp.) 1992; 20(5): 13-28.

Ebbs SR, Bates T. Breast cyst type does not predict the natural history of cyst disease or breast cancer risk. *Br J Surg* 1988; 75: 702-4.

Edery M. Prolactine et sein. In: Scalli P, Villet R, eds. *Hormones et sein*. Paris: Masson, 1990: 26-30.

Fentiman IS. Tamoxifen and mastalgia. An emerging indication. *Drugs* 1986; 32: 477-80.

Fentiman IS, Powles TJ. Tamoxifen and benign breast problems. *The Lancet* 1987; 2: 1070-2.

Fentiman IS, Wang DY. Ambiente hormonal de la mastopatía benigna. En: *Revisiónes Cáncer Endocrino-Dependiente*. Madrid: Ed Ergon S.A., 1987: 15-20.

Ferguson DJP, Anderson TJ. Morphological evaluation of cell turnover in relation to the menstrual cycle in the "resting" human breast. *Br J Cancer* 1981; 44: 177-81.

Fernández-Cid A, editor. *Macroquistes mamarios*. Barcelona: Salvat Editores S.A., 1988.

Fernández-Cid A. Recuerdo del desarrollo, de la fisiología, y de la morfología mamaria. En: Fernández-Cid A, ed. *Aspectos prácticos sobre patología mamaria benigna*. Barcelona: Sandoz S.A.E., 1987: 11-24.

Fioretti P, Paoletti AM, Petacchi FD, Prato R, Mauro GA, Melis GB. Trattamento della mastopatia fibrocistica con danazolo. *Studio multicentrico*. *Min Gin* 1988; 40: 427-33.

Frairia R, Agrimonti F, Fazzari AM, Barbadoro E, Bocuzzi G, Angeli A. Evidence for a transcortin-like component in human breast cyst fluid. Clin Chim Acta 1983; 131: 15-27.

Frantz VK, Pickren JW, Melcher GW, Auchincloss H Jr. Incidence of chronic cystic disease in so-called <<normal breasts>>. A study based on 225 post-mortem examinations. Cancer 1951; 4:732-38.

Freiss G, Rochefort H, Prébois C, Vignon F. Mecanisme de l'effet anti-facteur de croissance des antioestrogenés. Annales d'Endocrinologie 1991; 52: 246.

Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18:499-503.

Gambrel Jr RD. Estudio de las enfermedades endometriales y mamarias con terapia de substitucion hormonal. En: Studd JWW, Whitehead MI, eds. Menopausia. Barcelona: Ed. Carlos Alejandro, 1990: 275-90.

Gatti G, Orlandi F, Masera R, Sartori ML, Dogliotti L, Angeli A. Effect in vitro of breast cyst fluid on the spontaneous and lymphokine-inducible Natural Killer cell activity of patients with gross cystic disease of the breast. Ann N Y Acad Sci 1990; 586: 213-7.

Gatzy JT, Zaytoun MP, Gaskins K, Pearlman WH. Electrolytes of breast-cyst fluid. Clin Chem 1979; 25(5): 745-8.

Going JJ, Anderson TJ, Battersby S, Macintyre CCA. Proliferative and secretory activity in human breast during natural and artificial menstrual cycles. Am J Pathol 1988; 130: 193-204.

Gold P, Shuster J, Freedman SO. Carcinoembryonic antigen (CEA) in clinical medicine. Cancer 1978; 42: 1399-402.

Golinger RC, Krebs J, Fisher ER, Danowski TS. Hormones and the pathophysiology of fibrocystic mastopathy. Elevated luteinizing hormone levels. Surgery 1978; 84: 212-5.

Gompel A, Malet C, Spritzer P, Lalardrie JP, Kutten F, Mauvais-Jarvis P. Progestin effect on cell proliferation and 17- β -hydroxysteroid deshydrogenase activity in normal human breast cells in culture. J Clin Endocrinol Metab 1986; 63: 1174-80.

Gompel A, Malet C, Spritzer P, Gol R, Fidji N, Mowszowicz I et al. Hormonodépendance des cellules mammaires humaines normales. In: Scali P, Villet R, eds. Hormones et sein. Paris: Masson, 1990: 38-47.

Goodwin PJ, Neelam M, Boyd NF. Cyclical mastopathy: a critical review of therapy. Br J Surg 1988; 75: 837-44.

Gorins A, Kottler ML. Qu'est-ce qu'une mastopathie a risque? Bases épidémiologiques et cliniques. Rev Fr Gynecol Obstet 1991; 86: 4-8.

Gorman CA, Becker DV, Greenspan FS, Levy RP, Oppenheimer JH, Rivlin RS et al. Cancer de mama y terapéutica tiroidea. JAMA (Ed. esp) 1977; 3(4): 355-6.

Grattarola R. Anovulation and increased androgenic activity as breast cancer risk in women with fibrocystic disease of the breast. Cancer Res 1978; 38:3051-4.

Greenblatt RB, Samaras C, Vasquez JM, Nezhat C. Enfermedad fibroquística de la mama. Clin Obst Ginecol 1982; 2: 389-96.

Gwinne JT, Strauss JF. The role of lipoproteins in steroidogenesis and cholesterol metabolism in steroidogenic glands. Endocrine Rev 1982; 3: 299-304.

Haagensen CD. Epitelio apocrino. En: Haagensen CD, ed. Enfermedades de la mama. Buenos Aires: Ed Médica Panamericana, 1987a: 100-20.

Haagensen CD. Enfermedad quística macroscópica. En Haagensen CD, ed. Enfermedades de la mama. Buenos Aires: Ed Médica Panamericana, 1987b: 274-91.

Haagensen CD. Papilomatosis. En: Haagensen CD, ed. Enfermedades de la mama. Buenos Aires: Ed Médica Panamericana, 1987c: 137-44.

Haagensen DE (Jr). Is Cystic Disease Related to Breast Cancer? Am J Surg Pathol 1991; 15(7): 687-94.

Haagensen Jr DE, Dilley WG, Mazoujian G, Wells SA. Review of GCDFP-15. An apocrine marker protein. Ann N Y Acad Sci 1990; 586: 161-73.

Haagensen DE (Jr), Mazoujian G, Holder WD (Jr), Kister SJ, Wells SA (Jr). Evaluation of a breast cyst fluid protein detectable in the plasma of breast carcinoma patients. Ann Surg 1977; 185: 279-85.

Haagensen (Jr) DE, Mazoujian G. Bioquímica e inmunohistoquímica de las proteínas de los líquidos de la mama en la enfermedad quística macroscópica. En: Haagensen CD, ed. Enfermedades de la mama. Buenos Aires: Ed Médica Panamericana, 1987: 510-37.

Halila H, Stenman UH, Seppala M. Ovarian cancer antigen CA 125 levels in pelvic inflammatory disease and pregnancy. *Cancer* 1986; 57: 1327-9.

Hamed H, Wang DY, Moore JW, Clark GM, Fentiman IS. Growth factor and electrolyte concentration in human breast cyst fluid. *Eur J Cancer* 1990; 26: 479-80.

Hartfield R, Lopes JD, Lopes MTP, Brentani MM. Tissue carcinoembryonic antigen and estrogen receptor in human breast cancer. *Int J Cancer* 1985; 35: 165-7.

Harrington E, Lesnick G. The association between gross cysts in the breast. *Breast* 1980; 7: 13-7.

Hawkins RA, Thomson ML, Killen E. Oestrogen sulphate, adipose tissue and breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1985; 6: 75-87.

Hayes DF, Silberstein DS, Rodrigue SW, Kufe DW. DF3 antigen, a human epithelial cell mucin, inhibits adhesion of eosinophils to antibody-coated targets. *J Immunol* 1990; 145: 962-70.

Hayden TS, Forsyth IA. Thyroid hormone binding in rat mammary gland. *J Endocrinol* 1977; 75: 38-9.

Henderson BE, Ross RK, Judd HL, Krailo MD, Pike MC. Do Regular Ovulatory Cycles Increase Breast Cancer Risk?. *Cancer* 1985; 56: 1206-8.

Herranz M. Estudio de la composición de líquidos de los quistes mamarios. Tesis Doctoral. Centro de publicaciones. Universidad de Barcelona. 1982. (Citado por Fernández-Cid, 1988).

Herruzo AJ. Marcadores tumorales bioquímicos en ginecología. *Progr Obst Ginecol* 1990; 33(7): 47-58.

Hill P, Garbaczewski L, Wynder EL. Testosterone in breast fluid. *Lancet* 1983; 2: 761.

Hoeffken W, Lanyi M, editores. Mamografía. Técnica. Diagnóstico. Diagnóstico diferencial. Resultados. Barcelona: Ed. Labor, 1978: 82-99.

Horne CHW, Milne GD, Reid IN. Prognostic significance of inappropriate production of pregnancy proteins by breast cancer. *Lancet* 1976; 2: 279-82.

Houdebine LM. Rôle des hormones dans l'embryogénèse et le développement du sein. In: Scali P, Villet R, eds. Hormones et sein. Paris: Masson, 1990: 12-25.

Hughes LE, Bundred NJ. Breast Macrocysts. World J Surg 1989; 13: 711-4.

Hutchinson WB, Thomas DB, Hamlin WB, Roth GJ, Peterson AV, Williams B. Risk of breast cancer in women with benign breast disease. J Natl Cancer Inst 1980; 65: 13-20.

Hutter RV. Goodbye to "fibrocystic disease" [editorial]. N Engl J Med 1985; 312(3): 179-81.

Imagawa W, Martin Spencer E, Larson L, Nandi S. Somatomedin-C Substitutes for Insulin for the Growth of Mammary Epithelial Cells from Normal Virgin Mice in Serum-Free Collagen Gel Cell Culture. Endocrinology 1986; 119: 2695-9.

Inaudi P, De Leo V, Baldini S, D'Antona N. Adrenal steroids and tumor antigens in plasma and cyst fluid of women with gross cystic breast disease. Ann N Y Acad Sci 1990; 586: 117-20.

Iturburu IM, Basañez A, Jiménez E, López de Tejada I, Goicoechea J, Méndez J. Niveles plasmáticos de prolactina en mujeres afectas de displasia y tumores mamarios (fibroadenoma y carcinoma de mama). Rev Quir Esp 1988; 15(1): 27-31.

Jacquemier MJ, Martin PM. Aspects immunohistochimiques de la réceptivité hormonale du tissu mammaire normal au cours de différents états normaux et pathologique. In: Scali P, Villet R, eds. Hormones et sein. Paris: Masson, 1990: 32-7.

Jaffe RB, Mulchachen JJ, Di Blasio AM, Martin MC, Blumenfeld Z, Dumesic DA. Peptide regulation of pituitary and target tissue function and growth in the primate fetus. In: Recent progress in hormone research. San Diego: Academic Press, 1988; 44:431-549.

Jaspar JM, Franchimont P. Radioimmunoassay of human epidermal growth factor in human breast cyst fluid. Eur J Cancer Clin Oncol 1985; 20: 1343-8.

Jimena P, Castilla JA, Perán F, Ramírez JP, Vergara Jr F, Molina R et al. Adrenal hormones in human follicular fluid. Acta Endocrinol 1992a; 127: 403-6.

Jimena P, Castilla JA, Ramirez OP, Gil GR, NABA Blanco N, Molina R et al. CA-125, CEA and AFP levels in human follicular fluid. XIV World Congress on Fertility and Sterility; 1992b Nov 21-27; Caracas (Venezuela). Abstract 165.

Jiménez A, Segura T, Fernández N, Malde JL, González F, Salvatierra V. Resultados de una consulta de Patología mamaria en un departamento de Ginecología. Rev Esp Obst Ginecol 1986; 45: 59-70.

Jones BM, Bradbeer JW. The presentation and progress of macroscopic breast cysts. Br J Surg 1980; 67: 669-71.

Jordan VC. Effect of tamoxifén (ICS 46,474) on initiation and growth of DMBA-induced rat mammary carcinomata. Eur J Cancer 1976; 12: 419-24.

Junkermann H, Eggert-Kruse W, Teubner J, Kubli F, Fournier DV. A useful clinical classification of benign breast disease. In: Baum M, George WD, Hughes LE eds. Benign Breast Disease. Oxford: Oxford University Press, 1983: 7-9.

Keel B, Eddy K, Cho S, May J. Synergistic action of purified α -fetoprotein and growth factors on the proliferation of porcine granulosa cells in monolayer culture. Endocrinology 1991; 129: 217-25.

Kelsey JL, Berkowitz GS. Breast Cancer Epidemiology. Cancer Res 1988; 48: 5615-23.

Kesner L, Yu WS, Bradlow HL, Breed CW, Fleisher M. Proteases in cyst fluid from human gross cyst breast disease. Cancer Res 1988; 48: 6379-83.

Kottler ML, Gorins A. Contraception et cancer du sein. Rev Fr Gynecol Obstet 1991; 86: 21-6.

Kouyoumdjian JC, Feuilhade F, Pinaudeau J, Rymer JC. Etude des recepteurs des hormones steroïdes dans la glande mammaire normale et dans les mastopathies benignes. Bull Cancer 1986, 73: 120-3.

Krieger N, Hiatt RA. Risk of Breast Cancer after Benign Breast Diseases. Variation by histologic type, degree of atypia, age at biopsy, and length of follow-up. Am J Epidemiol 1992; 135: 619-31.

Kumar S, Mansel RE, Hughes LE, Woodhead JS, Edwards CA, Scanlon MF et al. Prolactin response to thyrotropin-releasing hormone stimulation and dopaminergic inhibition in benign breast disease. Cancer 1984; 53: 1311-5.

Kumar S, Mansel RE, Wilson DW, Read GF, Truran PL, Hughes LE et al. Daily salivary progesterone levels in cyclical mastalgia patients and their controls. *Br J Surg* 1986; 73: 260-3.

Kuttann F. Hormones stéroïdes et sein normal. Introduction. In: Scali P, Villet R, eds. *Hormones et sein*. Paris: Masson, 1990: 31-32.

Kvinnsians S. Serum tumour markers in clinical practice. Some general aspects. *Scan J Clin Lab Invest* 1991; 51(206 Suppl): 6-11.

La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Parazzini F. Non-contraceptive oestrogens and breast cancer: an update (Letter). *Int J Cancer* 1992; 50: 161-2.

Labows JN, Preti G, Hoelzle E, Leyden J, Kligman A. Steroid analysis of human apocrine secretion. *Steroid* 1979; 34: 249-58.

Lai LC, Coldham NG, Islam S, Reed MJ, Ghilchik MW, James VH. Effect of breast cyst fluid on oestrogen 17-oxidoreductase activity in MCF-7 breast cancer cells. *Cancer Lett* 1990a; 55: 165-9.

Lai LC, Dunkley SA, Reed MJ, Ghilchik MW, James VH. Oestradiol and epidermal growth factor in breast cyst fluid. *Anticancer Res* 1989a; 9: 1853-6.

Lai LC, Dunkley SA, Reed MJ, Ghilchik MW, Shaikh NA, James VHT. Epidermal growth factor and Oestradiol in human breast cyst fluid. *Eur J Cancer* 1990b; 26: 481-4.

Lai LC, Ghatei MA, Takahashi K, Patel KV, Schrey MP, Ghilchik MW et al. Mitogenic peptides in breast cyst fluid: relationship with intracystic electrolyte ratios. *Int J Cancer* 1990c; 46: 1014-6.

Lai LC, Ghilchik MW, Shaikh NA, Reed MJ, James VH. Relationship between epidermal growth factor and dehydroepiandrosterone and its sulphate in breast cyst fluid. *Br J Cancer* 1989b; 60: 320-3.

Lai LC, James VH. In vitro metabolism of testosterone by breast microcysts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1990; 37: 613-5.

Le Doussal V, Zangerle PF, Collette J, Spyrtos F, Hacene K, Briere M et al. Immunohistochemistry of a component protein of the breast cystic disease fluid with mol. wt 15.000. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1985; 21: 715-25.

Leclercq G, Heuson JC, Deboel MC. Oestrogen receptors in breast cancer: a changing concept. *Br Med J* 1975; 1: 185-90.

Lees A, Burns P, Grace M. Oral contraceptive and breast disease in premenopausal northern Albertan. *Int J Cancer* 1978; 22: 700-5.

Lippman ME, Bolan G, Huff K. The effects of estrogens and antiestrogens on hormone-responsive human breast cancer in long-term tissue culture. *Cancer Res* 1976; 36: 4595-601.

Lippman ME, Dickson RB, Bates S, Knabbe C, Hulff K, Swain S et al. Autocrine and paracrine growth regulation of human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1986; 7: 59-70.

LiVolsi VA, Stadel BV, Kelsey JL, Holford TR, White C. Fibrocystic breast disease in oral-contraceptive users. A Histopathological Evaluation of Epithelial Atypia. *N Engl J Med* 1978; 299: 381-5.

London RS, Sundaram GS, Schultz M, Nair PP, Goldstein PJ. Endocrine parameters and α -tocopherol therapy of patients with mammary dysplasia. *Cancer Res* 1981; 41: 3811-3.

Longacre TA, Bartow SA. A correlative morphologic study of human breast and endometrium in the menstrual cycle. *Am J Surg Pathol* 1986; 10(6): 382-93.

Loruso A, Bermudez M, Zylbersztein C, Aquilano D, Scaglia HE. Estudio clínico y bioquímico en pacientes con displasias mamarias tratadas con tamoxifen. Una hipótesis sobre su mecanismo de acción. *Rev Argent Mastolog* 1982; 1(1): 33-45.

Lui WY, P'eng FK, Liu TY, Chi CW. Hormonal therapy for hepatocellular carcinoma. *Med Hypotheses* 1991; 36(2): 162-5.

Lloyd RV. Studies on the progesterone receptor content and steroid metabolism in normal and pathological human breast tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48: 585-93.

MacDonald PC, Edman CD, Hensell DL, Porter JC, Siiteri PK. Effect of obesity on conversion of plasma androstenedione to estrone in postmenopausal women with and without endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 130: 448-55.

Malarkey WB, Schroeder LL, Stevens VC, James AG, Lanese RR. Twenty-four-hour preoperative endocrine profiles in women with benign and malignant breast disease. *Cancer Res* 1977; 37: 4655-9.

Mansel RE, Dogliotti L. Ensayo multicéntrico europeo de la bromocriptina en la mastalgia cíclica. *Lancet* (Ed. Esp.) 1990; 16: 347-9.

Marchant DJ. Patología mamaria: un nuevo desafío para la obstetricia y la ginecología. En: Mishell (h) DR, Kirschbaum TH, Morrow CP, eds. *Year Book de Obstetricia y Ginecología*. Buenos Aires: Ed Médica Panamericana, 1988: 439-57.

Maudelonde T. Les composés de synthèse anti-hormones stéroïdes. *Annales d'Endocrinologie* 1991; 52: 387-92.

Maudelonde T, Lavaud P, Salazar G, Laffargue F, Rochefort H. Progestin treatment depresses estrogen receptor but not cathepsin D levels in needle aspirates of benign breast disease. *Breast Cancer Res Treat* 1991; 19(2): 95-102.

Mauvais-Jarvis P, Kuttenn F, Gompel A. Antiestrogen action of progesterone in breast tissue. *Breast Cancer Res Treat* 1986; 8:179-87.

Mauvais-Jarvis P, Kuttenn F, Sterkers N. Traitement hormonal des mastopathies bénignes. In: Scali P, Villet R, eds. *Hormones et sein*. Paris: Masson, 1990: 189-99.

Mazoujian G, Pinkus GS, Davis S, Haagensen Jr DE. Immunohistochemistry of a breast gross cystic disease fluid protein (GCDFP-15): a marker of apocrine epithelium and breast carcinomas with apocrine features. *Am J Pathol* 1983; 110: 105-11.

McCunes BK, Mullin BR, Flanders KC, Jaffurs WJ, Mullen LT, Sporn MB. Localization of Transforming Growth Factor-Beta isotypes in lesions of the human breast. *Hum Pathol* 1992; 23: 13-20.

McGonigle KF, Huggins GR. Oral contraceptives and breast disease. *Fertil Steril* 1991; 56: 799-819.

McManus MJ, Welsch CW. The effect of estrogen, progesterone, thyroxine and human placental lactogen on DNA synthesis of human breast ductal epithelium maintained in athymic nude mice. *Cancer* 1984; 54: 1920-7.

Meyers JS. Cell Proliferation in normal human breast ducts, fibroadenomas, and other duct hyperplasias, measured by nuclear labelling with tritiated thymidine. Effects of menstrual phase, age, and oral contraceptive hormones. *Human Pathol* 1977; 8: 67-81.

Miccoli P, Iacconi P, Roncella M, Arganini M, Rossi G. Relationship between thyroid hormones and breast cancer. In: Fioretti P, ed. *Postmenopausal hormonal therapy: Benefits and risks*. New York: Raven Press, 1987: 203-8.

Miller WR, Anderson TJ. Estrógenos, progestógenos y mamas. En: Studd JWW, Whitehead MI, eds. *Menopausia*. Barcelona: Carlos Alexandre, 1990: 261-73.

Miller WR, Dixon JM, Scott WN, Forrest APM. Classification of human breast cyst according to electrolyte and androgen conjugate composition. *Clin Oncol* 1983; 9: 227-32.

Miller WR, McDonald D, Forrest APM, Shivas AA. Metabolism of testosterone by human breast tumours. *Lancet* 1973; ii: 912-3.

Miller WR, Scott WN, Kelly RW, Hawkins RA. Steroid Hormones in Breast Cyst Fluids. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 60-9.

Minton JR, Abou-Issa H. Nonendocrine theories of the etiology of benign breast disease. *World J Surg* 1989; 13: 680-4.

Minton JP, Abou-Issa H, Reiches N, Roseman JM. Clinical and biochemical studies on methylxanthine-related fibrocystic breast disease. *Surgery* 1981; 90(2): 299-304.

Minton JP, Foeking MK, Webster DJT, Matthews RH. Response of fibrocystic disease to caffeine withdrawal and correlation of cyclic nucleotides with breast disease. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135: 157-8.

Mixner JP, Turner CW, Folley SJ. The physiology and biochemistry of lactation. Springfield: Charles C Thomas. (Citado por Greenblatt y cols. 1982).

Mizejewski GJ, Warner AS. Alpha-fetoprotein can regulate growth in the uterus of the immature and adult ovariectomized mouse. *J Reprod Fert* 1989; 85: 177-85.

Molina R, Ballesta AM, Casals E, García ME, Marín JL, Herranz M et al. Estudio bioquímico de los quistes mamarios: utilidad para su clasificación. *Rev Diag Biol* 1985; 34: 195-205.

Molina R, Filella X, Herranz M, Prats M, Velasco A, Zanon G et al. Biochemistry of Cyst Fluid in Fibrocystic Disease of the Breast. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 29-42.

Molina R. Parametros bioquímicos del líquido folicular y su relación con la fertilización in vitro de los ovocitos. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. 1989.

Monreal JI, Gíl MJ, Rivero A, Calonge MM, Hernández G, De Pablo P. Avances en el conocimiento de los marcadores tumorales del carcinoma de mama. *Rev Cirug Ibero-Americana* 1992; 1(2): 116-33.

Monson RR, Yen S, MacMahon B, Warren S. Chronic mastitis and carcinoma of the breast. *Lancet* 1976; ii: 224-26.

Monson J, Destable MD, De Saint Florent G, Amouroux J, Kouyoumdjian JC, Haour F et al. Fibrocystic disease of the breast in premenopausal women: Histohormonal correlation and response to luteinizing hormone releasing hormone analog treatment. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 1181-9.

Moore JW, Clark GMG, Bulbrook RD, Hayward JL, Murai JT, Hammond GL et al. Serum concentrations of total and non-protein-bound oestradiol in patients with breast cancer and in normal controls. *Int J Cancer* 1982; 29: 17-21.

Moore JW, Clark GMG, Hoare SA, Millis RR, Hayward JL, Quinlan MK et al. Binding of oestradiol to blood proteins and aetiology of breast cancer. *Int J Cancer* 1986; 38: 625-30.

Mordel N, Anteby SO, Zajicek G, Roisman I, Treves A, Barak V. CA-125 is present in significant concentrations in periovulatory follicles of in vitro fertilization patients. *Fertil Steril* 1992; 57: 377-80.

Mozas J. Valoración de los parámetros diagnósticos de la enfermedad inflamatoria pélvica. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. 1991.

Mukku VR, Stancel GM. Regulation of epidermal growth factor receptor by estrogen. *J Biol Chem* 1985; 260: 9820-4.

Murphy LJ, Murphy J.C, Friesen HG. Estrogen induction of N-myc and C-myc proto-oncogene expression in the rat uterus. *Endocrinology* 1987; 120: 1882-8.

Myhre E. Is fibrocystic breast disease a pre-malignant state? *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984; Suppl 123: 189-91.

Najid A, Habrioux G. Biological effects of adrenal androgens on MCF-7 and BT-20 human breast cancer cells. *Oncology* 1990; 47: 269-74.

Naldoni C, Bruzzi P, Bucchi L, Gordini S, Torta M, Caraci P et al. Cohort Study of Women Affected by Gross Cystic Disease. Correlation between Cationic and Hormonal Composition of Breast Cyst Fluid and the Risk of Breast Cancer. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 272-5.

Nardelli GB, Lamaina V, Siliotti F. Steroid receptors in benign breast disease, gross cystic disease and fibroadenoma. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1987; 14: 10-5.

Neilsen M, Thomsen JL, Primdahl S, Dyreborg U, Anderson JA. Breast cancer atypia among young and middle-aged women: a study of 110 medicolegal autopsies. *Br J Cancer* 1987; 56:814-9.

Neunteufel W, Breitnecker G. Tissue expression of CA 125 in benign and malignant lesions of ovary and fallopian tube: A comparison with CA 19.9 and CEA. *Gynecol Oncol* 1989; 32: 297-302.

Nezhat C, Asch RH, Greenblatt RB. Danazol for benign breast disease. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 137: 604-7.

O'Neill JS, Elton RA, Miller WR. Aromatase activity in adipose tissue from breast quadrants. A link with tumor site. *Br M J* 1988; 269: 741-3.

O'Neill JS, Miller WR. Aromatase activity in breast adipose tissue from women with benign and malignant breast diseases. *Br J Cancer* 1987; 56: 601-4.

Onuchi N, Thor A, Page DL, Horan-Hand P, Halter SA, Schlom J. Expression of the 21,000 molecular weight ras protein in a spectrum of benign and malignant human mammary tissues. *Cancer Res* 1986;46: 2511-9.

Orlandi F, Caraci P, Puligheddu B, Torta M, Dogliotti L, Del Monte I et al. Estrone-3-sulfate in human breast cyst fluid. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 79-82.

Ory H, Cole P, MacMahon B, Hoover R. Oral contraceptives and reduced risk of benign breast disease. *N Engl J Med* 1976; 294: 412-8.

Osborne MP, Karmali RA, Hershcopf J, Bradlow HL, Kourides IA, Williams W et al. Omega-3 fatty acid: modulation of estrogen metabolism and potential breast cancer prevention. *Cancer Invest* 1988; 6: 629-31.

Page DL, Dupont WD. Are breast cysts a premalignant marker? *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987; 22: 635-6.

Panazzolo A, Amosso B, Fantoni A, Ferreri S, Cavuoto F, Chiappa A. Comportamento clinico della mastopatia fibrocistica in relazione alla parità ed età. *Minerva Ginecol* 1990; 42: 519-23.

Peck DR, Lowman RM. Estrogen and the postmenopausal breast. *Mammographic considerations*. *JAMA* 1978; 240: 1733-5.

Peillon F, Vincens M, Cesselin F, Doumith R, Mowszowicz I. Exaggerated prolactin response of thyrotropin releasing hormone in women with anovulatory cycles: Possible role of endogenous estrogens and effect of bromocriptine. *Fertil Steril* 1982, 37: 530-5.

Pekonen F, Partanen S, Mäkinen T, Rutanen EM. Receptors for epidermal growth factor and insulin-like growth factor I and their relation to steroid receptors in human breast cancer. *Cancer Res* 1988; 48: 1343-7.

Perel E, Wilkins D, Killinger DW. The conversion of androstenedione to estrone, estradiol and testosterone in breast tissue. *J Steroid Biochem* 1980; 13: 89-94.

Pérez-López FR, Lapresa JF, Abos MD. Treatment of benign mastopathies with tamoxifen. *Endocrinología* 1983; 30(1): 5-8.

Peters F, Pickardt R, Breckwoldt M. Thyroid hormones in benign breast disease. *Cancer* 1985; 56: 1082-5.

Peters F, Schuth W, Scheurich B, Breckwoldt M. Serum prolactin levels in patients with fibrocystic breast disease. *Obstet Gynecol* 1984; 64: 381-5.

Petrakis NL, Gruenke LD, Craig JC. Cholesterol and Cholesterol Epoxides in Nipple Aspirates of Human Breast Fluid. *Cancer Res* 1981; 41: 2563-5.

Petrakis NL, Maack CA, Lee RE, Lyon M. Mutagenic Activity in Nipple Aspirates of Human Breast Fluid. *Cancer Res* 1980; 40: 188-9.

Podhajcer OL, Bravo AI, Sorin J, Guman N, Cerdeiro R, Mordoh J. Determination of DNA synthesis, estrogen receptors and carcinoembryonic antigen in isolated cellular subpopulations of human breast cancer. *Cancer* 1986; 58: 720-9.

Pons JY. Traitements médicaux des mastopathies à risque. *Rev Fr Gynécol Obstét* 1991; 86: 29-32.

Pye JK, Mansel RE, Webster DJT, Gravelle IH, Hughes LE. High potassium containing breast cysts: a positive correlation with DY Wolfe pattern. *Br J Surg* 1984; 71: 898.

Rajendran KG, Hwang J, Menon MJ. Binding, Degradation, and Utilization of Plasma High Density and Low Density for Progesterone Production in Cultured Rat Luteal Cells. *Endocrinology* 1983; 112: 1746-53.

Raju U, Banerjee S, Levitz M, Breed CN, Bradlow HL, Fleisher M et al. Correlation of concentrations of estriol-3-sulfate with those of potassium and sodium in human breast cyst fluid. *Steroids* 1985; 45: 341-6.

Raju U, Bradlow HL, Skidmore FD, Levitz M. The concentration of 16 α -hydroxy androgens in serum and cyst fluid of women with gross cystic disease of the breast. *Steroids* 1989; 54(1): 101-12.

Raju U, Ganguly M, Levitz M. Estriol conjugates in human breast cyst fluid and in serum of premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 45: 421-34.

Raju U, Levitz M, Jacobowitz G, Fleisher M, Bencsath FA, Field FH et al. Quantification of the sulfates of 16 alpha-hydroxy androgens that are possible precursors of estriol-3-sulfate in human breast cyst fluid. *Steroids* 1987; 50: 559-74.

Rasmussen T, Tobiassen T. Patient characteristics and age-dependent sub-populations in severe fibrocystic breast disease- The Hjorring project. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984; Suppl 123: 151-5.

Read GF, Bradley JA, Wilson DW, George WD, Griffiths K. Evaluation of luteal-phase salivary progesterone levels in women with benign breast disease or primary breast cancer. *Eur J Clin Oncol* 1985; 21: 9-17.

Reed MJ, Cheng RW, Noel CT, Dudley HAF, James VHT. Plasma levels of estrone, estrone sulfate, and estradiol and the percentage of unbound estradiol in postmenopausal women with and without breast disease. *Cancer Res* 1983; 43: 3940-3.

Ricciardi I, Ianniruberto A. Tamoxifen-induced regression of benign breast lesion. *Obst Gynecol* 1979; 54: 80-4.

Roberts MM, Jones V, Elton RA, Fortt RW, Williams W, Gravelle IH. Risk of breast cancer in women with history of benign disease of the breast. *Br Med J* 1984; 288: 275-8.

Rodríguez-García JR, Parrilla JJ, Abad L. Tratamiento hormonal de la patología benigna de la mama. Procedente de la XVI Reunión de la Sección de Patología Mamaria de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. 1992 Nov 19-20. Zaragoza.

Rose DP, Berke B, Cohen LA, Lahti H. A comparison of serum and breast duct fluid-immunoassayable prolactin and growth hormone with bioassayable lactogenic hormones in healthy women and patients with cystic breast disease. *Cancer* 1987; 60: 2761-5.

Rose DP, Lahti H, Laakso K, Kettunen K, Wynder EL. Serum and breast duct fluid Prolactin and Estrogen levels in healthy Finnish and American women and patients with fibrocystic disease. *Cancer* 1986; 57: 1550-4.

Rosner W, Khan MS, Breed CN, Fleisher M, Bradlow HL. Plasma steroid-binding proteins in the cysts of gross cystic disease of the breast. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 200-3.

Ruibal A, Colomer R, Gris JM, Genolla J. El CA 15.3 sérico en mujeres afectas de patologías mamarias no tumorales. *Med Clin* 1986; 87: 393-4.

Russell PT, Naito HK. Lípidos. En: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. *Química Clínica*. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana, 1986: 1396-453.

Rutanen EM, Seppälä M. The hCG-Beta subunit radioimmunoassay in nontrophoblastic gynecologic tumors. *Cancer* 1978; 41: 692-6.

Salle V, Raux H, Souttou B, Israel L, Crepin M. Primary cultures of human benign mastopathies and mammary carcinomas; growth factor requirements. *Anticancer-Res* 1991; 11: 895-900.

Sánchez-Garrido F, Charro A, Sánchez del Cura G, Bordici E. Prolactina (fracciones moleculares) en la mastopatía fibroquistica y el carcinoma de mama. *Acta Ginecol* 1985; XLII: 293-9.

Sancho-Garnier H, Lê MG. Epidémiologie des cancers du sein. In: Scali P, Villet R, eds. *Hormones et sein*. Paris: Masson, 1990: 144-56.

Sandison AT. La mama. En: Anderson JR, ed. *Patología de Muir*. Barcelona: Espaxs S.A., 1979: 1043-5.

Sarnelli R, Squartini F. Fibrocystic condition and "at risk" lesions in asymptomatic breasts: a morphologic study of postmenopausal women. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1991; 18(4): 271-9.

Sattin RW, Rubin GL, Wingo PA, Webster LA, Ory HW. Oral-contraceptive use and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1986; 315: 405-11.

Scanlon EF. The early diagnosis of breast cancer. *Cancer* 1981; 48: 523-6.

Scott WN, Hawkins RA, Killen E, Miller WR. Levels of androgen conjugates and oestrone sulphate in patients with breast cysts. *J Steroid Biochem* 1990; 35: 399-402.

Schwats MK, Fleisher M, Breed C et al. Enzyme composition of human breast cyst fluid. *Clin Chem* 1976; 22: 1213. (Citado por Molina y cols., 1985).

Schurz B, Schon HJ, Wenzl R, Kubista E, Spona J, Huber J et al. Breast cyst fluid concentrations of beta-endorphin, steroids and gonadotrophins in premenopausal women with gross cystic disease. *Maturitas* 1991; 13: 123-8.

Secreto G, Recchioni C, Ballerini P, Callegari L, Cavalleri A, Attili A et al. Accumulation of active androgens in breast cyst fluids. *Eur J Cancer* 1991; 27: 44-7.

Secreto G, Recchione C, Ballerini P, Callegari L, Fariselli G, Attili A et al. Cations and active androgens in breast cyst fluid. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 586: 88-92.

Secreto G, Recchione C, Fariselli G, Di Pietro S. High testosterone and low progesterone circulating levels in premenopausal patients with hyperplasia and cancer of the breast. *Cancer Res* 1984; 44: 841-4.

Sekine H, Ohno T, Kufe DW. Purification and characterization of a high molecular weight glycoprotein detectable in human milk and breast carcinomas. *J Immunol* 1985; 135: 3610-5.

Senra A, López F. Revisión de conjunto. Displasia mamaria. Concepto y Patogenia. *Acta Ginecol* 1989; XLVI: 203-6.

Shairer C, Brinton LA, Hoover RN. Methylxanthines and benign breast disease. *Am J Epidemiol* 1986; 124: 603-11.

Shi XY, Azhar S, Reaven E. Reconstitution of the lipoprotein cholesteryl ester transfer process using isolated rat ovary plasma membranes. *Biochemistry* 1992; 31(12): 3230-6.

Simard J, Dauvois S, Haagensen DE, Levesque C, Merand Y, Labrie F. Regulation of progesterone-binding breast cyst protein GCDP-24 secretion by estrogens and androgens in human breast cancer cells: a new marker of steroid action in breast cancer. *Endocrinology* 1990; 126: 3223-31.

Simpson ER, Rochelle DB, Carr BR, MacDonald PC. Plasma lipoproteins in follicular fluid of human ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51: 1469-73.

Sitruk-Ware R, Clair F, Sterkers N, Ulman A, Mauvais-Jarvis P. Prolactin secretion in benign breast diseases. *Gynecol Endocrinol* 1987; 1: 195-200.

Sitruk-Ware R, Kuttenn F, Kottler ML, Contesso G, Sterkers N, Mauvais-Jarvis P. Treatment of Benign Breast Disease by Progesterone and Progestins. In: Dogliotti L, Mansel RE. *Fibrocystic Breast Disease*. Aulendorf: Ed Cantor, 1985: 39-46.

Sitruk-Ware R, Sterkers N, Mauvais-Jarvis P. Benign breast disease I: Hormonal investigation. *Obstet Gynecol* 1979, 53: 457-60.

Skidmore FD. The Epidemiology of Breast Cyst Disease in Two British Populations and the Incidence of Breast Cancer in These Groups. *Ann N Y Acad Sci* 1990: 586:276-83.

Skjorten F, Kaaresen R, Jacobsen U, Skaane P, Amlie E. Nuclear morphometry of benign and malignant breast lesions. *Eur J Surg Oncol* 1991; 17(4): 350-3.

Sloss PT, Bennett WA, Clagett OT. Incidence in normal breasts of features associated with chronic cystic mastitis. *Am J Pathol* 1957; 33: 1181-91.

Sluyser M, Van Nie R. Estrogen receptor content and hormone responsive growth of mouse mammary tumor. *Cancer Res* 1974; 34: 3252-7.

Smith K, Miller WR, Fennelly JA, Matthews JN, Scott WN, Harris AL. Quantification of epidermal growth factor in human breast cyst fluids: correlation with dehydroepiandrosterone-sulphate and electrolyte concentrations. *Int J Cancer* 1989; 44: 229-32.

Speroff L, Glass RH, Kase NG. Biosíntesis, metabolismo y mecanismo de acción de las hormonas. En Speroff L, Glass RH, Kase NG. *Endocrinología Ginecológica e Infertilidad*. Barcelona: Ed Toray S.A., 1986: 1-38.

Stadel BV, Schlesselman JJ. Oral contraceptive use and risk of breast cancer in women with a "prior" history of benign breast disease. *Am J Epidemiol* 1986; 123: 373-82.

Staffa JA, Newschaffer CJ, Jones JK, Miller V. Progestins and breast cancer: an epidemiologic review. *Fertil Steril* 1992; 57: 473-91.

Statland BE, Winkel P. Neoplasias. En : Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Química Clínica. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana, 1986: 1047-64.

Strauss JF, Schuler LA, Rosenblum MF, Tanaka T. Cholesterol metabolism by ovarian tissue. Adv Lipid Res 1981; 18: 99-106.

Symmers WS. Carcinoma of breast in transsexual individuals after surgical and hormonal interference with primary and secondary sex characteristics. Br Med J 1968, 2: 82-6.

Számel I, Svastics E, Tóth J. Hormonal characterization of human breast cyst fluid. Ann N Y Acad Sci 1990; 586: 101-6.

Takahashi K, Lai LC, Ghatgei MA, James VHT, Bloom SR. Endothelin-like immunoreactivity in human breast cyst fluid. J Clin Endocrinol Metab 1990; 71: 1681-3.

Taketani Y, Oka T. Epidermal growth factor stimulates cell proliferation and inhibits functional differentiation of mouse mammary epithelial cells in culture. Endocrinology 1983; 113: 871-7.

Tapper D, Gajdusek C, More R, Ness J. Identification of a unique biological tumor marker in human breast cyst fluid and breast cancer tissue. Am J Surg 1990; 159: 473-8.

Tavassoli FA, Norris HJ. A comparison of the results of long-term follow-up for atypical intraductal hiperplasia and intraductal hyperplasia of the breast. Cancer 1990; 65: 518-29.

Taylor-Papadimitriou J, Shearer M, Stoker MGP. Growth requirements of human mammary epithelial cells in culture. Int J Cancer 1977; 20: 903-8.

Telang NT, Axelrod DM, Bradlow HL, Osborne MP. Metabolic biotransformation of estradiol in human mammary explant cultures. Ann N Y Acad Sci 1990; 586: 70-8.

Thijssen JHH, Blankenstein MA. Uptake and metabolism of estradiol by normal and abnormal breast tissues. Ann N Y Acad Sci 1990; 586: 253-8.

Tonelli QJ, Sorof S. Epidermal growth factor requirement for development of cultured mammary gland. Nature 1980; 285: 250-3.

Tóth J, DeSombre ER, Greene GI. Immunohistochemical analysis of estrogen and progesterone receptors in benign breast diseases. Zentralbl Pathol 1991; 137(3): 227-32.

Tóth J, Számel I, Svastics E, DeSombre ER. Significance of apocrine metaplasia in mammary carcinogenesis. Ann N Y Acad Sci 1990; 586: 239-51.

Troccoli R, Battistelli S, Marcheggiani F, Sessa M, Fronduti A. Levels of human chorionic gonadotropin in breast cyst fluid. Int J Biol Markers 1990; 5: 133-7.

Valverius EM, Walker-Jones D, Bates SE, Stampfer MR, Clark R, McCormick F et al. Production of and responsiveness to transforming Growth Factor-B in normal and oncogene-transformed human mammary epithelial cells. Cancer Res 1989; 49: 6269-74.

Veronesi U. Breast cancer in women subsequent to cystic disease of the breast. Sug and Obst 1968; 529-32. (Citado por Hardy A, Loriaux C. Facteurs de haut risque du cancer du sein. J Gyn Obst Biol Repr 1976; 5: 657-73).

Vizoso F, Allende MT, Fueyo A, Vigal G, García M, Ruibal A. CA 15.3 behaviour in patients with breast cystic disease. Int J Biol Markers 1989; 4: 181-2.

Vizoso F, Allende MT, Fueyo A, Vivanco J. Correlación entre las concentraciones séricas de CA 15.3 y estradiol en mujeres afectas de enfermedad macroquistica de la mama. Med Clin 1990a; 94(20): 798.

Vizoso F, Fueyo A, Allende MT, Ruibal A. Niveles de estradiol en el liquido quistico de mujeres afectas de enfermedad quistica mamaria [carta]. Rev Clin Españ 1990b; 186(4): 190.

Vogel PM, Georgiade NG, Fetter BF, Vogel FS, McCarty KS Jr. The correlation of histologic changes in the human breast with the menstrual cycle. Am J Pathol 1981; 104: 23-34.

Vorherr H. Fibrocystic breast nondisease [letter]. N Engl J Med 1985; 312(19): 1258-9.

Vorherr H. Fibrocystic breast disease: Pathophysiology, pathomorphology, clinical picture, and management. Am J Obstet Gynecol 1986; 154: 161-79.

Wales NAM, Ebling FJ. The control of the apocrine gland of the rabbit by steroid hormones. J Endocrinol 1971; 51:763-70.

Wang DY, Hamed H, Mockridge CI, Fentiman IS. Radioimmuno-assayable insulin-like growth factor-I in human breast cyst fluid. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; 25: 867-72.

Watt-Boolsen S, Eskildsen PC, Blaehr H. Release of prolactin, thyrotropin, and growth hormone in women with cyclical mastalgia and fibrocystic disease of the breast. *Cancer* 1985; 56: 500-2.

Weil C. Patología benigna de la mama y trastornos relacionados. Barcelona: Sandoz S.A.E., 1988.

Welsch C, Nagasawa H. Prolactin and Murine Mammary Tumorigenesis: A Review. *Cancer Res* 1977; 37:951-63.

Wellings SR, Alpers CE. Apocrine cystic metaplasia: subgross pathology and prevalence in cancer-associated versus random autopsy breasts. *Human Pathol* 1987; 18: 381-6.

Wellings SR, Jensen HM, Marcum RG. An atlas of subgross pathology of the human breast with special reference to possible precancerous lesions. *JNCI* 1975; 55: 231-73.

Wilding G, Lippman ME, Gelman EP. Effects of steroid hormones and peptide growth factors on protooncogenes c-fos expression in human breast cells. *Cancer Res* 1988; 48: 802-5.

Winder EL, MacCornack FA, Stellman SD. The epidemiology of breast cancer in 785 United States Caucasian women. *Cancer* 1978; 41: 2341-54.

Wisbey JR, Kumar S, Mansel RE, Preece PE, Pye JK, Hughes LE. Natural history of breast pain. *Lancet* 1983; ii: 672-4.

Wynder EL, Hill P. Prolactin, oestrogen, and lipids in breast fluid. *Lancet* 1977; 2: 840-1.

Yoshimoto Y, Wolfsen AR, Hirose F, Odell WD. Human chorionic gonadotropin-like material: Presence in normal human tissues. *Am J Obst Gynecol* 1979; 134: 79-33.