

**DOSAGEM PLASMÁTICA DO FATOR DE VON WILLEBRAND E VARIÁVEIS CLÍNICAS
COMO FATORES PROGNÓSTICOS NO CÂNCER DE MAMA***PLASMATIC VON WILLEBRAND FACTOR MEASUREMENT AND CLINICAL VARIABLES AS
PROGNOSTIC FACTORS OF BREAST CANCER*Nilton Leite Xavier¹, José Antonio Cavalheiro², André Anjos da Silva³**RESUMO**

Introdução: O fator Von Willebrand (vW) é uma glicoproteína cujo aumento da concentração sérica está associado ao mecanismo de estimulação do epitélio endotelial facilitando a metástase do câncer de mama.

Objetivo: O objetivo deste estudo é avaliar o valor prognóstico do vW no câncer de mama, assim como variáveis clínicas.

Métodos: Analisou-se uma coorte de 50 pacientes com câncer de mama (CM) do Serviço de Mastologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, entre os anos 2002 e 2005, quando se avaliou o vW nestes 50 casos e em 53 controles. Decorridos 42 meses da última inclusão, todas as pacientes com CM foram chamadas para nova avaliação do vW por imunoturbidimetria. Consideramos valores elevados de vW quando acima de 160%. As pacientes foram analisadas de acordo com faixa etária de até 59 anos ou ≥ 60 anos de idade. O desfecho clínico foi dividido entre bom (sem evidência de doença) e ruim (óbito ou com evidência de doença).

Resultados: Obtivemos nova coleta em 41 pacientes que retornaram para revisão. O fator vW isoladamente não apresentou um bom desempenho prognóstico para o seguimento do CM em relação ao desfecho clínico. Presença de linfonodos axilares positivos, índice de massa corporal (IMC) ≥ 30 kg/m², menarca ≤ 11 anos e tamanho tumoral > 2 cm foram as variáveis significativas para determinação do prognóstico nesta coorte.

Conclusões: Neste estudo o fator de vW não se mostrou útil para determinação de prognóstico no CM, enquanto que o estado axilar e o diâmetro tumoral foram fatores determinantes de sobrevida. Mais estudos são necessários para confirmar se a menarca e o IMC também são fatores prognósticos.

Palavras chave: *VonWillebrand; fator prognóstico; câncer de mama*

ABSTRACT

Background: The Von Willebrand factor (vW) is a glycoprotein whose high serum levels are associated with the mechanism of endothelium stimulation promoting metastatic processes in breast cancer.

Aim: This study is to assess the prognostic value of vW in breast cancer, as well as other clinic variables.

Methods: We evaluated a cohort of 50 patients with breast cancer (BC) who were being treated at the Mastology Department of Hospital de Clínicas de Porto Alegre from 2002 to 2005. We measured the vW levels of these 50 patients and 53 controls. Forty-two months after the last patient was included in the study, all patients with BC had their vW levels measured by means of immunoturbidimetric assay. vW values above 160% were considered high. The patients were divided into two age groups: 59 years old or younger and 60 years old or older. The clinical outcome was good (no evidence of disease) and poor (death or evidence of disease).

Results: We obtained new blood samples or forty-one who returned to revision. Individual values of vW did not show a good prognostic information in the follow up of patients with breast cancer in relation to clinical outcomes. Positive axillary lymph nodes, body mass index (BMI) ≥ 30 kg/m², menarche ≤ 11 years old, and tumor size > 2 cm, were significant predictors of prognosis in this cohort.

Conclusions: In this study vW as not useful to determine prognosis in breast cancer, while axillary status and tumoral size were predictive factors of survival. More studies are necessary to confirm if menarche and BMI are prognostic factors too.

Keywords: *Von Willebrand; prognostic factors; breast cancer*

Rev HCPA 2010;30(2):105-110

O Fator Von Willebrand (vW) é uma glicoproteína sintetizada nas células endoteliais e nos megacariócitos (1). O aumento das concentrações séricas do vW está associado com uma série de condições patológicas (1,2) como o diabetes melito, hepatopatias, colagenoses, infarto, neoplasias malignas e outras condições que cursam com o aumento da proliferação endotelial e dano vascular.

A neoangiogênese é responsável pela nutrição e sobrevivência dos tumores sólidos, pela invasão vascular e a metastatização tumoral (2,3), depende de fatores facilitadores que estimulem o epitélio endotelial e o fator de vW tem sido associado a esse mecanismo (4,5).

A literatura é pobre no estudo da associação entre o vW e o câncer de mama (CM) (5), não sendo conhecida sua prevalência na população da maioria dos países. Estabelecemos

1. Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

2. Serviço de Mastologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

3. Acadêmico, Faculdade de Medicina, UFRGS.

Contato: Nilton Leite Xavier. E-mail: 00003774@famed.ufrgs.br (Porto Alegre, RS, Brasil).

previamente a frequência percentual dos valores do fator vW, em 50 pacientes com câncer de mama e em 53 controles sem câncer de mama, sendo respectivamente de 30% e 11% (6).

Pela possibilidade de terapia antiangiogênica (6,7) o objetivo principal deste estudo foi avaliar o vW em pacientes com câncer de mama como um fator prognóstico. O objetivo secundário foi avaliar outras variáveis clinicopatológicas que possam ter influenciado o desfecho clínico destas pacientes.

MÉTODOS

O cálculo amostral, em estudo caso e controle, com pacientes pareadas por idade (6), foi baseado na hipótese de que o fator de vW esteja alterado em apenas 10% da população saudável e de que a prevalência nas portadoras de câncer de mama seja de 40%; nestas condições o "n" é de 90 pacientes, na proporção 1:1, para casos e controles. Incluiu-se 50 pacientes com câncer de mama. Esta coorte foi constituída no Serviço de Mastologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) entre junho de 2002 e março de 2005. O critério de inclusão foi a presença de tumor de mama até 5,0 cm e axila sem evidência clínica de comprometimento. Os critérios de exclusão foram pacientes com diabetes, cardiopatia, hemoglobina inferior a 10,5g/dL contagem de plaquetas inferior a 100 mil ou acima de 440.000/ μ L e presença de qualquer foco infeccioso. Todas assinaram o consentimento informado e não há conflito de interesse nos resultados.

O fator vW, determinado pela técnica de imunoturbidimetria, no plasma, foi categorizado em normal (6) (valores de 50 até 160%) e elevado (valores acima de 160%). As outras variáveis analisadas foram idade, peso e estatura para avaliar o índice de massa corporal (IMC), menarca, *status* axilar e tamanho tumoral. A técnica de coloração utilizada, no diagnóstico histopatológico, foi hematoxilina e eosina (HE). O patologista não foi informado dos valores do fator vW. Da mesma forma, o bioquímico que determinou o fator de vW não tinha conhecimento da patologia da paciente. Todas foram tratadas no Serviço de Mastologia do HCPA (7), tendo 27 pacientes sido submetidas à mastectomia radical, 22 à cirurgia conservadora associada à radioterapia e uma optou apenas pelo uso de tamoxifeno. Nenhuma apresentava axila clinicamente comprometida, sendo 20 casos com T1 e 30 casos com T2. Das 49 operadas, 23 fizeram setorectomia e as demais mastectomia; 41 receberam quimioterapia (Qt) adjuvante com esquema FAC, três receberam apenas tamoxifeno e 5 nada receberam. Das 41 que fizeram Qt, 15 também receberam tamoxifeno.

Ao completar 42 meses da última inclusão, realizou-se novo recrutamento das 50 pacientes,

através de telefonema ou de carta, no período de junho/2007 até julho/2008, para nova verificação do fator de vW. Desta coorte, 41 fizeram a coleta de amostra de sangue para a dosagem plasmática do fator vW, realizado pela técnica de imunoturbidimetria.

Correlacionou-se os valores do vW por ocasião da primeira inclusão, com os valores atuais. A faixa etária foi categorizada em igual, ou menor do que 59 anos e a partir dos 60 anos (idosas).

O desfecho clínico foi categorizado, com boa evolução (sem evidência de doença) e má evolução (óbito pela doença e com doença). A correlação da evolução clínica foi realizada com os seguintes parâmetros, registrados por ocasião da inclusão: fator vW, categorizado em até 160% e acima; *status* axilar, categorizado em linfonodo negativo (LN -) e positivo (LN+), independente do número positivo; IMC, categorizada como não obesa e obesa, quando o IMC fosse < 30 ou \geq 30 kg/m², respectivamente. A menarca foi categorizada em precoce, quando igual ou inferior a 11 anos e não precoce, acima de 11 anos; e nódulo, categorizado em T1, menor ou igual a 2,0 cm e T2, de 2,1 até 5,0 cm.

A análise estatística dos valores do fator vW foi pelo teste t para diferença entre médias. Avaliou-se a correlação entre fator vW e evolução clínica, categorizada em sem doença atual: 1, ou falecida com doença: 2; e entre o fator de vW e os fatores de risco em avaliação. As variáveis categóricas foram analisadas pelo χ^2 e Pearson, para estudo de coorte. Na análise multivariada com as variáveis significantes da análise univariada o N ficou em 46, sendo 20 casos de T1 e 16 de T2. Nesta circunstância acrescentou-se o tamanho dos nódulos, como variável contínua. A sobrevivência livre de doença foi avaliada pela curva de Kaplan-Meier.

O estudo foi aprovado pela Comissão Científica e Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde (CEP) do HCPA.

RESULTADOS

Das 50 pacientes iniciais, obtivemos nova coleta de sangue em 41. Das nove pacientes restantes, ocorreram cinco óbitos consequentes ao câncer de mama (10%), um caso de óbito por infarto do miocárdio (2%), com 62 meses de evolução, sem doença. Três não compareceram à coleta (6%), porque moram em outro município e não atenderam a convocação, embora façam revisão periódica. Estão vivas 44 delas, após decorrido o seguimento médio de 57 meses, com mínimo de 43 e máximo de 72 meses. Três estão vivas e com doença. Uma faleceu de infarto, sem doença aparente, e foi excluída da análise. Deste grupo, 41 (82%) apresentam-se clinicamente sem doença.

As características das pacientes estão na Tabela 1. A correlação dos valores do vW, pré e pós-tratamento, estão na Tabela 2, ao passo que na Tabela 3 são apresentadas as correlações entre faixa etária e fator de vW, em que se encontrou valores pós-tratamento mais elevados em mulheres com mais de 60 anos, e essa dife-

rença foi estatisticamente significativa. As médias e as variâncias do vW pré e pós-tratamento foram 137,07% e 2089,37%, 179,97% e 4756,32%, respectivamente. Há significância estatística ($P < 0,001$).

Tabela 1 – Características demográficas e clínicas das pacientes.

Variáveis	N	Média ±DP	Extremos
Idade (anos)	49	56,3 ±12,3	34 – 78
Id menarca (anos)	46	13,4±2,4	10 – 26
Id menopausa (anos)	29	48,8 ±5,3	36 – 61
Nº de gestações	47	2,5 ±0,7	00 – 03
IMC (Kg/m ²)	48	27,3 ±4,9	19 – 39,9
Von (%)	49	134,8 ±44,5	57 – 248
Will (%)	41	179,9 ±68,9	75 – 378

Von: valores iniciais do fator de Von Willebrand; Will valores do 2º recrutamento.

Tabela 2 – Resultados do fator vW, nos 41 casos em que se fez as duas avaliações.

Fator de vW	Pré-tratamento (Von)	Pós-tratamento (Will)	Valor P
Até 160%	28 (68,3%)	16 (39,0%)	0,007
Acima de 160%	13 (31,7%)	25 (61,0%)	0,007

Tabela 3 – Análise pré e pós-tratamento dos valores VW correlacionados com a idade, categorizada em até 59 anos e ≥60 anos (N=41).

Idade/Fator vW	Até 160%	Acima de 160%	Total	RR [IC 95%]
Pré: vW				
Até 59 anos	17	05	22	RR =1,38
≥60 anos	11	08	19	[0,97 - 2,15]
Pós: vW				
Até 59 anos	12	10	22	RR =2,59
≥60 anos	04	15	19	[1,0 - 6,70]

A relação existente entre a evolução clínica e os parâmetros avaliados estão na Tabela 4, junto com a fração atribuível. Axila positiva, a obesidade, a menarca precoce e o T2 foram preditivos de mau prognóstico neste paciente. O fator do vW não foi um fator preditivo significativo.

Tabela 4 – Correlação com a evolução clínica:(média de 57 meses).

Variáveis	N	Risco Relativo (IC 95%)	Fração Atribuível
vW > 160%	49	1,40 (0,50 – 3,91)	–
LN positivo	49	2,20 (1,23 – 3,94)	54,5%
IMC ≥30	48	2,93 (1,43 – 5,95)	65,9%
Menarca ≤11	46	5,57 (1,41 – 22,2)	82,1%
Nódulo T2	49	1,63 (1,11 – 2,40)	38,7%

Na Tabela 5 é apresentada a análise estratificada com o cruzamento de dados para o fator de vW e na Tabela 6 estão os resultados da análise multivariada, embora o número de pacientes tenha

sido pequeno para esta análise, a menarca, o IMC, o tamanho do nódulo foram independentes associados ao prognóstico

Tabela 5 – Análise por tabulação cruzada (estratificada).

CLÍNICA			vW		Total
			1	2	
1	T1T2	até 2,0cm	17	2	19
		2,1 até 5,0cm	13	9	22
	Total		30	11	41
2	T1T2	até 2,0cm	1	0	1
		2,1 até 5,0cm	4	3	7
	Total		5	3	8

Von: valores do fator de vonWillebrand pré-tratamento; Clínica 1: X^2 Pearson 4,794, com $P=0,029$, bilateral. O risco estimado para T1T2, tem Odds 5,88 (IC 95% : 1,08 a 32,01); A taxa de Odds para coorte com vW=1, é 1,51 (IC 95% : 1,03 a 2,21); Na estratificação o QI^2 de Cochran's foi 5,46, com p bilateral=0,019.

Tabela 6 – Análise multivariada com as variáveis significantes.

N= 46	Variável dependente	F teste	Significância
CLÍNICA	Menarca	6,17	0,01
	IMC	7,20	0,01
	Tamanho Tumoral	4,58	0,03
	T1/ T2	2,92	0,09
	Linfonodo Positivo	3,75	0,05

A sobrevida livre de doença desta coorte, de acordo com a menarca, neste período de observação, é apresentada na Figura 1.

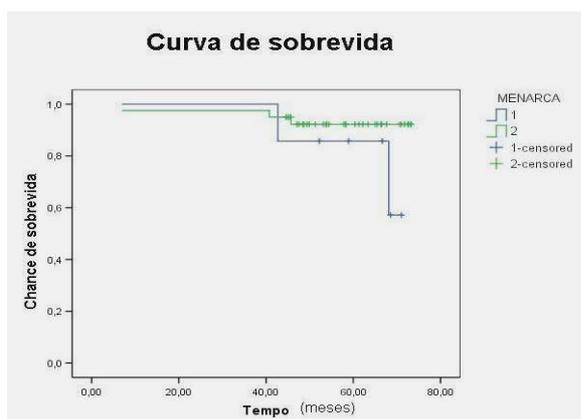


Figura 1 – Sobrevida cumulativa até 5 anos (Método de Kaplan Meier).

DISCUSSÃO

Estudo comparado (6), incluindo pacientes com e sem tumor e na mesma faixa etária, mostrou correlação positiva do fator VW quanto à presença de CM e com significância estatística.

Salientamos que as pacientes com tumores pequenos, até 2,0 cm, apresentaram a mesma frequência (10,7%) de valores elevados para o vW do que as pacientes sem tumor (6). Isto mostra, salvo novos estudos, que o fator vW não tem valor no diagnóstico precoce.

Não há estudo que correlacione o vW com evolução clínica e, por isso, fizemos a análise desta pequena coorte incluindo outros parâmetros. Verificou-se que apenas duas pacientes com valores de vW acima de 160 mudaram para valores inferiores e 14, entre as que tinham valores inferiores a 160, passaram a valores acima de 160, mostrando que os grupos se tornaram distintos ao longo do período de observação (tabela 1).

Na tabela 2 observa-se, apesar de termos mantido os grupos originais, sem corrigir a idade pelo tempo já decorrido, uma migração das pacientes para valores do vW mais elevados. Isto apenas demonstra correlação positiva com a faixa etária, parecendo um fator dependente da idade.

O fator de Von Willebrand não se mostrou um discriminante para indicar a evolução clínica, neste período de observação, conforme análise mostrada na Tabela 3. As variáveis *status* axilar, menarca precoce, obesidade e tamanho tumoral se mostraram significantes tanto do ponto de

vista estatístico como clínico. Os valores normais do vW pré-tratamento estão associados com os nódulos até 2,0 cm. Os poucos trabalhos que avaliaram o fator vW foram com carcinomas mais avançados, quando a angiogenese já está bem estabelecida (4,5). Para casos com T1 o fator vW não se mostrou de utilidade e os valores se tornaram elevados, na maioria, após o tratamento, mesmo com as pacientes aparentemente estando saudáveis.

A interpretação da Tabela 3 nos permite afirmar que a paciente que teve LN+, no momento do tratamento, apresentou um risco de 2,2 vezes de não estar saudável no final deste período de observação. Com exceção do fator vW todas as variáveis se mostraram como fatores de risco para uma má evolução. Embora a menarca precoce tenha significância estatística, o intervalo de confiança amplo, demonstra um N pequeno. O percentual de 82% representa o quanto este fator influenciou no mau prognóstico.

O diâmetro máximo do nódulo, acima de 2,0 cm se mostrou um preditor negativo na evolução clínica, com risco de 1,63 vezes mais quando comparado com T1. Merece referência de que os tumores T1 se acompanham de bom estado axilar e este é o fator prognóstico mais considerado na literatura (8-10). Embora o fator vW, nesta coorte, não tenha influenciado na evolução clínica, verificamos que os T1, habitualmente, se acompanham de valores do fator vW inferiores a 160% e com frequência (10,7%) similar a da população (11%) sem tumor de mama. A partir da associação de T1 com valores baixos do fator de vW, fez-se a tabulação cruzada com os valores iniciais do vW, T1 e T2 e a evolução clínica. A análise está anotada na Tabela 4 e o resultado está associado ao T1.

A Tabela 3 apresenta a análise univariada salientando-se a categorização desta no resultado. Em virtude dos valores significantes realizou-se a análise multivariada, cujo resultado é apresentado na Tabela 5. Os autores acrescentaram, na análise, o nódulo como variável contínua em 46 pacientes. Os resultados são significativos, mas consideramos que novos estudos são necessários, com número maior de pacientes.

Além do estado dos linfonodos axilares e do tamanho tumoral, parâmetros prognósticos bem definidos, nosso estudo salienta que tanto a obesidade quanto a menarca precoce também são fatores de mau prognóstico nesta coorte. A obesidade tem sido correlacionada com os fatores angiogênicos que seriam os facilitadores do crescimento tumoral e das metástases, tendo, neste caso, a conotação de pior prognóstico (12).

A literatura (8-11,13) tem mostrado que vários são os fatores de risco de aparecimento do câncer de mama, e, entre eles a obesidade e a

menarca precoce, no entanto como fatores prognósticos, estes parâmetros não tem sido avaliados (8). O diâmetro máximo tumoral e o *status* axilar são fatores prognósticos já bem definidos. Este é considerado como o indicador prognóstico mais importante e nossos dados também estão de acordo com a literatura (9,10,13).

Os valores para o vW de até 160% foram normais nos T1 que têm uma evolução favorável, o que foi confirmado apenas na análise estratificada. O fato dos valores de vW nos casos T1 terem significância, parece-nos ser um fator de confusão, porque na população normal, sem câncer, a frequência do vW acima de 160% é a mesma (6). Esta associação, na prática clínica, não ajuda no manejo terapêutico e concluímos que o vW não é útil para avaliação prognóstica. Verificou-se que em torno de 25% dos T2 evoluíram mal (clínica 2), sem distinção quanto aos valores do fator vW pré-tratamento.

Neste estudo, confirmamos que o estado axilar e o diâmetro tumoral são determinantes de sobrevida, e outros estudos com maior número de pacientes são necessários para confirmar se a menarca e o IMC também são fatores prognósticos.

Agradecimentos

Ao apoio financeiro do Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

REFERÊNCIAS

1. NashGL, Walsh DC e Kakkar AK. The role of the coagulation system in tumour angiogenesis. *The Lancet Oncol* 2001,2(12):608-13.
2. Kato T, Kameoka S, Kimurta T, Nishikawa T & Kasajima T. Angiogenesis and blood vessel invasion as prognostic indicators for node-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2001, 65(3):203-15.
3. MacConmara M, O'Hanlon DM, Kiely MJ, Connolly Y & Jeffers M. An evaluation of the prognostic significance of vascular endothelial growth factor in node positive primary breast carcinoma. *Int J Oncol* 2002,20(4):717-21.
4. Rohsig IM, Damin DC, Stefani SD et al. Von Willebrand factor antigen levels in plasma patients with malignant breast disease. *Braz J Med Biol Res* 2001,34(9):1125-29.
5. Schwartzmann G, Damin DC & Roisemberg I. Malignant disease and von Willebrand factor. *The Lancet Oncol* 2001,2(12):716-17.
6. Xavier, NL et al. Cancer de Mama e Fator de Von Willebrand. *Anais da 25ª. Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Rev HCPA*, 2005, 25(supl.1):77.

7. Menke CH, Biazus JV, Xavier NL et al. Tratamento do Câncer de Mama. In: Rotinas em Mastologia. Ed. Artmed 2007, p: 169-74.
8. Pascalicchio JC, Fristachi & Baracat FF. Câncer de mama: fatores de risco, prognósticos e preditivos. Rev Bras Mastol 2001, 11(2):71-84.
9. Paksereshet S, Ingle GK, Bahadur et al. Risk factors with breast cancer among women in Delhi. Indian J Cancer 2009, 46(2):132-8.
10. Menke CH, Biazus JV, Xavier NL et al. Epidemiologia, fatores de risco e aconselhamento genético. In: Rotinas em Mastologia. Editora Artmed 2007, p: 135- 142.
11. Costanza ME & Chen WY. Epidemiology and risk factors for breast cancer. In:<http://www.updateonline.com/online/content/topic.do?topicKey=breasten/9760&sel> Acessado em 28/07/2009.
12. Silha JV, Krsek M, Sucharda P & Murphy LJ. Angiogenic factors are elevated in overweight and obese individuals. Int J Obes. 2005, 29(11):1308-14.
13. Hartmann LC, Sellers TA, Frost MH et al. Benign breast disease and the risk of breast cancer. N Engl J Med 2005, 353 (3):229-37.

Recebido: 05/04/2010

Aceito: 18/05/2010