

## ¿ES LA INHIBINA B SÉRICA UN MARCADOR CONFIABLE DE LA PRESENCIA DE ESPERMATOZOIDES TESTICULARES EN PACIENTES CON AZOOSPERMIA SECRETORA?

IS SERUM INHIBIN B A RELIABLE MARKER OF TESTICULAR ESPERMATOZOA IN PATIENTS WITH NON-OBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA?

Artículo de actualización

Update article

Dres. Brugo Olmedo, S.\*; Lic. De Vincentiis, S.\*; Calamera, J.C.\*\*; Urrutia, F.\*; Lic. Nodar, F.\*; Baccini, C.\*\*\*; Acosta, A.A.\*

**RESUMEN:** *Objetivo:* Establecer el valor predictivo de la inhibina B sérica como un indicador de la presencia de espermatozoides testiculares en azoospermias secretoras (AS) y compararlo con un marcador tradicional sérico como la FSH.

*Diseño:* Análisis prospectivo.

*Lugar:* Centro Médico de alta complejidad con afiliación Universitaria.

*Pacientes:* En el período comprendido entre agosto de 1997 y agosto de 2000, a 78 pacientes con AS se les efectuó una Extracción Espermática Testicular (TESE) seguida de criopreservación espermática o de Inyección Intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) y criopreservación espermática subsecuente. A quince pacientes con Azoospermia Obstrucciona (AO) se les realizó Aspiración Espermática Epididimaria Percutánea (PESA) o TESE tanto para la realización de la técnica de ICSI combinada con la criopreservación del material no utilizado como para sólo la criopreservación de los espermatozoides; 10 voluntarios fértiles con parámetros seminales normales (VFN) fueron utilizados junto con el grupo de AO, como controles positivos del estudio.

*Determinaciones:* Niveles séricos de inhibina B y FSH y presencia de espermatozoides en la TESE o en la PESA o en el espermograma.

*Resultados:* En los pacientes con AS se encontraron niveles significativamente altos de FSH y significativamente bajos de inhibina B comparados con aquellos obtenidos en los dos grupos controles ( $p < 0,005$ ). Llamativamente, la media de los niveles séricos de inhibina B en pacientes con AS que presentaron espermatozoides, fue significativamente mayor que en los casos en que no se encontraron espermatozoides (TESE positiva:  $89,31 \text{ pg/ml} \pm 73,24 \text{ pg/ml}$ ; TESE negativa:  $19,23 \text{ pg/ml} \pm 22,34 \text{ pg/ml}$ ,  $p < 0,05$ ), pero la media de los niveles séricos de FSH no mostró el mismo poder predictivo (TESE positiva:  $21,37 \text{ UI/ml} \pm 12,92 \text{ UI/ml}$ ; TESE negativa:  $19,27 \text{ UI/ml} \pm 10,28 \text{ UI/ml}$ , no significativo). El punto de corte para la inhibina B que separa ambos grupos determinado por las curvas de ROC fue  $> 53 \text{ pg/ml}$ .

*Conclusión:* La inhibina B sérica parece predecir de manera más precisa la presencia de espermatozoides testiculares en pacientes con AS que la FSH sérica.

(Rev. Arg. de Urol., Vol. 67, N° 2, Pág. 72, 2002)

**Palabras clave:** Inhibina B sérica; FSH sérica; Azoospermia secretora; Presencia de espermatozoides testiculares.

\* Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción (CEGYR), Buenos Aires, Argentina.

\*\* Laboratorio de Estudios en Reproducción (LER), Buenos Aires, Argentina.

\*\*\* Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción Bahía Blanca (CEGYR-Bahía Blanca), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

Pedidos de Impresos: Dr. Santiago Brugo Olmedo, Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción (CEGYR), Viamonte 1438 (1055) Buenos Aires, Argentina. (FAX: (5411) 4371-7275; e-mail: sbo@cegyr.com).

**SUMMARY: Objective:** To establish the predictive value of serum Inhibin B levels as an indicator of the presence of testicular spermatozoa in non-obstructive azoospermia (N-OA) and to compare it with the traditional serum FSH marker.

**Design:** Prospective analysis.

**Setting:** Private high complexity reproductive center with University affiliation.

**Patients:** Between August 1997 and August 2000, 78 patients with N-OA undergoing testicular sperm extraction (TESE) followed by sperm cryopreservation (sC) or Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) and subsequent sC techniques were included in this study. Over the same period of time, 15 patients with Obstructive Azoospermia (OA) undergoing Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration (PESA) or TESE for sC or ICSI and sC techniques and 10 fertile normal volunteers (FNV), were used as positive controls.

**Main Outcome Measures:** Serum levels of Inhibin B and FSH and presence of spermatozoa at TESE or PESA or regular semen analysis.

**Results:** Significantly higher levels of serum FSH and significantly lower levels of Inhibin B were found in patients with N-OA when compared with values obtained from the two control groups ( $p < 0.05$ ). Interestingly, mean Inhibin B serum levels in patients with N-OA showing spermatozoa at TESE was significantly higher than in cases with no spermatozoa found (positive TESE:  $89.31 \text{ pg/ml} \pm 73.24 \text{ pg/ml}$ , negative TESE:  $19.23 \text{ pg/ml} \pm 22.34 \text{ pg/ml}$ ,  $p < 0.05$ ) but mean FSH serum levels did not show similar predictive power (positive TESE:  $21.37 \text{ IU/ml} \pm 12.92 \text{ IU/ml}$ ; negative TESE:  $19.27 \text{ IU/ml} \pm 10.28 \text{ IU/ml}$ , not significant). The cut-off level of Inhibin B separating both groups as determined by the ROC curves was  $> 53 \text{ pg/ml}$ .

**Conclusion:** Serum Inhibin B seems to predict more accurately the presence of testicular spermatozoa in patients with N-OA, than serum FSH.

(Rev. Arg. de Urol., Vol. 67, N° 2, Pág. 72, 2002)

**Key words:** Serum Inhibin B; Serum FSH; Non-obstructive azoospermia; Presence of testicular spermatozoa.

## INTRODUCCIÓN

Recientemente se han investigado diferentes marcadores convencionales de la presencia de espermatozoides en TESE en pacientes azoospermicos. En los casos de Azoospermia Obstructiva, el tamaño testicular, el nivel plasmático de la FSH y la histopatología testicular han probado ser de utilidad<sup>(1)</sup>, pero no se han encontrado marcadores definitivos para las Azoospermias Secretoras (AS). Es altamente deseable hallar un método predictor confiable que detecte la presencia o ausencia de epitelio germinal clínicamente útil (células post-meióticas) en pacientes con AS pero, hasta el momento, deben ir a una TESE para una confirmación final.

La inhibina es una glicoproteína producida principalmente por las gónadas bajo la influencia de la Hormona Folículo Estimulante (FSH), y está involucrada en el mecanismo de retroalimentación de esta hormona hipofisiaria<sup>(2)</sup>. La inhibina bioactiva circulante existe como 2 isoformas separadas: la inhibina A y la inhibina B (una subunidad  $\alpha$  se une por puentes disulfuros a  $\beta A$  o a  $\beta B$ , respectivamente<sup>(3)</sup>). En el hombre adulto, la inhibina B es producida fundamentalmente en los testículos, en las células de Sertoli, bajo la influencia de la FSH<sup>(4)</sup> y no hay niveles plasmáticos circulantes detectables de inhibina A.

Recientemente se ha demostrado en hombres adul-

tos, una correlación inversa entre los niveles plasmáticos de inhibina B y FSH<sup>(5)</sup>.

Las primeras técnicas de determinación de inhibina por inmunoensayo eran poco confiables debido a la reacción cruzada con las formas monoméricas precursoras y la carencia de sensibilidad (o incapacidad) para discriminar entre las isoformas A y B<sup>(6)</sup>. Estos problemas han sido recientemente resueltos<sup>(7)</sup>.

La inhibina B es un marcador de la función testicular. Los niveles séricos de esta hormona disminuyen cuando se produce daño espermático inducido por calor, criptorquidia o atrofia post-ligadura prolongada de los conductos deferentes, por aumento de la presión intratesticular<sup>(8)</sup>. Conjuntamente se observó la declinación de otros parámetros de la función de la célula de Sertoli, como la producción de fluido en los túbulos seminíferos y la secreción de la globulina transportadora de andrógenos.

Todavía no se estableció el valor real de los niveles periféricos de inhibina B como predictores de la presencia de epitelio germinal, incluyendo espermatozoides en los testículos de pacientes con AS. Ballezcá y colaboradores sugirieron, en una pequeña cantidad de pacientes, que el nivel sérico de la inhibina B fue un buen predictor de la presencia de espermatozoides testiculares<sup>(9)</sup>. Por otra parte, Von Eckardstein y colaboradores<sup>(10)</sup> concluyeron que esta técnica no predeciría de manera precisa el resultado de la TESE.

Este trabajo es un intento por determinar si el nivel

basal de inhibina B puede ser usado como predictor de la presencia de espermatozoides testiculares en este grupo particular de pacientes azoospermicos, y si es más confiable que la clásica determinación de FSH.

---

## MATERIAL Y MÉTODOS

---

### Pacientes

Durante agosto de 1997 y agosto de 2000, se investigaron 72 pacientes clasificados clínicamente como azoospermicos secretores sin etiología identificable (idiopáticos) (Grupo I) y 6 casos adicionales (Grupo II) que mostraban causas posibles identificables (quimioterapia sistémica por enfermedad de Hodgkin en un caso y 5 casos de Síndrome de Klinefelter). Quince pacientes con azoospermia obstructiva (AO) (Grupo III) y 10 voluntarios fértiles (Grupo IV) fueron usados como grupos controles. La historia de enfermedades crónicas, alcoholismo, adicción a las drogas, el uso de anabólicos o los tratamientos con medicamentos, se utilizaron como criterios de exclusión.

### Aspiración percutánea epididimaria (PESA)

Su utilizó el método descrito por *Craft y colaboradores* con pequeñas modificaciones<sup>(11)</sup>.

En breve, la PESA se efectuó bajo anestesia local usando por lo menos 4 jeringas de 1 ml por epidídimo. Cada jeringa, conectada a una aguja de 21 g, contenía 0,3 ml de H-HTF (H-HTF, *Irvine Scientific Laboratories*, Santa Ana, CA, USA) suplementado con 1% de albúmina sérica bovina (BSA, *Sigma Laboratories*, St. Louis, MO, USA). Se procedió a inmovilización de los testículos con el dedo índice y el pulgar de la mano izquierda del cirujano y se dirigió cada jeringa hacia la cabeza o el cuerpo del epidídimo. Se procedió a aspirar varias veces con cada una de las jeringas y se detuvo la succión, aunque no se observara fluido procedente del epidídimo. Todas las jeringas fueron enviadas inmediatamente al laboratorio. Se colocó la suspensión en una cápsula de *Petri* (*Falcon, Beckton and Dickinson, Lincoln Park, NJ*, catálogo 3652), se agregó 1 ml de H-HTF suplementado con 1% BSA y una gota de esta suspensión fue observada al microscopio invertido (*Nikon Diaphot, Nikon Corporation, Tokyo, Japón*) con platina térmica (*Nikon Corporation, Tokyo, Japón*) para evaluar la presencia de espermatozoides. Posteriormente, la suspensión se colocó en un tubo de 15 ml (*Falcon, Beckton and Dickinson, Lincoln Park, NJ*, catálogo 2196), se centrifugó 5 minutos a 1.600 r.p.m., el pellet se resuspendió en 100-500 µl de H-HTF suplementado con 1% de BSA y se incubó en estufa con 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 90% N<sub>2</sub>, 37°C y humedad a saturación, hasta su uso.

### Extracción espermática testicular (TESE)

Se realizaron biopsias testiculares múltiples utili-

zando anestesia local. El tejido testicular se colocó en tubos (*Falcon, Beckton and Dickinson, Lincoln Park, NJ*, catálogo 2001) con 2 ml de H-HTF suplementado con 1% BSA que se enviaron al laboratorio. El tejido obtenido se disgregó con la ayuda de 2 portaobjetos estériles en un cápsula de *Petri* pequeña. Luego se observó el tejido testicular al microscopio invertido con platina térmica buscando la presencia de espermatozoides. Se agregó 1 ml de H-HTF suplementado con 1% BSA. Esta suspensión se centrifugó 5 minutos a 1.600 r.p.m. y el pellet se resuspendió en 100-500 µl de H-HTF suplementado con 1% BSA. La suspensión fue nuevamente observada bajo microscopio e incubada en estufa (5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 90% N<sub>2</sub>, humedad a saturación a 37°C) hasta su uso.

### Criopreservación de espermatozoides epididimarios y testiculares

Se aplicó la técnica descrita por *Romero y colaboradores* en 1996<sup>(12)</sup> con una pequeña modificación. Brevemente, la suspensión espermática se diluyó 1:1 en un medio crioprotector que contenía glicerol (*Test Yolk Buffer, Irvine Scientific, Santa Ana, CA*, catálogo 9971) que se añadió lentamente. Luego de homogeneizarlo suavemente, se realizaron gotas de aproximadamente 100 µl sobre una superficie de hielo seco utilizando pipeta *Pasteur*. El congelamiento de las pastillas ocurrió en menos de 1 minuto y fueron colocadas en crioviales de 1,2 ml (*Costar, Biofreeze Vial*, catálogo 2012) previamente enfriados, y directamente sumergidos en nitrógeno líquido (-196°C) y almacenados.

### Ensayos hormonales

La extracción de sangre se realizó entre las 8:00 y las 10:00 de la mañana; en los pacientes con azoospermia obstructiva y secretora la extracción se efectuó siempre antes de la realización de la TESE o PESA para evitar que el daño testicular pudiera modificar los niveles de inhibina B. Las muestras fueron centrifugadas a 2.000 r.p.m. durante 5-10 minutos y el suero fue extraído y congelado a -20°C hasta su procesamiento.

Las determinaciones de FSH se realizaron usando un método quimioluminiscente (*Access® Immunoassay System, Beckman-Coulter, Chaska, Minnesota, U.S.A.*). El análisis secuencial de la h-FSH involucra dos pasos inmunoenzimáticos (sandwich). Se agrega la muestra al recipiente donde la reacción se va a llevar a cabo, la cual contiene unas partículas paramagnéticas recubiertas con complejos de anti-ratón (provenientes de cabra): ratón anti-h-FSH y buffer TRIS salino con proteínas. La sensibilidad del método (95%CI) es > 0,2 mUI/ml, el CV fue de 3,1%; los CV intra-ensayo dependen de los niveles circulantes de la hormona (bajos, medios y altos) y fueron de 3,5%, 3,1% y 4,3%, respectivamente. La determinación de la inhibina B dimérica se realizó utilizando el método de inmunoensayo de ELISA (fase sólida). El kit (*Serotec Ltd., Oxford*,

U.K.) fue utilizado según las especificaciones del fabricante. La sensibilidad del método es < 15 pg/ml. Este kit detecta la inhibina B dimérica y demostró reacción cruzada con la subunidad pro-alfa C o con las activinas. Existe muy poca reacción cruzada (aproximadamente 1%) con la inhibina A. La reproducibilidad inter- e intraplato, mostró un CV < 7%.

### Consentimientos

Todos los varones firmaron un consentimiento por cada procedimiento (TESE, PESA, criopreservación espermática, ICSI). No se requirió de la aprobación del Comité de ética y revisión institucional.

### Screening genético

Se realizó cariotipo mitótico en sangre periférica a todas las parejas que realizaron la técnica de ICSI.

### Estadística

Los datos fueron analizados utilizando el test de 1 vía-ANOVA, el test no paramétrico *Kruskall Wallis* (con STAT PLUS v. b384 de Statsoft Inc. 1987) y curvas de ROC (con GraphROC para Windows v. 2.0 -Kairisto-Poola- 1996). El análisis de ROC es un método que se utiliza para establecer el mejor valor de punto de corte a fin de discriminar entre dos resultados tales como normal y anormal. Una vez que los valores fueron establecidos, se determinó la sensibilidad y la especificidad óptima y los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VNP).

## RESULTADOS

La TESE fue exitosa en 30 de los 72 (41,7%) pa-

cientes con Azoospermia Secretora (pAS) sin etiología (Grupo I) y en 3 de los 6 (50%) pAS con etiología (Grupo II). En todos los pacientes azoospermicos obstructivos (pAO) se encontraron espermatozoides luego de la TESE o PESA.

Cuando se compararon los niveles de FSH entre los Grupos I y II, los valores fueron diferentes significativamente ( $p < 0,05$ ) (Tabla 1); los valores de inhibina B también fueron comparados en estos dos grupos, pero la diferencia no fue significativa, quizás debido al escaso número de pacientes en el Grupo II. Los niveles séricos de FSH e inhibina B también fueron comparados entre los otros grupos (Tablas 1 y 2).

Los niveles séricos de FSH en los pAS idiopáticos no variaron, hubiera o no espermatozoides en la TESE (21,37 UI/ml  $\pm$  12,92 UI/ml vs. 19,27 UI/ml  $\pm$  10,28 UI/ml, respectivamente, no significativo); sin embargo, los niveles séricos de inhibina B fueron significativamente mayores en aquellos pAS con espermatozoides comparados con los que no tuvieron espermatozoides (89,31 pg/ml  $\pm$  73,24 pg/ml vs. 19,23 pg/ml  $\pm$  22,34 pg/ml, respectivamente,  $p = 0,00009$ ). En resumen, la inhibina B sérica y no la FSH sérica, fue significativamente diferente cuando se la comparó en aquellos pacientes del Grupo I con TESE positiva vs. TESE negativa (Tablas 3 y 4).

Para evaluar con mayor profundidad la precisión diagnóstica de la inhibina B como marcador discriminador entre TESE positivas y negativas, se presentan en la Figura 1 las curvas ROC para la FSH y la inhibina B. El área bajo la curva para la inhibina B (AUC ROC) como predictor de posibilidad de éxito con la TESE fue significativamente mayor que para la FSH. También se utilizó el análisis de la curva de ROC para determinar el mejor valor umbral para la inhibina B

Tabla 1: Valores séricos de FSH.

Grupo	N	FSH sérica (UI/ml)
I	72	20,15 $\pm$ 11,42 <sup>a</sup>
II	6	36,13 $\pm$ 9,66 <sup>b</sup>
III	15	3,95 $\pm$ 1,63 <sup>c</sup>
IV	10	7,37 $\pm$ 6,18

Nota: Los valores representan la media  $\pm$  desvío estándar  
NS: No significativo

<sup>a</sup> Grupo I vs. Grupo II  $p = 0,041$ , NS; Grupo I vs. Grupo III  $p < 0,0005$ ; Grupo I vs. Grupo IV  $p = 0,004$ .

<sup>b</sup> Grupo II vs Grupo III  $p = 0,002$ ; Grupo II vs Grupo IV  $p = 0,001$ .

<sup>c</sup> Grupo III vs. Grupo IV  $p = 0,725$ , NS

La diferencia entre las medias es significativa en 0,05

Tabla 2: Valores séricos de inhibina B.

Grupo	N	inhibina B sérica (pg/ml)
I	72	48,43 $\pm$ 60,74 <sup>a</sup>
II	6	13,33 $\pm$ 24,91 <sup>b</sup>
III	15	156,83 $\pm$ 80,14 <sup>c</sup>
IV	10	231,20 $\pm$ 114,62

Nota: Los valores representan la media  $\pm$  desvío estándar  
NS: No significativo

<sup>a</sup> Grupo I vs. Grupo II  $p = 0,086$ , NS; Grupo I vs. Grupo III  $p < 0,001$ ; Grupo I vs. Grupo IV  $p = 0,003$ .

<sup>b</sup> Grupo II vs Grupo III  $p = 0,0005$ ; Grupo II vs Grupo IV  $p = 0,001$ .

<sup>c</sup> Grupo III vs. Grupo IV  $p = 0,416$ , NS

La diferencia entre las medias es significativa en 0,05

Tabla 3: FSH e inhibina B séricas en pAS idiopáticos.

Grupo	N	FSH sérica UI/ml	inhibina B sérica pg/ml
pAS idiopáticos	72	20,15 ± 11,42	48,43 ± 60,74
TESE positiva	30 (41,7%)	21,37 ± 12,92 <sup>a</sup>	89,31 ± 73,24 <sup>b</sup>
TESE negativa	42 (58,3%)	19,27 ± 10,28 <sup>a</sup>	19,23 ± 21,34 <sup>b</sup>

Nota: Los valores representan la media ± desvío estándar

NS: No significativo

<sup>a</sup> FSH sérica en pAS idiopáticos con TESE positiva vs. TESE negativa,  $p = 0,97$ , NS

<sup>b</sup> Inhibina B sérica en pAS idiopáticos con TESE positiva vs. TESE negativa,  $p = 0,00009$ .

La diferencia entre las medias es significativa en 0,05

Tabla 4

#### Nivel sérico de FSH

Buen pronóstico: FSH < 19

Mal pronóstico: FSH ≥ 19

Buen pronóstico: FSH < 19		Mal pronóstico: FSH ≥ 19	
Nº de pacientes	38	Nº de pacientes	34
13 (34,2%)	TESE positiva	17 (50%)	TESE positiva
25 (65,8%)	TESE negativa	17 (50%)	TESE negativa

#### Nivel sérico de inhibina B

Buen pronóstico: IB > 53

Mal pronóstico: IB < 53

Buen pronóstico: IB > 53		Mal pronóstico: IB < 53	
Nº de pacientes	24	Nº de pacientes	48
20 (83,3%)	TESE positiva	10 (20,8%)	TESE positiva
4 (16,7%)	TESE negativa	38 (79,2%)	TESE negativa

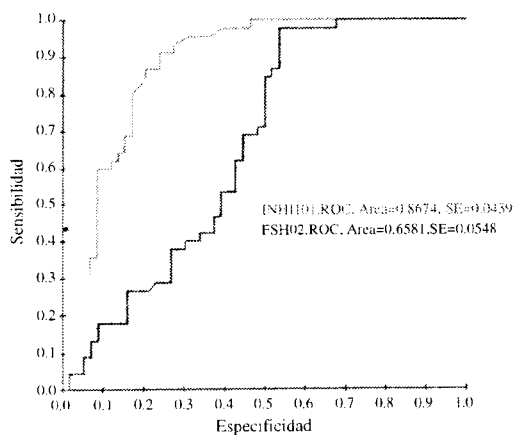


Figura 1:  $AUC^{ROC}$ , Área bajo la curva para la FSH y la inhibina B sérica en los pacientes azoospermicos secretores idiopáticos.

como predictor de éxito o fracaso con la TESE. El mejor valor de la inhibina B como discriminador de éxito o fracaso con la TESE fue > 53 pg/ml; sensibilidad 91,11% [intervalo de confianza: 0,786-0,9764], especificidad 75,86% [intervalo de confianza: 0,6276-0,86181]. Los valores predictivos positivo y negativo fueron de 0,7455 al 0,9167, respectivamente.

#### DISCUSIÓN

Recientemente se ha comunicado que es posible en >50% de los casos de azoospermia secretora, recuperar espermatozoides testiculares, sin importar los parámetros clínicos, el tamaño testicular o la concentración plasmática de FSH<sup>(13-15)</sup>.

Los resultados obtenidos con la utilización de espermatozoides frescos y congelados han sido exitosos

utilizando la técnica de ICSI en pacientes azoospermicos<sup>(16)</sup> permitiendo la realización de la TESE antes de la estimulación ovárica.

Es imperiosa la necesidad de encontrar un marcador confiable capaz de predecir y correlacionar con la presencia de espermatozoides testiculares en pacientes con azoospermia secretora con los resultados de la TESE.

La FSH es actualmente considerada como el parámetro endócrino más importante en la evaluación de la función testicular masculina<sup>(17)</sup>. Su secreción es suprimida por la hormona testicular inhibina, que es producida en las células de *Sertoli* y es por lo tanto, un marcador sérico de la función de las mismas.

*DeKrester y colaboradores*<sup>(18)</sup> postularon que los niveles de inhibina en hombres subfértiles con trastornos testiculares y controles fértiles, no fueron diferentes. Esta conclusión puede ser explicada basándose en la inespecificidad del método de medición de inhibina que fue utilizado.

La castración resulta en niveles no detectables de inhibina B, indicando que la inhibina B circulante es producida por los testículos<sup>(4)</sup>.

La inhibina B es un importante marcador de la competencia de la célula de *Sertoli* y de la presencia de espermatogénesis en el humano, como ha sido demostrado en algunos trabajos que estudiaron la relación entre los niveles de inhibina B y la calidad de la espermatogénesis<sup>(4,5,19,20,21)</sup>.

*Pierik y colaboradores*<sup>(21)</sup> establecieron una correlación significativa entre la concentración espermática y el volumen testicular por un lado y los niveles de inhibina B sérica por el otro. Ellos encontraron una fuerte evidencia de que la inhibina B es un marcador valioso de la presencia de espermatogénesis, mostrando una correlación estadísticamente significativa entre los valores de inhibina B y la evaluación más precisa de la espermatogénesis que en su trabajo fue la biopsia testicular.

Existen pocos trabajos publicados, y muestran discrepancias, que se refieran a los niveles de inhibina B sérica como predictores de la presencia de espermatozoides testiculares en hombres azoospermicos<sup>(9,10)</sup>.

Este trabajo de investigación comparó los dos marcadores, la inhibina B y la FSH séricas en controles positivos (hombres fértiles con normozoospermia y pacientes con azoospermia obstructiva) y en hombres con azoospermia secretora idiopática y no-idiopática. Además, dentro del grupo de pacientes con azoospermia secretora el mismo parámetro fue estudiado en los subgrupos con presencia y ausencia de espermatozoides presentes.

La presencia de espermatozoides luego de realizar la TESE demuestra de manera irrefutable que el paciente presenta espermatogénesis focal, mientras que los casos con hallazgo negativo pueden tener áreas con espermatogénesis focal que no fueron encontradas en la biopsia. Por lo tanto, utilizar los resultados de la TESE como punto final para correlacionar con los niveles

séricos de inhibina B y FSH como marcadores predictivos es de alguna manera no extremadamente preciso.

Es de suma importancia para la planificación del tratamiento de la pareja, la posibilidad de predecir la presencia o ausencia de epitelio germinal en los testículos anormales de pacientes azoospermicos.

Si la pareja decidiera proseguir con el intento, a pesar de la información existente, es posible realizar la biopsia de manera diferida para así evitar la estimulación del ciclo femenino y evitar un procedimiento innecesario para la mujer. Si, inesperadamente se encontraran espermatozoides en el tejido testicular, se podrán congelar para su posterior utilización, evitando una segunda biopsia en el varón.

La precisión de los niveles basales séricos de inhibina B como predictores de presencia o ausencia de epitelio germinal en el grupo de azoospermias secretoras necesita ser evaluada en forma exhaustiva por diferentes grupos y en un número mayor de pacientes.

#### Agradecimientos

Los autores agradecen a la *Dra. L. Vargas*, a la *Dra. M. Albamonte* y a la *Dra. V. Bertollino* por su colaboración en la recolección de los datos. Además los autores agradecen especialmente a la *Sra. Nelly Durand* por la realización de las búsquedas bibliográficas.

#### Nota de los autores

Este trabajo es una parte del que ya se envió para su publicación a *Fertility and Sterility*.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Mulhall J. P.; Burgess C. M. y Cunningham D. y col.: Presence of mature sperm in testicular parenchyma of men with non-obstructive azoospermia: prevalence and predictive factors. *Urology*, 49: 91-96, 1997.
2. Burger H. G. e Igarashi M.: Inhibin: definition and nomenclature, including related substances. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1988; 66: 885-886.
3. Robertson D. M.; Sullivan J.; Watson M. y Cahir N.: Inhibin forms in human plasma. *J. Endocrinol.*, 1995; 144: 261-269.
4. Anawalt B. D.; Bebb R. A. y Matsumoto A. M.: Serum inhibin B levels reflect Sertoli cell function in normal men and men with testicular dysfunction. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, 81: 3341-3345.
5. Illingworth P. J.; Groome N. P.; Byrd W y col.: Inhibin-B: a likely candidate for the physiologically important form of inhibin in men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996; 81: 1321-1325.
6. Robertson D. M.; Giacometti M.; Foulds L. M. y col.: Isolation of inhibin alpha-subunit precursor proteins from bovine follicular fluid. *Endocrinology*, 1989; 125: 2141-2149.
7. Groome N. O.; Illingworth P. J. y O'Brien M.: Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996; 81: 1401-1405.
8. Au C. L.; Robertson D. M. y DeKrester D. M.: *In vitro*

- bioassay of inhibin in testes of normal and cryptorchid rats. *Endocrinol.*, 1983; 112: 239.
9. Ballescá J.; Balasch J.; Calafell J. M.; Álvarez R.; Fábregues F.; Martínez de Osaba M. J.; Ascaso C. y Vanrell J. A.: Serum inhibin B determination is predictive of successful testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum. Reprod.*, 2000; 15: 1734-1738.
  10. von Eckardstein S.; Simoni M.; Bergmann M.; Weinbauer G. F.; Gassner P.; Schepers A. G. y Nieschlag E.: Serum inhibin B in combination with serum follicle-stimulating hormone (FSH) is a more sensitive marker than serum FSH alone for impaired spermatogenesis in men, but cannot predict the presence of sperm in testicular tissue samples. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999; 14: 2496-2501.
  11. Craft I.; Tsigiriotis M.; Bennett V.; Taranissi M.; Khalifa Y.; Hogewind G. y Nicholson N.: Percutaneous epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection in the management of infertility due to obstructive azoospermia. *Fertil. Steril.*, 1995; 63: 1038-1042.
  12. Romero J.; Remohí J.; Minguez Y.; Rubio C.; Pellicer A. y Gil-Salom M.: Fertilization after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Fertil. Steril.*, 1996; 65: 877-879.
  13. Cha K. Y.; Oum K. B. y Kim H. J.: Approaches for obtaining sperm in patients with male factor infertility. *Fertil. Steril.*, 1997; 67: 985-995.
  14. Tournaye H.; Verheyen G.; Nagy P. y col.: Are there any predictive factors for successful testicular sperm recovery in azoospermic patients? *Hum. Reprod.*, 1997; 12: 80-86.
  15. Ezeh U. I. O.; Moore H. D. M. y Cooke I. D.: Correlation of testicular sperm extraction with morphological, biophysical and endocrine profiles in men with azoospermia due to primary gonadal failure. *Hum. Reprod.*, 1998; 13: 3066-3074.
  16. Palermo G. D.; Schlegel P. N.; Hariprashad J. J.; Ergun B.; Mielnik A.; Zaninovic N. y col.: Fertilization and pregnancy outcome with intracytoplasmic sperm injection for azoospermic men. *Hum. Reprod.*, 1999; 14: 741-748.
  17. Nieschlag E.: Care for the infertile male. *Clin. Endocrinol.*, 1993 (oxf); 38: 123-133.
  18. DeKrester D. M.; McLachlan R. I.; Robertson D. M.; Burger H. G.: Serum inhibin levels in normal men and men with testicular disorders. *J. Endocrinol.*, 1989; 120: 517-523.
  19. Jensen T. K.; Andersson A. M.; Hyollund N. H. I. y col.: Inhibin B as a serum marker of spermatogenesis: correlation to differences in sperm concentration and follicle-stimulating hormone levels. A study of 349 Danish men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997; 82: 4059-4063.
  20. Andersson A. M.; Juul A.; Petersen J. H.; Muller J.; Groom N. P.; Skakkebaek N. E.: Serum inhibin B in healthy pubertal and adolescent boys: relation to the age stage of puberty, and follicle-stimulating hormone, testosterone, and estradiol levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997; 82: 3976-3981.
  21. Pierik F. H.; Vreeburg J. T. M.; Stijnt; De Jong F. A.; Waber R. F. A.: Serum inhibin B as a marker of spermatogenesis. *J. Clin. Endoc. Metab.*, 1998; 83: 3110-3114.

---

## COMENTARIO EDITORIAL

---

Actualmente se conoce que en más del 50% de los hombres con azoospermia secretora es factible recuperar espermatozoides del testículo. Sin embargo, no

existen elementos predictores que permitan saber en quien será factible obtener espermatozoides<sup>(1)</sup>. Lo importante es que este procedimiento de recuperación de espermatozoides suele efectuarse en conjunto con la estimulación ovárica y recuperación de los ovocitos de la pareja. El no obtener espermatozoides luego de toda esta preparación implica una gran frustración, por lo que poder tener un elemento predictor del resultado de la recuperación es de una gran importancia.

Este trabajo tiene como objetivo evaluar si la inhibina B puede ser un buen elemento predictivo. Muestra una sensibilidad de 91% y una especificidad de 75% por lo que el grado de exactitud es de 83%. Por lo tanto, con este test podemos predecir en aproximadamente el 80% de los pacientes el resultado de la recuperación de espermatozoides. Sin embargo, desde un punto de vista práctico posiblemente las parejas igualmente efectúen el procedimiento si uno les dice que sólo tienen un 20% de posibilidad de encontrar espermatozoides. Cuando uno compara este trabajo con otros de la literatura, encuentra resultados similares en el trabajo de Ballescá<sup>(2)</sup>. Sin embargo, dos grupos muy importantes, con un gran número de pacientes no logran obtener un valor predictivo de la inhibina en la recuperación de espermatozoides<sup>(3,4)</sup>.

¿A qué se deben los resultados falsos positivos y falsos negativos de la prueba? Para entender esto debemos revisar algunos aspectos fisiológicos de la secreción de la inhibina. La inhibina B está formada por dos subunidades, la alfa producida por la célula de *Sertoli* bajo el estímulo de la FSH y la subunidad beta B producida posiblemente también por la célula de *Sertoli*, pero bajo el estímulo de la presencia de células germinales en estado de espermatocito y espermátida<sup>(5)</sup>. Si existen estas células existirán las dos subunidades que se ensamblarán para formar la inhibina B, mientras que si falta el epitelio germinal no se producirá subunidad beta B y por lo tanto la célula de *Sertoli* sólo fabricará la subunidad alfa. Por esta razón se pueden tener valores normales de inhibina B, aunque no existan espermatozoides en casos de detención de la espermatogénesis en estado de espermatocito o espermátida. Asimismo, puede haber niveles bajos de inhibina sérica con recuperación positiva de espermatozoides en casos en que existan muy pocos tubos con espermatogénesis completa, que no sean suficientes para que se produzca suficiente cantidad de subunidad beta B.

Tal como dicen los autores, se deberá repetir la experiencia en otros Centros y con un importante número de pacientes para poder incorporar este test como rutina en la evaluación previa a una recuperación de espermatozoides.

---

**Dr. Gastón J. Rey Valzacchi**

Servicio de Urología, Hospital Italiano de Buenos Aires,  
Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas

---

## BIBLIOGRAFÍA

---

1. Tournaye H.; Verheyen G.; Nagy P.: Are there any predictive factors for successful testicular sperm recovery in azoospermic patients? *Hum. Reprod.*, 12: 80-86, 1997.
2. Ballescá J. L.; Balasch J.; Calafell J. M. y col.: Serum inhibin B determination is predictive of successful testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum. Reprod.*, 15: 1734-1738, 2000
3. von Eckardstein S.; Simoni M.; Bergmann M. y col.: Serum inhibin B in combination-with serum follicle-stimulating hormone (FSH) is a more sensitive marker than serum FSH alone for impaired spermatogenesis in men, but cannot predict the presence of sperm in testicular tissue samples. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84: 2496-2501, 1999.
4. Vernaev V.; Tournaye H.; Schiettecatte J. y col.: Serum inhibin  $\beta$  cannot predict testicular sperm retrieval in patients with non-obstructive azoospermia. *J. Androl.*, (suppl.) P 3/4-101, 2001
5. Andersson A. M.; Müller J.; Skakkebak N. E.: Different roles of prepubertal and postpubertal germ cells and Sertoli cells in the regulation of serum inhibin B levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 83: 4451-4458, 1998.