

Relación entre parénquima mamográfico y actividad secretora del epitelio mamario en mujeres premenopáusicas no lactantes

Francisco Vizoso*,
M. Luz Lamelas**,
Oscar Guinea***,
M. Paz Pravia***,
Roberto Fernández,
Irene Díez-Itza****,
M. Cruz Díez*

SUMMARY

The relationship between the mammographic features of breast tissue, ability to obtain breast secretions from the nipple, and their polypeptide composition, was evaluated in 384 premenopausal nonlactating women. Mammograms were graded according to Wolfe's criterious and the polypeptide composition of breast secretions was analyzed by using polyacrylamide gel electrophoresis. The required amount of breast fluid for the analysis (1 μ l) was obtained from 248 women (64.4%). In these women, breast secretions can be classified into two types according to their major protein components. Thus, 192 women (77.1%) showed type I secretions (major protein components: Zn- α_2 -glycoprotein, apolipoprotein D, and GCDF-15), while 37 women (14.9%) showed type II secretions (lactoferrin, lysozyme, and α -lactoalbumin). Only 19 women (7.6%) had mixed type secretions showing proteins from both groups. The distribution of the mammographic parenchymal patterns changed significantly according to the different women groups considered in this study. Secretors women showed a large percentage of high-risk Wolfe patterns (P2 and DY) in relationship to nonsecretor women. In addition, women with type II secretions had a higher percentage of DY parenchymal pattern (43%) than those showing type I secretion (18%) or mixed type (31%). These results suggest the existence of a relationship between the appearance of the breast tissue on mammograms and the secretory activity of their epithelium.

* Servicio de Cirugía General.
** Servicio de Ginecología.
*** Servicio de Radiodiagnóstico.
Hospital de Jove. Gijón.
**** Servicio de Ginecología.
Hospital Carmen y Severo
Ochoa. Cangas del Narcea.

Correspondencia:
Francisco Vizoso.
Servicio de Cirugía.
Hospital de Jove.
Apartado 385.
33290 Gijón.

Palabras clave

Fluido mamario, Patrones mamográficos, Riesgo de cáncer mamario.

Key words

Breast fluid, Mammographic patterns, Breast cancer risk.

INTRODUCCION

Puesto que el cáncer de mama es el más frecuente cáncer en las mujeres occidentales, el estableci-

miento del riesgo de padecerlo debe de ser una parte esencial de la práctica clínica en las mujeres sometidas a chequeo mamario. En esta línea, diversos estudios demostraron la importancia de la historia fa-

miliar como factor de riesgo,^{1, 2, 3} pero la mayoría de las mujeres no presentan antecedentes familiares de cáncer de mama, y en ellas el riesgo de desarrollar esta neoplasia no puede ni mucho menos ser excluido. Además, el diagnóstico de determinadas lesiones histológicas del tejido mamario asociadas con un mayor riesgo de cáncer solamente^{4, 5, 6, 7} es posible mediante estudios histológicos o citológicos motivados normalmente ante la existencia de signos clínicos o mamográficos sospechosos. Por otra parte, ciertos hallazgos morfológicos de la mama observados en las mamografías están asociados también con un mayor riesgo de cáncer mamario (patrones parenquimatosos DY y P2 de la clasificación de Wolfe^{8, 9, 10}). Sin embargo, aunque existe consenso general en que la graduación de Wolfe identifica un grupo de mujeres con un alto riesgo de desarrollar cáncer de mama, también lo hay en que la magnitud de ese riesgo es mucho más baja que la descrita originariamente por Wolfe^{11, 12, 13}.

De todo lo anterior puede deducirse que todavía hoy resulta necesario desarrollar nuevos métodos para examinar la historia natural del cáncer de mama, tratando así de detectar los estadios iniciales de esta enfermedad. En este sentido el análisis del fluido mamario obtenido a través de pezón en mujeres no lactantes tiene el atractivo de representar un método rápido y no invasivo de acceder a las características tanto morfológicas como metabólicas de tejido mamario.^{14, 15} Así, diversos estudios citológicos de dichos fluidos mamarios han conducido ya a identificar mujeres con un riesgo muy elevado de desarrollar cáncer mamario.¹⁶ Por otra parte, análisis bioquímicos de esos fluidos biológicos han logrado identificar una amplia variedad de sustancias que pueden desempeñar un papel en la transformación maligna. Esas sustancias acumuladas en los fluidos mamarios incluyen hormonas,^{17, 18, 19, 20} componentes tóxicos,²¹ agentes mutágenos^{22, 23} y antígenos asociados a tumores.²⁴

Como parte de nuestros estudios sobre las secreciones mamarias recientemente describimos que éstas pueden ser clasificadas en 2 tipos principales en base a la composición de sus componentes proteicos mayoritarios.²⁵ Las secreciones tipo I están caracterizadas por la presencia de Zn- α_2 -glicoproteína, apolipoproteína D y la proteína-15 del fluido quístico de la enfermedad macroquística de la mama (GCDFP-15). Por el contrario, las secreciones tipo II están caracte-

rizadas por la presencia de lactoferrina, lisozima y α -lactoalbúmina, que son componentes normales de la leche. Después de excluir las mujeres que habían sido gestantes en los últimos 4 años y aquellas tratadas hormonalmente pudimos comprobar que si bien el patrón polipeptídico tipo I fue el más frecuentemente hallado, las secreciones con patrón tipo II estuvieron presentes en el 47% de las pacientes con cáncer mamario, en el 16% de las pacientes con patología mamaria benigna y tan sólo en el 8% de las mujeres sin patología mamaria.²⁶

En base a esos resultados y en un intento de aproximarnos a la posible significación de las secreciones mamarias para predecir el riesgo de cáncer, el objeto del presente estudio fue evaluar en 385 mujeres premenopáusicas la relación entre la capacidad de obtener secreciones mamarias a través del pezón, y en su caso su patrón polipeptídico, con un factor de riesgo ya establecido como es la apariencia morfológica del tejido mamario detectado en las mamografías.

MATERIAL Y METODOS

Población estudiada

La población estudiada consistió en 385 mujeres premenopáusicas (edad media, 42,6 años) y normalmente menstruantes que acudieron consecutivamente al Hospital de Jove de Gijón para chequeo mamario. En todas ellas se excluyó la presencia de cáncer mamario mediante estudio clínico, mamográfico, ecográfico, citológico y/o histológico en algunos casos. Fueron excluidas del estudio aquellas mujeres que fueron gestantes en los 4 años previos al estudio o medicadas hormonalmente al menos en los últimos 6 meses. Asimismo, fueron excluidas del estudio aquellas mujeres con patología endocrinológica y las sometidas a tratamiento quirúrgico en los últimos 6 meses. Todas las mujeres participantes en el estudio respondieron un detallado cuestionario acerca de su historia médica y reproductiva.

Obtención de secreciones mamarias

Los fluidos mamarios fueron obtenidos en la primera consulta clínica de las mujeres y mediante compresión manual de los 4 cuadrantes periareola-

res del pezón, recogido por medio de tubos capilares y transferido a un tubo de microcentrífuga. Las mujeres fueron clasificadas como secretoras siempre y cuando al menos 1 μ l pudo ser conseguido de esa forma. Las mujeres en las que ese volumen mínimo no fue alcanzado en 2 intentos como mínimo en el intervalo de un año fueron consideradas como no secretoras. Fueron también incluidas en este grupo un total de 35 mujeres, cuyos fluidos parecían proceder del espacio intersticial del tejido mamario, puesto que sus patrones proteicos estaban estrechamente relacionados con los hallados habitualmente en el suero. Tan sólo 2 mujeres presentaban secreción espontánea por el pezón, motivo por el que habían acudido a consulta. La presencia de lesiones proliferativas intraductales fue excluida en esas 2 mujeres mediante estudio galactográfico y evaluación citológica.

El volumen de secreciones mamarias varió de 1 a 315 μ l, y tras su obtención las muestras fueron almacenadas congelándolas a -20° C hasta la realización de los análisis bioquímicos.

Clasificación de las secreciones mamarias mediante electroforesis en geles de poliacrilamida

Las muestras de fluido mamario fueron analizadas mediante electroforesis en geles homogéneos de poliacrilamida al 12% de 0,5 mm de grosor, a 50 mA durante 30 minutos en un aparato Bio-Rad de acuerdo al método de Laemmli.²⁷ Con el objeto de abolir la interferencia de inmunoglobulinas, las muestras fueron tratadas con un tampón no reductor previamente al análisis electroforético. Finalmente, las proteínas fueron teñidas con azul de Coomassie. Las secreciones mamarias fueron clasificadas de acuerdo a la composición de sus componentes proteicos mayoritarios y siguiendo nuestra clasificación previa.²⁵ Las secreciones tipo I mostraron bandas distintas de 44, 24 y 17 kDa, mientras que las tipo II exhibieron bandas de 80, 15 y 14 kDa. Las secreciones que contuvieron bandas de ambos grupos fueron clasificadas como de tipo mixto.

Mamografías

Todas las mamografías fueron interpretadas por 2 radiólogos independientes sin conocimiento previo de

la cualificación secretora de las mujeres ni acceso a la información sobre el patrón proteico de las secreciones mamarias. Las mamografías fueron clasificadas de acuerdo a los criterios de Wolfe.⁹

N1: Baja densidad del parénquima mamario con gran cantidad de grasa.

P1: Prominencia ductal involucrando a menos de una cuarta parte de la mama.

P2: Prominencia ductal involucrando a más de una cuarta parte de la mama y frecuentemente con un componente nodular.

DY: Aumento de la densidad del parénquima con o sin áreas de nodularidad.

Imágenes representativas de estos 4 patrones parenquimatosos mamarios (PPM) son mostradas en la figura 1.

Análisis estadístico

La significación estadística de las asociaciones entre los diferentes factores individuales y los PPM fue evaluada utilizando la prueba del Chi cuadrado. Además de la capacidad para obtener secreciones a través del pezón y de su patrón polipeptídico, los otros factores individuales considerados fueron la edad, paridad, edad de menarquía, edad del primer embarazo, historia de uso pasado de anticonceptivos orales e historia familiar de cáncer de mama. Un modelo de regresión logística policlotómico multivariante (BMDPPR) fue utilizado para evaluar simultáneamente la influencia de más de un factor sobre la apariencia del parénquima mamario observado en las mamografías.²⁸ El nivel de significación establecido fue del 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Obtención de secreciones mamarias

El volumen mínimo de fluido mamario requerido (1 μ l) fue obtenido en 248 mujeres (64,4%), siendo por ello esas mujeres consideradas como secretoras. Este porcentaje está de acuerdo con nuestra observación previa de una mayor prevalencia de mujeres secretoras en la población de premenopáusicas de nuestro medio.^{25, 26} Además fue posible obtener secreciones

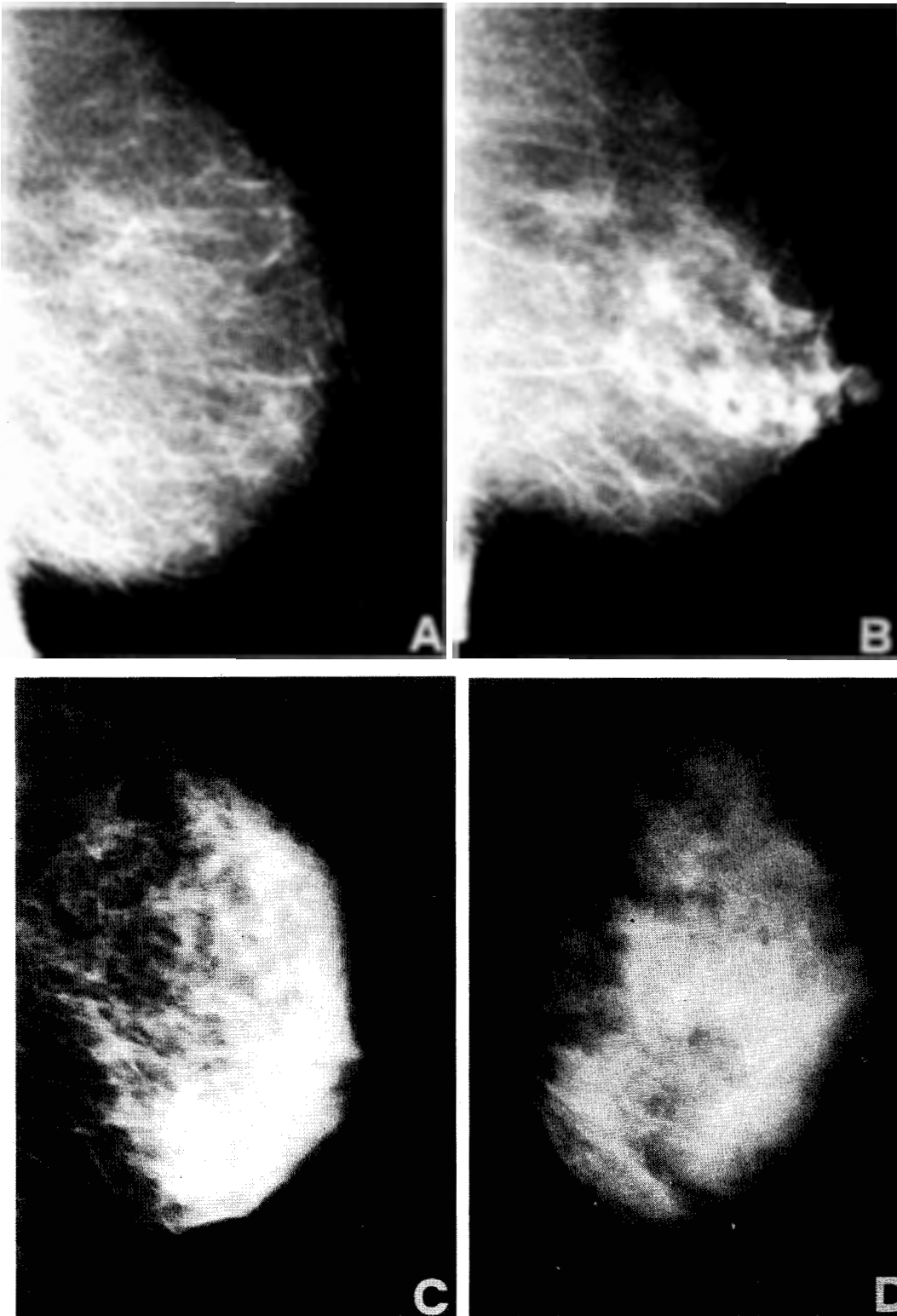


Fig. 1. Imágenes representativas de los diferentes patrones parenquimatosos mamarios de Wolfe: A: N1. B: P1. C: P2. D: DY.

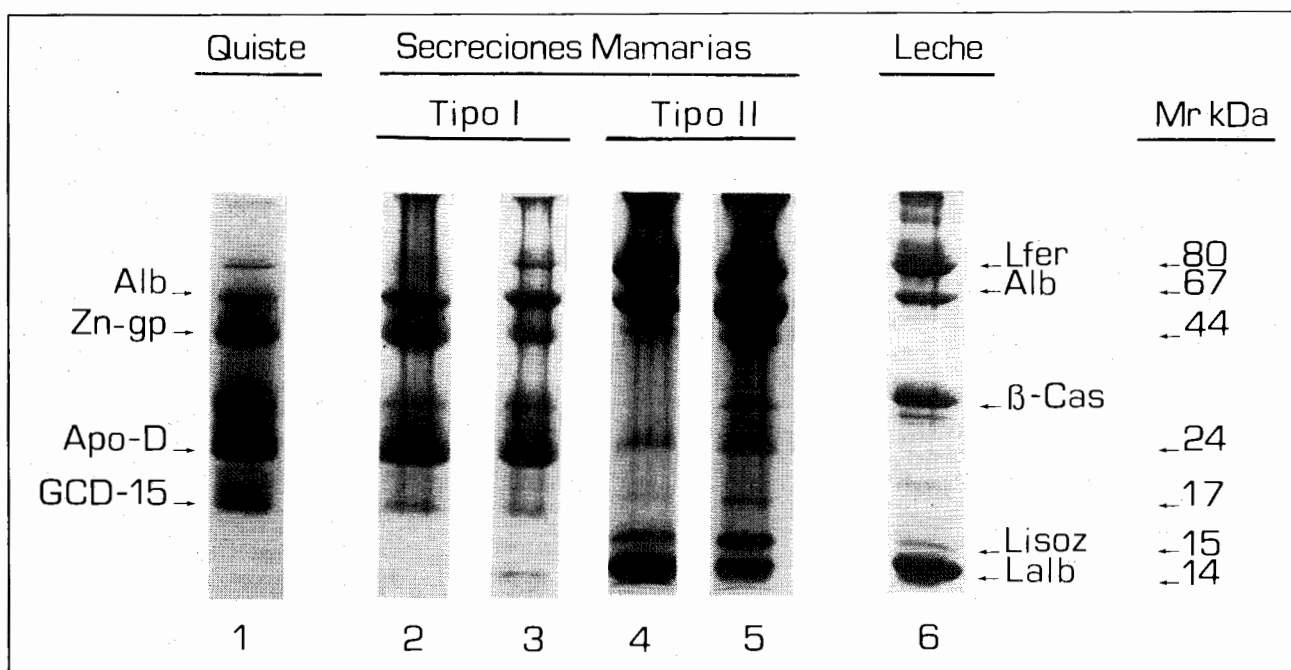


Fig. 2. Electroforesis en geles de poliacrilamida al 12% de las proteínas de las secreciones mamarias, leche humana y fluido quístico. Las alícuotas (1 μ l) de fluido quístico (línea 1), leche humana (línea 6) y las representativas de la población estudiada (líneas 2, 3, 4 y 5) fueron tratadas con un tampón no reductor. Los geles fueron teñidos con azul de Coomassie. Ordenadas a izquierda y derecha, están representadas las movilidades relativas y las masas moleculares en kilodaltons de la lactoferrina (Lfer), albúmina (Alb), β -caseína (β -Cas), lisozima (Lisoz), α -lactoalbúmina (Lalb), Zn- α_2 -glicoproteína (Zn-gp), apolipoproteína D (Apo-D) y GCD-15 (GCD-15).

de ambas mamas en el 69% de esas mujeres secretoras.

Incidencia de los patrones proteicos de las secreciones mamarias

El análisis electroforético en geles de poliacrilamida de los fluidos mamarios confirmó nuestra descripción previa acerca de la existencia de 2 tipos principales de secreciones en base a la composición de sus componentes proteicos mayoritarios (fig. 2). Del total de las mujeres secretoras, 192 mujeres (77,1%) presentaron secreciones tipo I (componentes proteicos mayoritarios: Zn- α_2 -glicoproteína, apolipoproteína D y GCD-15) y 37 (14,9%) tuvieron secreciones tipo II (lactoferrina, lisozima y α -lactoalbúmina). Por otra parte, 19 mujeres (7,6%) mostraron secreciones de tipo mixto, con proteínas propias de los 2 tipos descritos anteriormente. Esta distribución de los tipos de secreción en mujeres premenopáusicas

está de acuerdo con nuestros resultados iniciales indicando una incidencia predominante de secreciones tipo I en mujeres no afectas de cáncer mamario y que no han sido gestantes en los últimos 4 años.²⁶

Evaluación de los factores asociados con la distribución de los patrones parenquimatosos mamográficos

Las proporciones de los grados de Wolfe N1, P1, P2 y DY en la población de mujeres premenopáusicas estudiada están representadas en la tabla I. No constatamos la existencia de diferencias significativas en la distribución de esos PPM entre los diferentes grupos de mujeres clasificadas de acuerdo a su edad. Sin embargo, nuestros resultados están de acuerdo con otros trabajos que indican la existencia de una mayor proporción de los PPM P2 y DY en las mujeres premenopáusicas.^{13, 29, 30, 31, 32}

El análisis univariante demostró que de todas las

TABLA I

**DISTRIBUCION DE LOS PATRONES
PARENQUIMATOSOS MAMOGRAFICOS POR
EDADES EN 385 MUJERES PREMENOPAUSICAS**

| Grupos de mujeres por edades | N.º total | Patrón parenquimatoso mamográfico (clasificación de Wolfe) | | | |
|------------------------------|-----------|--|---------------|---------------|---------------|
| | | N1 | P1 | P2 | DY |
| ≤ 35 | 38 | 7 (18,4%) | 5 (13,5%) | 16 (42,1%) | 10 (26,3%) |
| 36-40 | 85 | 10 (11,7%) | 23 (27,1%) | 33 (38,8%) | 19 (22,3%) |
| 41-45 | 144 | 7 (4,8%) | 49 (34%) | 65 (45,1%) | 23 (15,9%) |
| < 45 | 118 | 8 (6,7%) | 38 (32,2%) | 50 (42,3%) | 22 (18,7%) |

variables consideradas solamente la capacidad de obtener secreciones mamarias a través del pezón y el patrón polipeptídico de dichas secreciones estuvieron significativamente asociadas con la distribución de los grados de Wolfe. Otros trabajos han demostrado, en cambio, una asociación significativa entre los grados de Wolfe y factores individuales como la edad,^{13, 29, 30, 31, 32} edad de menarquía,^{32, 33, 34} edad del primer embarazo, paridad^{34, 35, 36} e historia previa de uso de anticonceptivos orales.^{37, 38} Una razón para explicar la no existencia de esas asociaciones en nuestro trabajo podría ser que nosotros consideramos un número de mujeres mucho más reducido en relación a aquellos estudios.

Como se puede comprobar en la tabla II nuestros resultados indican la existencia de un porcentaje significativamente mayor de los PPM P2 y DY, ambos considerados de riesgo,^{8, 9, 10, 11, 12, 13} en el grupo de mujeres secretoras en comparación a las no secretoras. Además también existieron diferencias significativas de la distribución de los PPM en función del patrón polipeptídico de las secreciones mamarias, destacando la presencia de un mayor porcentaje del PPM DY en el grupo de mujeres con secreciones tipo II (43%) en relación a aquellas con secreciones tipo I (18%), mientras que las que tuvieron secreciones tipo mixto mostraron un porcentaje intermedio (31%) de ese patrón de riesgo. Todo ello sugiere la existencia de una relación entre la actividad secretora del epitelio mamario y la apariencia morfológica del tejido mamario detectado en las mamografías.

TABLA II

**DISTRIBUCION DE LOS PATRONES
PARENQUIMATOSOS MAMOGRAFICOS DE LA
CLASIFICACION DE WOLFE DE ACUERDO AL
STATUS SECRETOR MAMARIO EN 385 MUJERES
PREMENOPAUSICAS**

| Grupo de mujeres | N.º total | Edad (años) media ± ES | Patrón parenquimatoso mamográfico (clasificación de Wolfe) | | | |
|----------------------------|-----------|------------------------|--|---------------|---------------|---------------|
| | | | N1 | P1 | P2 | DY |
| No secretoras... | 137 | 43,6 ± 0,3 | 16 (11,6%) | 58 (42,3%) | 44 (32,1%) | 19 (13,8%) |
| Secreción tipo I | 192 | 42,2 ± 0,3 | 13 (6,7%) | 49 (25,5%) | 95 (49,4%) | 35 (18,2%) |
| Secreción tipo mixto | 19 | 43,3 ± 1 | 1 (5,2%) | 4 (21%) | 8 (42,1%) | 6 (31,5%) |
| Secreción tipo II | 37 | 41,5 ± 0,9 | 2 (5,4%) | 4 (10,8%) | 15 (40,5%) | 16 (43,2%) |

$\chi^2 = 36,4$; gl = 9; $p < 0,001$.

DISCUSION

Este estudio demuestra que la distribución de los diferentes patrones parenquimatosos mamográficos (PPM) cambia significativamente en las mujeres premenopáusicas y no lactantes cuando éstas son consideradas en diferentes grupos de acuerdo a la capacidad para obtener en ellas secreciones mamarias a través del pezón y en relación a su correspondiente patrón polipeptídico.

Diversos estudios describieron que factores como el estado menopáusico,^{29, 30, 31, 33, 32} edad de menarquía,^{32, 33, 34} edad del primer embarazo, paridad,^{34, 35, 36} uso de anticonceptivos orales,^{37, 38} dieta rica en grasas saturadas³⁹ o ciertos cambios histológicos en el tejido mamario están todos ellos asociados con la graduación mamográfica de Wolfe. Pero hasta la fecha ningún estudio había relacionado la apariencia del parénquima mamario observado en las mamografías con lo que podemos denominar actividad secretora del epitelio mamario.

Nuestros resultados indican, en primer lugar, que las mujeres en las que no fue posible obtener secreciones mamarias, y que denominamos «no secretoras», presentan un mayor porcentaje de los PPM N1 (mama enteramente ocupada por grasa) y P1 (prominencia ductal que ocupa menos de una cuarta parte de la mama) en relación a las mujeres secretoras. Por el contrario, este último grupo de mujeres exhi-

ben un porcentaje mayor de los PPM P2 (prominencia ductal que ocupa más de una cuarta parte de la mama) y DY (ocupación del parénquima mamario por una densidad difusa o nodular). Ello nos induce a considerar que la presencia de PPM radiológicamente densos está asociada a una mayor actividad funcional del epitelio mamario en mujeres premenopáusicas.

En segundo lugar, nuestros resultados también indican la existencia de una diferente distribución de los PPM en función del tipo del patrón polipeptídico de las secreciones mamarias. Destacando un mayor porcentaje del PPM DY en las mujeres con secreciones tipo II (43%) en relación a aquellas con tipo I (18%), mientras que las que tuvieron secreciones tipo mixto mostraron un porcentaje intermedio (31%) de ese PPM radiológicamente más denso. Ello sugiere también la existencia en mujeres premenopáusicas no lactantes de una relación entre la estructura morfológica del parénquima mamario observado en las mamografías y la calidad de la actividad secretora proteica de su epitelio.

Por otra parte, teniendo en cuenta que ciertos hallazgos mamográficos han sido encontrados asociados con un mayor riesgo de desarrollar carcinoma mamario, la distribución de los PPM puede ser útil para clarificar el posible efecto de la actividad secretora del epitelio mamario sobre el riesgo de cáncer. Así, Wolfe⁹ describió inicialmente que el PPM DY estaba asociado con un riesgo 22 veces mayor de desarrollar subsiguiente cáncer mamario en relación al PPM N1. Aunque otros estudios posteriores no detectaron un riesgo tan elevado para aquel PPM denso,¹¹⁻¹³ existe acuerdo general en que el riesgo de cáncer mamario es más elevado en las mujeres con los PPM P2 y DY, asociaciones que parecen ser particularmente fuertes en mujeres jóvenes.^{30, 42} Por tanto, nuestros resultados indicando un mayor porcentaje de esos PPM de riesgo en las mujeres secretoras; sugieren que esas mujeres pueden tener un riesgo más elevado de cáncer de mama. Además, la mayor incidencia del PPM DY en el grupo de mujeres con patrón polipeptídico tipo II de sus secreciones mamarias y el hecho de que ese tipo de patrón proteico esté presente en las secreciones de un alto porcentaje de mujeres con cáncer de mama^{25, 26} podría conducir a la identificación de un subgrupo de mujeres con un riesgo aún más elevado de desarrollar cáncer de mama.

Así pues, los resultados obtenidos sugieren que probablemente los mismos factores que influyen en la apariencia del parénquima mamario sobre las mamografías podrían también influenciar la actividad secretora mamaria en mujeres no lactantes como resultado de cambios en la estructura anatómica y del estado funcional de su epitelio mamario. Por ello consideramos que estudios más amplios sobre esos posibles factores, hormonales o metabólicos, relacionados con la actividad secretora del epitelio mamario podrían ayudar a entender mejor la historia natural del carcinoma mamario.

Finalmente, a la espera de los resultados de un largo seguimiento clínico que ya está en marcha, consideramos que las mujeres secretoras, y en especial aquellas con secreción tipo II, pueden constituir un atractivo grupo para estudios de prevención del cáncer mamario.

RESUMEN

La relación entre la apariencia mamográfica del tejido mamario, la capacidad de obtener secreciones mamarias a través del pezón y su composición proteica fue evaluada en 385 mujeres premenopáusicas no lactantes. Los mamogramas fueron graduados de acuerdo a la clasificación de Wolfe y la composición polipeptídica de las secreciones mamarias fue analizada mediante electroforesis en geles de poliacrilamida. El volumen mínimo requerido de fluido mamario para ese análisis (1 μ l) fue obtenido en 248 mujeres (64,4%). En esas mujeres las secreciones mamarias pudieron clasificarse en 2 tipos principales de acuerdo a sus componentes proteicos mayoritarios. Así, 192 mujeres (77,1%) presentaron secreciones tipo I (componentes proteicos mayoritarios: Zn- α_2 -glicoproteína, apolipoproteína D y GCDFP-15), mientras que 37 mujeres (14,9%) mostraron secreciones tipo II (lactoferrina, lisozima y α -lactoalbúmina). Tan sólo 19 mujeres (7,6%) tuvieron secreciones de tipo mixto que contuvieron proteínas de los 2 grupos. La distribución de los diferentes patrones parenquimatosos mamográficos varió significativamente de acuerdo a los diferentes grupos de mujeres considerados en este estudio. Las mujeres secretoras presentaron un mayor porcentaje de los patrones de alto riesgo de Wolfe (P2 y DY) en relación a las no secretoras. Además, las mujeres con secreción ti-

po II mostraron un porcentaje superior del patrón radiológicamente más denso-DY (43%) en relación a aquellas mujeres con secreción tipo I (18%) o tipo mixto (31%). Esos resultados sugieren la existencia de una relación entre la apariencia morfológica mamográfica del tejido mamario y la actividad secretora de su epitelio.

AGRADECIMIENTOS

Al profesor C. López-Otín, por sus útiles comentarios y la revisión del manuscrito; al doctor L. M. Sánchez, por su labor en la determinación de los componentes proteicos de las secreciones mamarias. Asimismo deseamos también expresar nuestro agradecimiento a todos los miembros de los servicios de Cirugía General, de Radiodiagnóstico y Ginecología del Hospital de Jove de Gijón por la ayuda que nos han prestado para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- Macmahon B, Cole P, Brown J. Etiology of human breast cancer: A review. *J Natl Cancer Inst* 1973; 50: 21-42.
- Kelsey JL. A review of the epidemiology of human breast cancer. *Epidemiol Rev* 1979; 1: 74-109.
- Petrakis NL, Ernster VL, King MC. Breast. En: Schottenfield D, Fraumeni JF Jr (eds.). *Cancer epidemiology and prevention*. Saunders. Philadelphia, 1982; 855-870.
- Wellings SR, Jensen HM, Marcum RG. An atlas of subgroups pathology of the human breast with special reference to possible precancerous lesions. *J Natl Cancer Inst* 1975; 55: 231-273.
- Page DL, Vander Zwaag R, Rogers LW, Williams LT, Walker WE, Hartmann WH. Relation between component parts of fibrocystic disease complex and breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1978; 61: 1055-1063.
- Carter CL, Corle DK, Micozzi MS. A prospective study of the development of breast cancer in 16.692 women with benign breast disease. *Am J Epidemiol* 1988; 128: 467-477.
- Page DL, Dupont WD. Anatomic markers of human premalignancy and risk of breast cancer. *Cancer* 1990; 66: 1326-1335.
- Wolfe JN. A study of breast parenchyma by mammography in the normal woman and those with benign and malignant disease. *Radiology* 1967; 89: 201-205.
- Wolfe JN. Risk for breast cancer development determined by mammographic parenchymal pattern. *Cancer* 1976; 37: 2486-2492.
- Wolfe JN. Breast patterns as an index of risk for developing breast cancer. *Am J Roentgenol* 1976; 126: 1130-1139.
- Gooddwin PJ, Boyd NF. Mammographic parenchymal patterns and breast cancer risk: A critical appraisal of evidence. *Am J Epidemiol* 1988; 127: 1097-1108.
- Saftlas AF, Szklo M. Mammographic parenchymal patterns and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 1987; 9: 146-174.
- De Stavola BL, Gravelle IH, Wang DY, Allen DS, Bulbrook RD, Fentiman IS, Hayward JL, Chaudary MC. Relationship of mammographic parenchymal patterns with breast cancer risk factors and risk of breast cancer in a prospective study. *Int J Epidemiol* 1990; 19: 247-254.
- Sartorius OW, Smith HS, Morris P, Benedict D, Friesen L. Cytologic evaluation of breast fluid in the detection of breast disease. *J Natl Cancer Inst* 1977; 59: 1073-1078.
- Petrakis NL. Physiologic, biochemical and cytologic aspects of nipple aspirate fluid. *Breast Cancer Res Treat* 1986; 8: 7-19.
- Petrakis NL, Wrensch MR, Ernster VL, Miike R, King EB, Goodson WH. Prognostic significance of atypical epithelial hyperplasia in nipple aspirates of breast fluid. *Lancet* 1987; ii: 505.
- Wynder EL, Hill P. Prolactin, oestrogens, and lipids in breast fluid. *Lancet* 1977; ii: 840.
- Miller WR, Humeniuk V, Forrest APM. Factors affecting dehydroepiandrosterone sulphate levels in human breast secretions. *Breast Cancer Res Treat* 1981; 1: 267-272.
- Hill P, Garbaczewski L, Wynder EL. Testosterone in breast fluid. *Lancet* 1983; i: 761.
- Rose DP. Hormones in breast fluid. *Breast Cancer Res Treat* 1986; 8: 25-28.
- Petrakis NL, Gruenke LD, Beelen TC, Castagnoli N, Craig JC. Nicotine in breast fluid of non-lactating women. *Science* 1978; 199: 303-305.
- Petrakis NL, Maack CA, Lee RE, Lyon M. Mutagenic activity in nipple aspirates of human breast fluid. *Cancer Res* 1980; 40: 188-189.
- Scott WN, Miller WR. The mutagenic activity of human breast secretions. *J Cancer Res Clin Oncol* 1990; 116: 499-502.
- Sánchez LM, Ferrando AA, Díez-Itza I, Vizoso F, Ruibal A, López-Otín C. Cathepsin D in breast secretions from women with breast cancer. *Br J Cancer* 1993; 67: 1076-1081.
- Sánchez LM, Vizoso F, Díez-Itza I, López-Otín C. Identification of the major protein components in breast secretions from women with benign and malignant breast diseases. *Cancer Res* 1992; 52: 95-100.
- Vizoso F, Sánchez LM, Díez-Itza I, Lamelas ML, López-Otín C. Factors affecting protein composition of breast secretions from nonlactating women. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 23: 251-258.
- Laemmi UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (Lond.)* 1970; 227: 680-685.
- Dixon WJ (ed.). *BMDP statistical software*. University of California Press. Berkeley, 1986.
- Krook PM, Carlile T, Bush W, Hall MH. Mammographic parenchymal patterns as a risk indicator for prevalent and incident cancer. *Cancer* 1978; 41: 1093-1097.
- Brisson J, Merletti F, Sadowsky NL, Twaddle JA, Morrison AS, Cole P. Mammographic features of the breast and breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 1982; 115: 428-437.
- Bergvist L, Tabar L, Bergstrom R, Adami H. Epidemiology determinants of the mammographic parenchymal patterns: A population-based by study within a mammographic screening program. *Am J Epidemiol* 1987; 126: 1075-1081.

RELACION ENTRE PARENQUIMA MAMOGRAFICO Y ACTIVIDAD SECRETORA
DEL EPITELIO MAMARIO EN MUJERES PREMENOPAUSICAS NO LACTANTES

32. Leinster SJ, Walsh PV, Whitehouse GH, Al-Sumidaie AM. Factors associated with mammographic parenchymal patterns. *Clin Radiol* 1988; 39: 252-256.
33. Brisson J, Morrison AS, Khalid N. Mammographic parenchymal features and breast cancer detection in the breast cancer demonstration project. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 1534-1540.
34. De Waard F, Romback JJ, Collette HJA, Slotboom B. Breast cancer risk associated with reproductive factors and breast parenchymal patterns. *J Natl Cancer Inst* 1984; 72: 1277-1282.
35. Buchanan JB, Weisberg BF, Sandoz JP, Gray LA, Bland KI. Selected prognostic variables for mammographic parenchymal patterns. *Cancer* 1978; 41: 1093-1097.
36. Tabar L, Dean PB. Mammographic parenchymal patterns: Risk indicator for breast cancer? *Am J Med Ass* 1982; 247: 185-189.
37. Gravelle IH, Bulstrode JC, Wang DY, Bulbrook RD, Hayward JL. The relation between radiographic features and determinants of risk. *Br J Radiol* 1980; 53: 107-113.
38. Leinster SJ, Whitehouse GH. The mammographic breast pattern and oral contraception. *Br J Radiol* 1986; 237-239.
39. Brisson J, Verreault R, Morrison AS, Tennina S, Meyer F. Diet, mammographic features of breast tissue, and breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 1989; 130: 14-24.
40. Weellings SR, Wolfe JN. Correlative studies of the histologic and radiographic appearance of the breast parenchyma. *Radiology* 1978; 129: 299-306.
41. Fisher ER, Palekar A, Kim WS, et al. The histopathology of mammographic patterns. *Am J Clin Pathol* 1978; 69: 421-426.
42. Boyd NF, O'Sullivan B, Campbell JE, et al. Mammographic signs as risk factors for breast cancer. *Br J Cancer* 1982; 45: 185-193.