



Correlación estadística y pronóstica de la concentración sérica de inhibina basal con la respuesta y calidad folicular en reproducción asistida*

Julián Ruíz Anguas,** Esperanza Carballo Mondragón,** Leonor Durán Monterrosas,** Clara Corona Lau,** Samuel Karchmer Krivitzky**

RESUMEN

Antecedentes: la inhibina B es un marcador directo de la reserva ovárica y uno de los marcadores más tempranos del envejecimiento ovárico. Por esta razón se ha utilizado en programas de reproducción asistida como un marcador sérico que puede detectar una reserva folicular alterada y predecir una adecuada o mala respuesta a la estimulación con gonadotropinas exógenas.

Objetivo: correlacionar las concentraciones de inhibina B con la respuesta folicular y la calidad de los ovocitos obtenidos mediante estimulación ovárica controlada en un ciclo de fertilización *in vitro* (FIVTE), así como relacionarla con variables, como porcentaje de fertilización y tasas de embarazo.

Pacientes y métodos: se incluyeron 71 pacientes que ingresaron al programa de FIVTE (febrero-abril 2005). Estudio prospectivo y transversal, se determinaron las concentraciones de inhibina B en el día tres del ciclo y se evaluó la respuesta folicular y la calidad ovocitaria durante la estimulación ovárica, así como las tasas de fertilización y embarazo. El análisis estadístico se realizó mediante las pruebas de Spearman y ANOVA.

Resultados: se observó una correlación positiva entre las concentraciones de inhibina y la cantidad de folículos desarrollados (0.457), número de ovocitos capturados (0.390) y cantidad de ovocitos en metafase II (0.324). Se apreció mejor calidad ovocitaria en las pacientes con concentraciones de inhibina > 251 pg/mL, y se consideró que las que tenían concentraciones < 50 pg/mL tenían mala respuesta folicular (19.71%). No existió correlación con las tasas de fertilización y embarazo.

Conclusiones: la inhibina B en la fase folicular temprana tiene correlación directa con la reserva ovárica. Sus concentraciones elevadas se asocian con mejor respuesta folicular y calidad ovocitaria. Las concentraciones de esta enzima no son útiles como factor de predicción de embarazo en ciclos de FIVTE.

Palabras clave: inhibina basal, calidad folicular, reproducción asistida.

Nivel de evidencia: II-2

ABSTRACT

Background: Inhibin B is a direct marker of ovarian reserve and one of the earliest markers of ovarian aging. It has been used in assisted reproduction programs as a serum marker that can identify an altered follicular reserve and predict a good or poor response to the stimulation with exogenous gonadotropins.

Objective: To correlate inhibin B levels with follicular response and quality of oocytes obtained through ovarian stimulation controlled in an *in vitro* fertilization cycle (IVFET), as well as relate it with variables such as: fertilization percentage and pregnancy rates.

Patients and methods: In a prospective and transversal study we included 71 patients that entered the IVFET program (February-April 2005). We determined inhibin B levels at the third day of the cycle and evaluated the follicular response and the oocyte quality during the ovarian stimulation, as well as fertilization and pregnancy rates. Statistical analysis was made with Spearman's and ANOVA tests.

Results: We observed a positive correlation between inhibin levels and quantity of developed follicles (0.457), number of captured oocytes (0.390), and quantity of metaphase II oocytes (0.324). We observed better oocyte quality in women with inhibin levels > 251 pg/mL, and we considered that the ones that had levels < 50 pg/mL had poor follicular response (19.71%). There was no correlation with fertilization and pregnancy rates.

Conclusions: In the early follicular phase inhibin B has direct correlation with ovarian reserve. Its high levels are related to better follicular response and oocyte quality. This enzyme levels are not useful as a predictive factor of pregnancy in IVFET cycles.

Key words: basal inhibin, follicular quality, assisted reproduction.

Level of evidence: II-2



RÉSUMÉ

Antécédents : l'inhibine B est un marqueur direct du réservoir ovarien et l'un des marqueurs les plus précoces du vieillissement ovarien. Par cette raison on l'a employée dans des programmes de reproduction assistée comme un marqueur sérique qui peut détecter un réservoir folliculaire altéré et prédire une bonne ou mauvaise réponse à la stimulation avec gonadotrophines exogènes.

Objectif : faire la corrélation des concentrations d'inhibine B avec la réponse folliculaire et la qualité des ovocytes obtenus par stimulation ovarienne contrôlée dans un cycle de fertilisation *in vitro* (FIVETE), ainsi que la mettre en relation avec des variables, comme le pourcentage de fertilisation et les taux de grossesse.

Patients et méthodes : étude prospective et transversale incluant 71 patientes qui sont entrées dans le programme de FIVETE (février-avril 2005). On a déterminé les concentrations d'inhibine B dans le troisième jour du cycle et l'on a évalué la réponse folliculaire et la qualité ovocytaire pendant la stimulation ovarienne, ainsi que les taux de fertilisation et de grossesse. L'analyse statistique a été réalisée au moyen des tests Spearman et ANOVA.

Résultats : on a observé corrélation positive entre des concentrations d'inhibine et quantité de follicules développés (0.457), nombre d'ovocytes capturés (0.390) et quantité d'ovocytes en métaphase II (0.324). On a apprécié une meilleure qualité ovocytaire chez les patientes avec concentrations d'inhibine > 251 pg/mL, et l'on a considéré que celles qui avaient des concentrations < 50 pg/mL montraient une mauvaise réponse folliculaire (19.71%). Il n'y pas eu de corrélation avec les taux de fertilisation et de grossesse.

Conclusions : l'inhibine B dans la phase folliculaire précoce a une corrélation directe avec le réservoir ovarien. Ses hautes concentrations s'associent avec une meilleure réponse folliculaire et qualité ovocytaire. Les concentrations de cette enzyme ne sont pas utiles comme facteur de prédiction de grossesse dans des cycles de FIVETE.

Mots-clé : inhibine basale, qualité folliculaire, reproduction assistée.

Niveau d' évidence : II-2

RESUMO

Antecedentes: a inibina B é um indicador direto da reserva ovárica e um dos indicadores de maior eficácia do envelhecimento ovárico. É por isso que tem sido utilizado em programas de reprodução assistida como um indicador sérico que pode detectar uma reserva folicular alterada e prever uma ótima ou má resposta à estimulação com gonadotropinas exógenas.

Objetivo: correlacionar as concentrações de inibina B com a resposta folicular e a qualidade dos ovócitos que se obtiveram mediante estimulação ovárica controlada num ciclo de fertilização *in vitro* (FIVTE), além de a relacionar com variáveis, como percentagem de fertilização e taxas de gravidez.

Pacientes e métodos: estudo prospetivo e transversal no qual foram incluídas 71 pacientes que ingressaram ao programa de FIVTE (fevereiro-abril 2005) determinaram-se as concentrações de inibina B no dia terceiro do ciclo e avaliou-se a resposta folicular e a qualidade ovocitária durante a estimulação ovárica, assim como também as taxas de fertilização e gravidez. O análise estatístico foi feito mediante os testes de Spearman e ANOVA.

Resultados: houve correlação positiva entre concentrações de inibina e quantidade de foliculos desenvolvidos (0,457), número de ovócitos capturados (0,390) e quantidade de ovócitos em metáfase II (0,324). Pôde se observar melhor qualidade ovocitária nas pacientes com concentrações de inibina > 251 pg/mL, e se considerou que aquelas que tinham concentrações < 50 pg/mL manifestavam má resposta folicular (19,71%). Não houve correlação com as taxas de fertilização e gravidez.

Conclusões: a inibina B na primeira fase folicular tem correlação direta com a reserva ovárica. As suas elevadas concentrações associam-se com melhor resposta folicular e qualidade ovocitária. As concentrações desta enzima não resultam úteis como fator de predição de gravidez em ciclos de FIVTE.

Palavras chave: inibina basal, qualidade folicular, reprodução assistida.

Nível de evidência : II-2

* Este trabajo obtuvo el primer lugar del Premio Dr. Juan María Rodríguez para trabajos científicos de investigación clínica presentados por escrito en el 56 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia.

** Unidad de Reproducción Asistida, Centro Especializado para la Atención de la Mujer, Hospital Ángeles de las Lomas.

Correspondencia: Dr. Julián Ruiz Anguas. Unidad de Reproducción Asistida, Centro Especializado para la Atención de la Mujer, Hospital Ángeles de las Lomas. Vialidad de la Barranca s/n, colonia Valle de las Palmas, Huixquilucan, Estado de México, CP 52763.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

En los programas de reproducción asistida han tratado de implantarse pruebas dinámicas o estáticas antes de comenzar la estimulación ovárica, con la finalidad de predecir buenos o malos resultados en un ciclo que se inicia.

Entre las pruebas estáticas es bien sabido que las concentraciones de hormona foliculo estimulante (FSH) < 10 UI/L y las de estradiol < 50 pg/mL durante la fase folicular temprana (día tres a cinco del ciclo) se asocian con adecuada respuesta folicular durante el ciclo de estimulación.¹ Sin embargo, algunos autores han propuesto que los valores de FSH basal si bien son un

parámetro adecuado para evaluar la reserva ovárica no pueden predecir la respuesta ovárica ante las gonadotropinas exógenas, además de que existe una alta variabilidad entre los ciclos.²

Por lo tanto, se ha propuesto que la determinación de los productos directos de las células de la granulosa puede reflejar de manera más precisa la respuesta ovárica, motivo por el que las inhibinas se han estudiado como un factor de predicción en los programas de fertilización *in vitro*.^{2,3}

Las inhibinas son glucoproteínas heterodiméricas, compuestas por una subunidad α y una o dos unidades β (β -A y β -B), que dan origen a dos isoformas: inhibina A y B. Esta última comienza a elevarse durante la fase folicular temprana hasta llegar a un pico máximo que coincide con la fase folicular media, en la cual comienzan a disminuir las concentraciones de FSH, luego su concentración disminuye durante la fase lútea. Esto sugiere que es producida por la cohorte de folículos reclutados.³

En contraste, las concentraciones de inhibina A son bajas durante la fase folicular temprana y muestran discreta elevación en la fase folicular media, así como incremento acelerado durante la ovulación. De igual forma, se observan concentraciones máximas durante la fase lútea media, lo que hace presuponer que la secreción de esta enzima está a cargo del folículo dominante y pudiera ser un parámetro para evaluar la maduración del folículo.⁴

Se ha propuesto que la inhibina B es un marcador directo de la reserva ovárica y uno de los marcadores más tempranos del envejecimiento ovárico, ya que comienza a disminuir antes que las concentraciones de FSH aumenten. Por esta razón se ha utilizado en programas de reproducción asistida como un marcador sérico que puede detectar una reserva folicular alterada y predecir una adecuada o mala respuesta a la estimulación con gonadotropinas exógenas.

Existen reportes en la bibliografía, como el de Casper y colaboradores,⁵ en los que menciona que en las pacientes que no responden al ciclo de estimulación ovárica las concentraciones basales de inhibina son menores que en las pacientes que responden adecuadamente (34 ± 16 pg/mL vs 158 ± 17 pg/mL).

Otros autores han tratado de correlacionar las concentraciones de inhibina con las tasas de embara-

zo, como Urbanczek y colaboradores,⁷ quienes mencionan que las concentraciones de inhibina iguales a 216 pg/mL el día de la captura son el punto de corte para discernir entre las pacientes que logran embarazarse y las que no, con sensibilidad y especificidad del 63%.

También se ha observado en las pacientes que ingresan a fertilización *in vitro* con endometriosis, quienes tienen menores concentraciones séricas de inhibina a lo largo del ciclo de estimulación en comparación con las pacientes que tienen oclusión tubaria como factor único de infertilidad.⁶

Otros estudios han propuesto que las concentraciones de inhibina en la fase folicular temprana, por sí mismas, no son un parámetro correcto para predecir o no la adecuada respuesta folicular en ciclos de fertilización *in vitro*, mientras que la combinación de la edad y la FSH basal puede predecir, con mayor sensibilidad y especificidad, las posibilidades de cancelar un ciclo por mala respuesta.⁷ Asimismo, otros autores coinciden en que las concentraciones de inhibina B durante la fase folicular temprana no son un parámetro adecuado para poder predecir buenos resultados en función del embarazo en programas de fertilización *in vitro*. Se ha observado que existe una gran variación entre los ensayos (coeficiente de variación 15%) al realizar las determinaciones mediante inmunoabsorbencia con anticuerpos monoclonales, lo cual puede influir de manera determinante en la interpretación de los resultados.^{9,10}

De acuerdo con los datos mencionados, en los que se comenta que la inhibina B refleja la capacidad funcional de las células de la granulosa, decidió realizarse un estudio prospectivo, transversal y descriptivo para correlacionar las concentraciones de la misma con la respuesta folicular y la calidad de los ovocitos obtenidos mediante estimulación ovárica controlada en un ciclo de fertilización *in vitro*, así como para relacionarla con variables, como porcentaje de fertilización y tasas de embarazo.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se incluyeron todas las pacientes con infertilidad que ingresaron al programa de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones entre febrero y abril del 2005. No se incluyeron las pacientes en quienes no se

realizó determinación de inhibina B antes de iniciar la estimulación ovárica.

El protocolo de estimulación ovárica se realizó con FSH recombinante (Puregon® Organon) y se inició el tercer día del ciclo menstrual. Se realizó monitoreo folicular mediante ultrasonido, determinaciones de LH y estradiol, y protocolo de supresión hipofisiaria con antagonista de GnRH Ganirelix (Orgalutran® Organon), con un esquema multidosis. En las pacientes con mala respuesta se utilizó *stop Lucrin* con el agonista de GnRH, acetato de leuprolide (Lucrin Kitt® Abbot Lab).

El criterio para aplicar gonadotropina coriónica humana urinaria (u-hCG), a razón de 10,000 UI (Pregnyl® Organon), fue observar dos folículos mayores de 18 mm de diámetro y, al menos, un folículo de 17 mm de diámetro, programándose la captura ovular 34 a 36 horas después.

Los ovocitos aspirados se colocaron en medio P1 adicionado con 10% de SSS (Synthetical Serum Substitute® Irving Scientific) durante cuatro a seis horas, a 37°C y 5% de CO₂, con humedad del 99%. Luego, se realizó la inseminación y se mantuvieron en incubación a 37°C, con 5% de CO₂ y humedad del 99%. La calidad ovocitaria se valoró con base en el cuerpo polar, el espacio perivitelino y las inclusiones citoplasmáticas.¹¹

La transferencia de embriones se realizó 72 horas postcaptura, con catéter *Echotip Soft-Pass* (Cook®) bajo guía ultrasonográfica; se transfirieron entre uno y tres embriones según la calidad y disponibilidad de éstos.

A todas las pacientes se les tomó una muestra sanguínea en el día tres del ciclo, antes de iniciar la estimulación ovárica con gonadotropinas, para determinar las concentraciones séricas de inhibina B. Se utilizó la técnica de ensayo de inmunoabsorbencia ligada a enzimas (ELISA), con coeficiente de variación entre ensayos del 3.5%.

El análisis estadístico se realizó mediante las pruebas de Spearman, para establecer la correlación entre las variables, y ANOVA, para comparar las medias. Se utilizó el programa estadístico SPSS Windows® (Microsoft Co.).

RESULTADOS

Se incluyeron 71 pacientes que ingresaron al programa de fertilización *in vitro*, con edad promedio de 33.5 ± 3.71 años (rango 23 a 41). Las indicaciones para ingresar al programa fueron: factor tuboperitoneal 29 pacientes (40.8%), factor masculino 20 pacientes (28.1%), factor endocrino 15 pacientes (21.1%) y factor inexplicable 7 pacientes (9.8%).

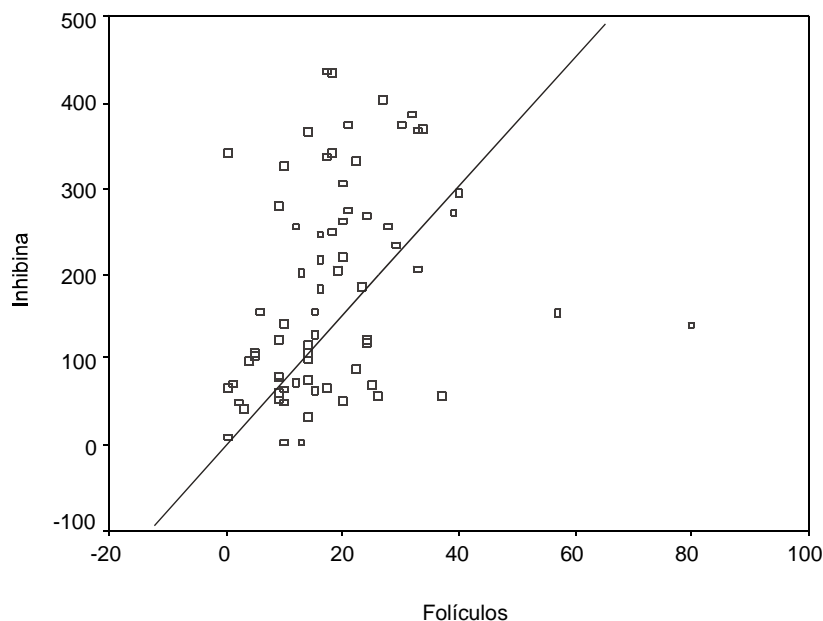


Figura 1. Correlación entre las concentraciones de inhibina B y los folículos punccionados.

Las concentraciones de inhibina B en el día tres del ciclo oscilaron entre 1.54 y 436.0 pg/mL. El promedio de ovocitos capturados por paciente fue de 11; de éstos, siete se encontraban en metafase II y dos en metafase I.

Al tratar de establecer una correlación entre las concentraciones de inhibina y la cantidad de folículos obtenidos el día de la captura ovular existió una correlación positiva (0.457), estadísticamente significativa ($p < 0.01$), con la prueba de Spearman (figura 1); es decir, a mayores concentraciones de inhibina basal mayor cantidad de folículos desarrollados durante la estimulación ovárica. Asimismo, se observó una correlación positiva (0.390), estadísticamente significativa ($p < 0.01$), entre las concentraciones de inhibina en la fase folicular temprana y la cantidad de ovocitos obtenidos (figura 2). En cuanto a la madurez ovocitaria las pacientes que manifestaron mayores concentraciones de inhibina B tuvieron mayor cantidad de ovocitos en etapa de metafase II. Se apreció una correlación positiva (0.324) y significativa mediante la prueba de Spearman (figura 3).

Para fines del estudio se dividió a las pacientes según las concentraciones de inhibina B en rangos de 50 pg/mL. Se observó que 14 mujeres (19.71%), quienes

tuvieron menos de cuatro folículos en el día de la captura ovular, manifestaban concentraciones basales < 50 pg/mL, y seis de éstas fueron canceladas durante el ciclo de estimulación ovárica por falta de desarrollo folicular (9.85%). También decidió establecerse la correlación que existía entre la calidad ovocitaria y la inhibina basal, observándose diferencias estadísticamente significativas, ya que la mayor cantidad de óvulos de mala calidad se encontró en el grupo de pacientes con menores concentraciones de inhibina. Por el contrario, las pacientes con altas concentraciones tuvieron con mayor frecuencia óvulos de buena calidad (figura 4).

Al comparar las tasas de fertilización en relación con las concentraciones de inhibina B se observó menor porcentaje de fertilización (32.95%) en las pacientes que tenían menores concentraciones séricas en comparación con los otros grupos, pero sin diferencia estadísticamente significativa (figura 5).

Al realizar el análisis estadístico y correlacionar las tasas de embarazo se observó que las pacientes que lograron embarazarse tenían concentraciones mayores de inhibina basal (227.43 pg/mL) en comparación con las que no lo lograron (169.45 pg/mL) (figura 6).

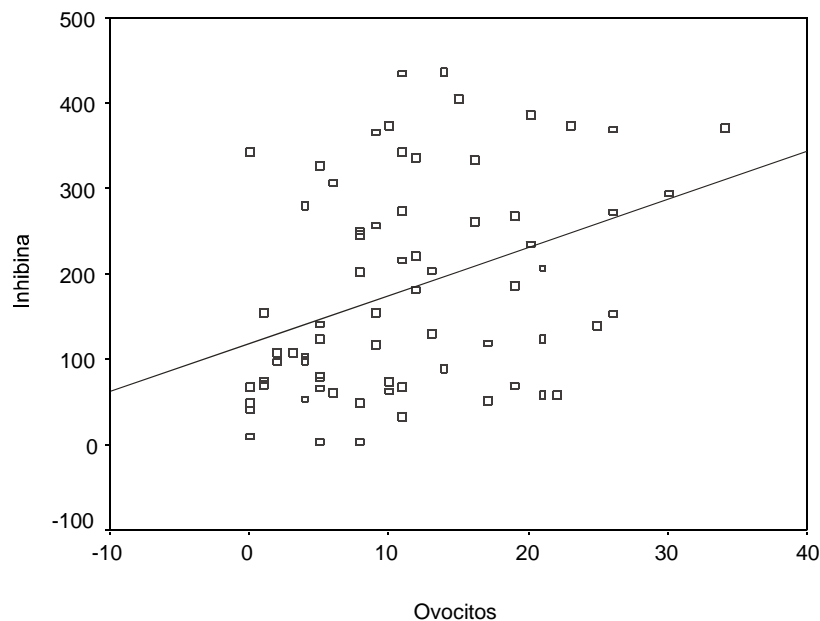


Figura 2. Correlación entre las concentraciones de inhibina B y los ovocitos capturados.

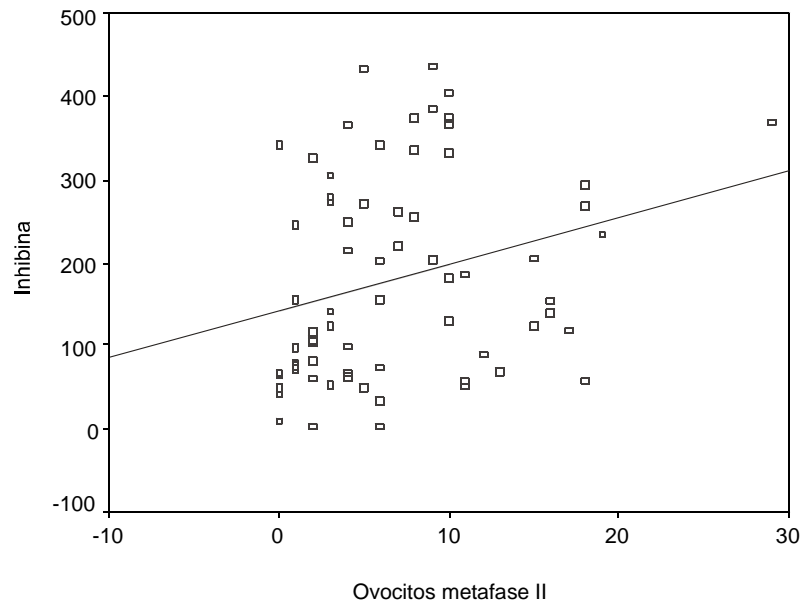


Figura 3. Correlación entre las concentraciones de inhibina B y los ovocitos en metafase II.

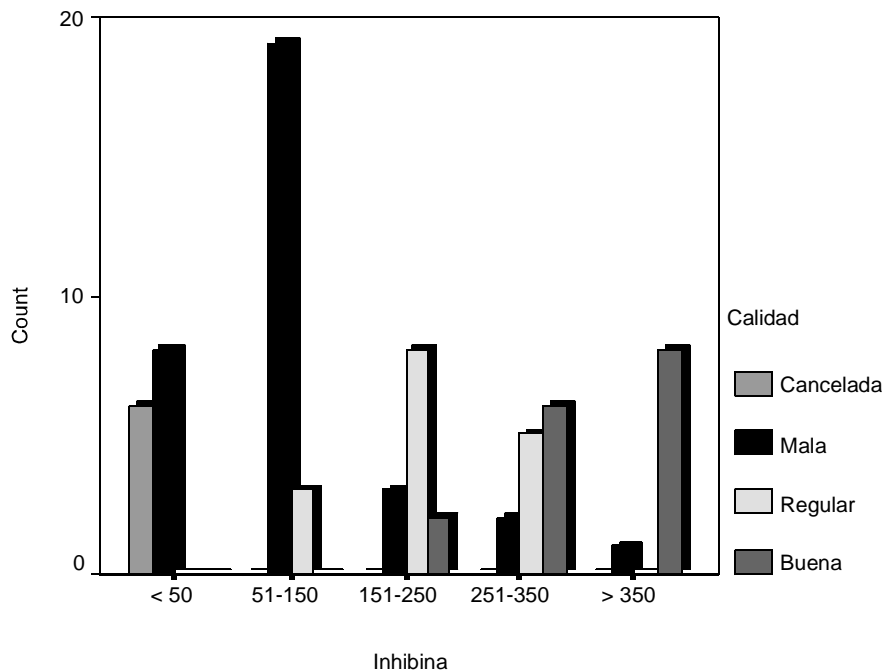


Figura 4. Correlación de la calidad ovocitaria con las concentraciones de inhibina B.

COMENTARIOS

La inhibina B es un parámetro adecuado para evaluar la función de las células de la granulosa y, por ende, de

la reserva ovárica. En este estudio se estableció que existe una correlación importante entre las concentraciones séricas de inhibina B durante la fase folicular temprana y la respuesta ovular, ya que las pacientes

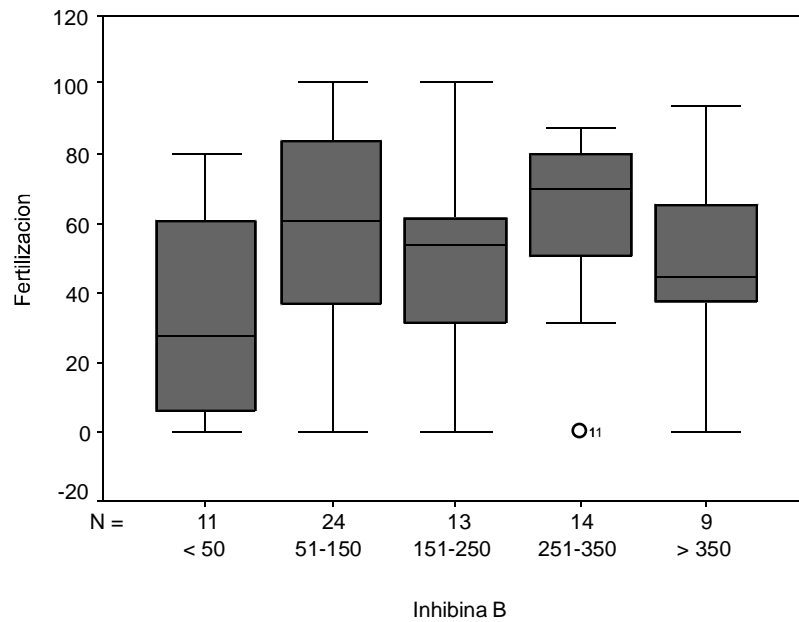


Figura 5. Correlación entre las concentraciones de inhibina B y las tasas de fertilización.

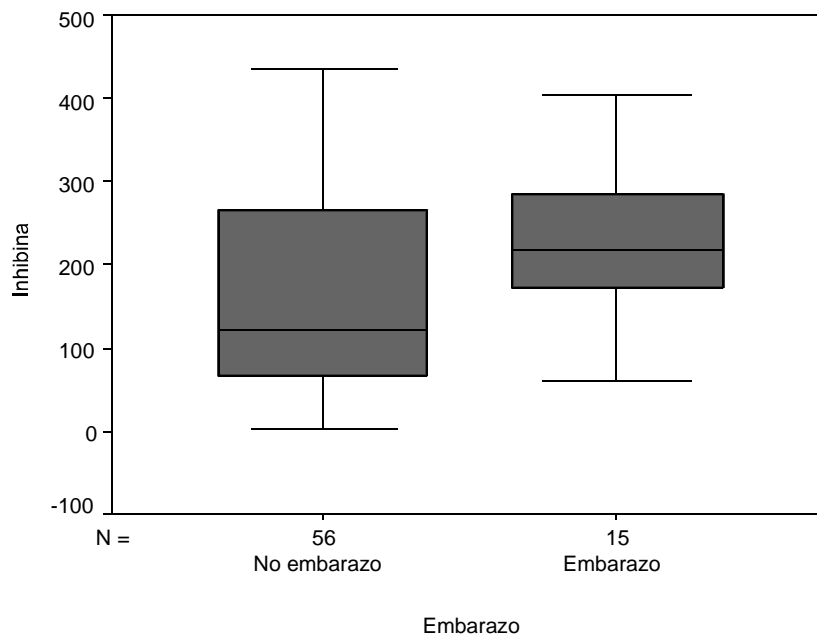


Figura 6. Correlación entre las concentraciones de inhibina B y el embarazo.

con las concentraciones más elevadas tuvieron mejor respuesta folicular durante el ciclo de estimulación, así como mayor cantidad de óvulos capturados. Lo anterior permite presuponer que dichas pacientes te-

nían adecuada reserva ovárica. Estos datos coinciden con otros trabajos reportados en la bibliografía, donde las pacientes con concentraciones bajas de inhibina B manifiestan menor respuesta folicular o

mayor tasa de cancelación en ciclos de estimulación ovárica.^{12,13}

Por lo que se refiere a la calidad de los ovocitos obtenidos en este estudio se observó que existe una estrecha relación con la inhibina B, ya que a mayores concentraciones plasmáticas de esta enzima mejor calidad de los ovocitos obtenidos para su fertilización. Con esto puede decirse que la función de las células de la granulosa es óptima para la maduración adecuada del ovocito, aun en los ciclos donde la estimulación se realiza con gonadotropinas exógenas.

En este estudio no se obtuvo ninguna correlación entre las concentraciones basales de inhibina y la edad de las pacientes. Se observó que aun las pacientes mayores de 37 años de edad tuvieron concentraciones adecuadas de inhibina B y respuesta folicular adecuada. Por el contrario, las pacientes menores de 30 años, con concentraciones disminuidas, se distinguieron por mala respuesta a la estimulación ovárica. Estos datos confirman aún más que la determinación plasmática de inhibina es un buen parámetro para evaluar la capacidad funcional de las células de la granulosa y la respuesta folicular en ciclos de fertilización *in vitro*, lo cual coincide con lo reportado en la bibliografía.^{5,7}

Al intentar correlacionar las concentraciones de inhibina B con otros parámetros que pudieran predecir de manera más estrecha los resultados en programas de fertilización *in vitro*, como las tasas de fertilización, no se observó ninguna correlación, así como tampoco se encontró relación con las tasas de embarazo. Esto quizá se deba a que en un programa de fertilización *in vitro* hay variables ajenas a la respuesta ovárica, como la calidad seminal y embrionaria, la dificultad de la transferencia y el grosor endometrial, que pueden afectar los resultados en función del embarazo.

En este estudio puede concluirse que las concentraciones séricas de inhibina B durante la fase folicular temprana se correlacionan con la respuesta folicular y calidad ovocitaria en ciclos de fertilización *in vitro*, lo que puede considerarse como un factor pronóstico de la respuesta ovárica ante el uso de gonadotropinas exógenas. Sin embargo, las concentraciones de esta enzima no guardan ninguna correlación con las tasas

de fertilización y embarazo, por lo que no tiene utilidad como factor de predicción en las tasas de embarazo en los programas de fertilización *in vitro*.

REFERENCIAS

1. Navarro J, Schattman GL, Rosenwaks Z. La baja respondedora a los protocolos de estimulación ovárica. En: Remohi J, Pellicer A, Simón C, Navarro J. 2ª ed. Madrid: McGraw-Hill 2002;pp:65-78.
2. Séller DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, et al. Day 3 serum inhibin-B is a predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 1997;67:110-4.
3. Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Pai R, et al. Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1401-5.
4. Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Cooke I, et al. Detection of dimeric inhibin throughout the human menstrual cycle by two-site enzyme immunoassay. *Clin Endocrinol* 1994;40:717-23.
5. Casper FW, Seuffer R, Schaffrath M, Pollow K. Concentrations of inhibins and activin in women undergoing stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone for *in vitro* fertilization treatment. *Fertil Steril* 2001;75:32-37.
6. Dokras A, Habana A, Giraldo J, Jones E. Secretion of inhibin B during ovarian stimulation is decreased in infertile women with endometriosis. *Fertil Steril* 2000;74:35-40.
7. Urbanczek J, Erik Hauzman, Klinga K, Rabe T, et al. Use of serum inhibin B levels at the start of ovarian stimulation and at oocyte pickup in the prediction of assisted reproduction treatment outcome. *Fertil Steril* 2005;83:341-8.
8. Creus M, Peñarrubia J, Fábregues F, Vidal E, et al. Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. *Hum Reprod* 2000;15:2341-6.
9. Hall E, Welt CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Hum Reprod* 1999;14:409-15.
10. Corson SL, Gutmann J, Batzer FR. Inhibin B as a test of ovarian reserve for infertile women. *Hum Reprod* 1999;14:2818-21.
11. Kably AA, Ruiz AJ, Carballo ME, Corona de LC, Karchmer KS. Correlación entre las concentraciones intrafoliculares de la superóxido dismutasa y la calidad ovocitaria, las tasas de fertilización y el desarrollo embrionario. *Ginecol Obstet Mex* 2004;72:335-44.
12. McLachlan RI, Roberson DM, Healy DL, De Krester DM, Burger HG. Plasma inhibin levels during gonadotrophin induced ovarian hyperstimulation for IVF: a new index of follicular function? *Lancet* 1986;327:1233-4.
13. Dzik A, Lambert G, Izzo VM, Borges J, et al. Inhibin B response to EFORT is associated with the outcome of oocyte retrieval in the subsequent *in vitro* fertilization cycle. *Fertil Steril* 2000;74:1114-7.