

Cofactor de ristocetina

Ristocetin cofactor

Código SCPC (Sociedad Colombiana de Patología Clínica): 10195.

Código CUPS (Codificación Única de Procedimientos en Salud): 174144. Sección: hematología.

Nivel de complejidad: alto. Metodología: agregometría. Sinónimos: RCF, VWF:RCO, VIII:RCO

Definición

El cofactor de ristocetina es una técnica cuantitativa para determinar la actividad del factor de von Willebrand.

Espectro clínico de aplicación

La enfermedad de von Willebrand es una condición que causa un sangrado prolongado anormal, debido a los defectos o la deficiencia de la proteína conocida como factor de von Willebrand, la cual actúa como puente de unión entre las plaquetas y de éstas a las células endoteliales durante una lesión vascular. Además, funciona como proteína transportadora del factor VIII de la coagulación [1]. El factor de von Willebrand es una glicoproteína multimérica, con un peso molecular entre 1.000 kDa y 20.000 kDa, sintetizada y almacenada por el endotelio vascular en los gránulos secretores y por los megacariocitos en médula ósea en los gránulos alfa de las plaquetas, y con una vida media de aproximadamente 12 horas (rango: 9-15 h) [2]. La enfermedad de von Willebrand es principalmente de origen genético y está clasificada en diferentes formas clínicas de acuerdo a las alteraciones presentadas en el factor de von Willebrand, que pueden ser de tipo cualitativas (tipo 2) o cuantitativas (tipo 1 y tipo 3) [1]. Así mismo, se ha descrito una forma adquirida relacionada con la presencia de enfermedades autoinmunes, hipotiroidismo no autoinmune y el uso de medicamentos como el ácido valpróico, la ciprofloxacina, la griseofulvina y el almidón hidroxietílico, entre otros [2].

La forma tipo 1 de la enfermedad de von Willebrand es la más común, la cual se caracteriza por la deficiencia cuantitativa parcial del factor de von Willebrand, con niveles circulantes bajos (alrededor del 25% de lo normal), pero con función conservada, y causada por alteraciones en la proteína que dificultan su proceso de dimerización de forma adecuada [1,2]. Los signos y síntomas generalmente son leves o moderados [2]. La tipo 2 es menos frecuente que la tipo 1, pero sus síntomas son más pronunciados, y se produce por alteraciones en la función o en el ensamblaje multidimérico de la proteína [1]. Esta forma puede ser subclasificada en cuatro variantes, 2A, 2B, 2N y 2M, según sus características fenotípicas. Tanto la forma tipo 1 como las tipo 2A, 2B y 2M son heredadas de forma autosómica dominante (de un sólo padre). Por su parte, la tipo 3 es una condición rara, pero severa, en la que el factor de von Willebrand está totalmente ausente y es debida a la herencia autosómica recesiva (de ambos padres) de la alteración de la proteína [2].

El sangrado anormal asociado con la enfermedad de von Willebrand puede presentarse como [2]:

- Epistaxis recurrentes y prolongadas
- Sangrado gingival
- Menorragia
- Sangrado excesivo después de un corte menor, abrasiones, extracciones dentales o procedimientos quirúrgicos menores
- Sangrado gastrointestinal
- Equimosis de fácil aparición

Los signos graves incluyen hemartrosis y hematomas. No obstante, en algunas personas sólo se sospecha el trastorno después de un procedimiento quirúrgico o trauma grave en el que se produce un sangrado excesivo [2].

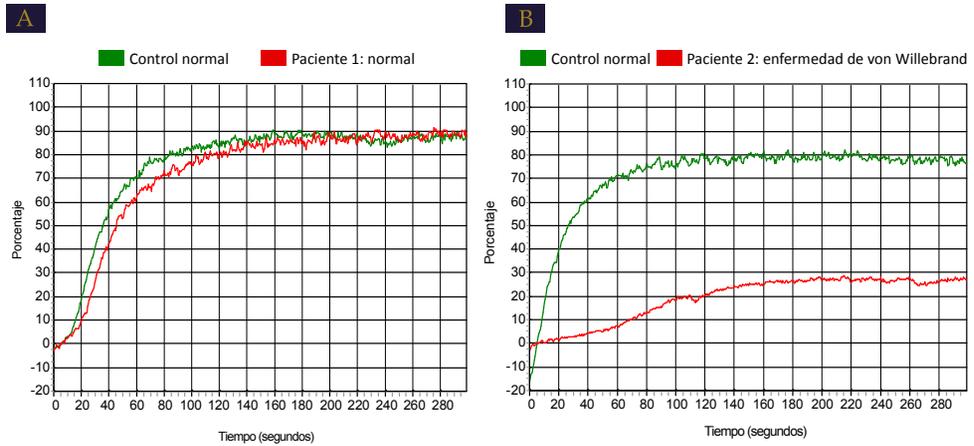
El diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand se debe realizar a toda persona con historia personal o familiar de sangrado excesivo durante toda la vida, o que va a ser sometida a procedimientos invasivos y presente antecedentes de consumo de aspirina u otros antiinflamatorios no esteroideos (AINE), clopidogrel, warfarina o heparina, historial de enfermedad hepática o renal, enfermedad sanguínea o de médula ósea, o un recuento bajo de plaquetas. La evaluación por el laboratorio se realiza mediante la combinación de las pruebas del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag), que cuantifica sus niveles plasmáticos, la actividad del cofactor de ristocetina (VWF:RCo), que determina la función del factor de von Willebrand, y la actividad del factor VIII (FVIII:C), que establece la capacidad del factor de von Willebrand de transportar y mantener los niveles plasmáticos del factor VIII. Estas pruebas también son de ayuda para discriminar entre algunos subtipos de la enfermedad de von Willebrand, diferenciar la enfermedad de von Willebrand de la hemofilia A y realizar monitorización de la terapia en pacientes con la enfermedad de von Willebrand [2].

En los pacientes que inician tratamiento con desmopresina (1-desamino-8-D-arginina-vasopresina), la actividad del cofactor de ristocetina, al igual que la del factor VIII, se debe evaluar al menos una hora después de la infusión para determinar la respuesta al tratamiento, definida como un aumento de por lo menos tres veces los niveles basales (niveles plasmáticos mínimo del 30%); y, cuatro horas después para determinar el patrón de aclaramiento de ambos factores. Los pacientes en los que la infusión de prueba con desmopresina no produce niveles clínicamente útiles del factor VIII y del factor de von Willebrand son candidatos para la aplicación de terapia de reemplazo, utilizando una infusión de concentrados derivados de plasma, inactivados viralmente y que contienen las dos proteínas [3].

Fundamento

El ensayo de la actividad del cofactor de ristocetina evalúa la capacidad del factor de von Willebrand presente en el plasma de un individuo de inducir la agregación de plaquetas fijadas con formalina, en presencia del antibiótico ristocetina. La ristocetina se une al factor de von Willebrand, lo que induce que adquiera su conformación activa y, a su vez, se una al receptor GPIb de las plaquetas para producir la agregación plaquetaria, de forma similar a lo que ocurre durante el proceso *in vivo*.

La agregación plaquetaria es determinada en un agregómetro, el cual automáticamente calcula la pendiente y a partir de la curva estándar determina el porcentaje correspondiente de actividad del cofactor de ristocetina, que será proporcional a la actividad del factor de von Willebrand. [4,5]. Este ensayo debe realizarse en paralelo con una muestra de plasma de un control normal (ver figura 1).



Preparación del paciente y manejo de las muestras

Preparación del paciente

Para la realización de este examen los pacientes deben evitar consumir aspirina u otros medicamentos que interfieran con la función plaquetaria días antes de la realización del examen y encontrarse en ayuno estricto el día de la toma de la muestra.

Tipo de muestra

Plasma pobre en plaquetas obtenido a partir de muestras de sangre total con citrato de sodio al 3,2% (tubos tapa azul), mediante centrifugación entre 1.600 y 2.000 g durante 10 minutos [4]. La muestra de sangre se debe tomar de forma no traumática y con aguja calibre 21 G.

Manejo y conservación de las muestras

El plasma debe ser transferido a tubos de plástico tapados y procesado antes de dos horas después de la toma de la muestra. Si el montaje del ensayo se va a realizar más tarde el plasma debe ser almacenado entre 2 °C y 8 °C. La muestra puede ser conservada a -20 °C hasta por un mes. Antes de la prueba el plasma se debe descongelar a 37 °C por menos de cinco minutos [4].

Valores esperados

Los valores normales de la actividad del factor de ristocetina varían entre 56% y 187% (56-187 UI/dL).

Interpretación de resultados

Los valores de la actividad del factor de ristocetina menores al rango de referencia son indicativos de la enfermedad de von Willebrand. Estos resultados se deben correlacionar con la historia personal o familiar de sangrados, un examen físico que evidencie hemorragias mucocutáneas y los hallazgos por laboratorio del antígeno del factor de von Willebrand y la actividad del factor VIII [2]. Los principales resultados que se pueden obtener de las pruebas del factor de ristocetina, el antígeno del factor de von Willebrand y el factor VIII, para el diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand y sus subtipos son (ver [tabla 1](#)) [6]:

Tabla 1. Resultados generales de las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand y los subtipos

Enfermedad de von Willebrand	Cofactor de ristocetina	Antígeno del factor de von Willebrand	Factor VIII
Tipo 1	Disminuido*	Disminuido*	Normal o disminuido
Tipo 2A	Disminuido	Disminuido	Disminuido
Tipo 2B	Disminuido	Normal o disminuido	Normal o disminuido
Tipo 2M	Disminuido	Disminuido	Disminuido
Tipo 2N	Normal o disminuido	Normal o disminuido	Disminuido
Tipo 3	Disminuido o ausente	Disminuido o ausente	Disminuido

*Un valor menor de 30% establece el diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand; sin embargo, algunos pacientes pueden presentar valores entre 30% y 50% relacionados con riesgo de sangrados. Tomado y modificado de [6]

- Enfermedad de von Willebrand tipo 1: se observa disminución de la actividad del factor de ristocetina acompañada de la disminución del antígeno del factor de von Willebrand y de niveles del factor VIII normales o ligeramente disminuidos. Los valores del factor de von Willebrand entre 30% y 50% se consideran como un factor de riesgo de sangrado, y aquellos por debajo de 30% como confirmatorios de la enfermedad.
- Enfermedad de von Willebrand tipo 2A, 2B y 2M: se encuentra disminución del factor de ristocetina y niveles del antígeno del factor de von Willebrand y del factor VIII normales o ligeramente disminuidos. Para distinguir la tipo 2A de la 2B se requieren otros ensayos como la prueba de agregación plaquetaria inducida por ristocetina (RIPA, del inglés *ristocetin-induced platelet aggregation*) o el análisis de los genes del factor de von Willebrand o de la glicoproteína plaquetaria GPIb. Las tipos 2A y 2M sólo se pueden distinguir mediante pruebas adicionales como el ensayo de unión del factor de von Willebrand al colágeno (VWF:CB).
- Enfermedad de von Willebrand tipo 2N: la actividad del factor de ristocetina y los niveles del antígeno del factor de von Willebrand pueden estar normales o ligeramente disminuidos, pero con niveles del factor VIII disminuidos (menores del 10%), por lo que requiere su diferenciación con la hemofilia A mediante el ensayo de unión del fac-

tor de von Willebrand al factor VIII (VWF:FVIII) o el análisis de los genes del factor de von Willebrand o del factor VIII.

- Enfermedad de von Willebrand tipo 3: se encuentra deficiencia severa o ausencia de la actividad del factor de ristocetina y del antígeno de von Willebrand, y niveles muy bajos del factor VIII (2% - 8%).

En los pacientes con enfermedad de von Willebrand tratados con desmopresina o terapia de reemplazo con concentrados plasmáticos del factor VIII y el factor de von Willebrand, los niveles del cofactor de ristocetina se deben encontrar dentro de los valores normales [3].

Interferentes

La exactitud del estudio del cofactor de ristocetina depende de la correcta relación anticoagulante:sangre. Para las muestras de sangre con un hematocrito menor de 55% (normal) se debe mezclar nueve partes de la sangre total recién tomada a una parte del anticoagulante. Para las muestras de sangre con un hematocrito anormal se debe ajustar la cantidad de sangre total que se añade al anticoagulante, de acuerdo con la siguiente fórmula [4]:

$$\text{Partes de sangre total en una parte de anticoagulante} = \frac{0,6}{(1 - \text{hematocrito})} \times 9$$

Los tubos al vacío están diseñados para mezclar 9 partes de sangre total por una parte de anticoagulante. Si el hematocrito es anormal, la sangre se debe tomar en una jeringa y mezclarse con la cantidad apropiada del anticoagulante de citrato [4].

Limitaciones

En las mujeres embarazadas los niveles del factor de von Willebrand y del factor VIII aumentan por el influjo del estradiol y regresan a sus niveles basales después del parto. En el caso de las mujeres con enfermedad de von Willebrand tipo 1 los niveles del cofactor de ristocetina, al igual que del antígeno del factor de von Willebrand y del factor VIII, se pueden normalizar durante el embarazo, lo que dificulta establecer el diagnóstico de la enfermedad en estas pacientes y por tanto, el tipo de manejo durante el parto y la atención posparto. Diferente sucede en las mujeres embarazadas con la enfermedad de von Willebrand tipo 2, en las que los niveles del factor de von Willebrand y del factor VIII aumentan, pero no necesariamente los del cofactor de ristocetina, y en aquellas con la enfermedad de von Willebrand tipo 3, en las que no se encuentra mejoría de estos valores durante el embarazo [7].

Por otra parte, se debe tener presente que los niveles del cofactor de ristocetina se corrigen después de la aplicación de concentrados del factor VIII/factor de von Willebrand y de la administración de la desmopresina [3]; además, que en los individuos con la enfermedad de von Willebrand tipo 2N los niveles del cofactor de ristocetina pueden ser normales [6].

Bibliografía

1. **Rodeghiero F.** Von Willebrand disease: pathogenesis and management. *Thromb Res* 2013; 131 Suppl 1: S47-50.
2. **Nichols WL, Hultin MB, James AH, Manco-Johnson MJ, Montgomery RR, Ortel TL, et al.** von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). *Haemophilia* 2008; 14: 171-232.
3. **Castaman G, Goodeve A, Eikenboom J.** Principles of care for the diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Haematologica* 2013; 98: 667-674.
4. **Helena Laboratories.** Ristocetin cofactor assay. Cat. No. 5370. Texas, Estados Unidos. Disponible: <http://www.helena.com/Procedures/Pro064Rev5.pdf>. Consultado: septiembre 2014.
5. **Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RTJ, Paraskevas F, et al.** *Wintrobe's Clinical Hematology*. Filadelfia, Estados Unidos: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
6. **Favaloro EJ.** Diagnosing von Willebrand disease: a short history of laboratory milestones and innovations, plus current status, challenges, and solutions. *Semin Thromb Hemost* 2014; 40: 551-570.
7. **Lipe BC, Dumas MA, Ornstein DL.** Von Willebrand disease in pregnancy. *Hematol Oncol Clin North Am* 2011; 25: 335-358, viii.



Isla Lokrum.
Duvrobnik, Croacia.

Carlos Alberto Lozano M. carlos.lozano@iatm.com.co