

Jesús Frías Iniesta

¿Hay diferencias entre las gonadotropinas disponibles para la estimulación ovárica en técnicas de reproducción asistida?

Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Universitario La Paz. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España.

El autor ha recibido una ayuda docente no condicionada para la revisión de este tema por parte de Merck-Serono.

Correspondencia:

Dr. J. Frías Iniesta.
Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Universitario La Paz. Paseo de la Castellana, 262. 28046 Madrid. España.
Correo electrónico: jesus.frias@uam.es

Fecha de recepción: 24/5/2007.
Aceptado para su publicación: 3/8/2007.

Are there any differences in the gonadotrophins available for ovarian stimulation in assisted reproduction techniques?

RESUMEN

En el mercado español se dispone de diversas gonadotropinas utilizadas en los programas de reproducción asistida. El objetivo de esta revisión es determinar las diferencias entre ellas y establecer las ventajas y los inconvenientes de cada una en base a su origen, seguridad y eficacia clínica. Desde el punto de vista técnico, las gonadotropinas recombinantes presentan ventajas técnicas y mayor pureza, actividad específica y homogeneidad entre lotes. Desde el punto de vista de la seguridad, aunque hay diferencias claras en el origen, y por tanto en los riesgos de transmisión de enfermedad infecciosa, todas las gonadotropinas disponibles han mostrado ser seguras. Es desde el punto de vista de la eficacia donde es más difícil establecer diferencias. Muchos de los estudios disponibles son pequeños y no siempre los parámetros de evaluación han sido comparables. La mayoría de los estudios no han podido establecer diferencias, por lo que existen en la literatura científica diversos metaanálisis que tratan de responder básicamente a dos aproximaciones: saber si las FSH recombinantes (FSHr) son mejores que las urinarias y si la hormona recombinante es mejor que la gonadotropina menopáusica humana.

Los datos no permiten demostrar que las urinarias o la hMG, solas o en combinación, sean más eficaces que la FSHr, mientras que, por el contrario, las recombinantes han mostrado ser más eficaces que las urinarias purificadas agrupadas.

PALABRAS CLAVE

Técnicas de reproducción asistida. Gonadotropinas. Gonadotropina recombinante humana. Gonadotropinas urinarias. Metaanálisis.

ABSTRACT

In Spain, several different gonadotrophins are available for assisted reproductive techniques. The present review aims to determine the differences between these gonadotrophins and to establish the advantages and limitations of each in terms of their origin, safety, and efficacy. From the technical point of view, recombinant gonadotrophins have enhanced purity, specific activity and greater consistency. From the safety point of view, there are clear differences in the origin and manufacturing process and consequently in the risk

282 of infectious diseases; however, to date, all gonadotropins have been demonstrated to be safe. Differences in efficacy are more difficult to establish. Many trials have compared preparations but, because of their small size and variations in study design, the results have been variable. Most of the studies have failed to detect any differences and consequently several meta-analyses have aimed to determine whether recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) gonadotrophins are preferable to urinary-derived FSH and whether recombinant hormone is superior to human menopausal gonadotropin (hMG). The published results do not demonstrate that urinary-derived FSH or hMG, alone or when data are pooled, are more effective than recombinant FSH. In contrast, recombinant gonadotrophins have been shown to be more effective than urinary-derived gonadotrophins as a whole.

KEY WORDS

Assisted reproductive techniques. Gonadotrophin. Recombinant human follicle-stimulating hormone. Urinary gonadotrophin. Meta-analysis.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la importancia de la medicina reproductiva ha ido en aumento en todo el mundo y también en España. Se estima que 1 de cada 6 parejas en edad reproductiva sufre problemas de fertilidad; ello supone que en España hasta 800.000 parejas no consiguen tener hijos de forma natural.

No en todos los casos se pueden identificar las causas de este aparente aumento de la infertilidad en los últimos años, pero a las causas bien conocidas, como la obesidad extrema, la anorexia nerviosa, el abuso de drogas, alcohol, tabaco y medicamentos, los tratamientos de quimioterapia anticancerosa, o ciertas enfermedades de transmisión sexual, se pueden haber unido otras causas más difíciles de establecer con claridad, como la contaminación medioambiental, el uso de aditivos alimentarios y pesticidas, los estrógenos exógenos que podemos ingerir con el agua o los alimentos u otros factores tóxicos. El hecho es que entre el 30 y el 40% de todos

los casos de infertilidad se debe a enfermedades en el varón; la causa principal es la azoospermia o la oligospermia, mientras que la enfermedad femenina causa de un 40 a un 50% de los casos de infertilidad en las parejas y la causa más frecuente son las alteraciones en la ovulación.

Actualmente, los avances científicos en el conocimiento de la reproducción humana han permitido el desarrollo de múltiples técnicas dirigidas a permitir la unión de los gametos y el posterior embarazo, procesos como la inducción medicamentosa de la ovulación, la inseminación artificial, la transferencia intratubárica de gametos (TIG), la fertilización in vitro (FIV), la inyección ovular intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) o la inyección de espermatozoides bajo la zona pelúcida de un óvulo (ZUSI) y otros constituyen lo que hoy entendemos como técnicas de reproducción asistida (TRA). La pieza básica de todos estos procesos es el desarrollo de varios folículos. Esta superovulación es fundamental para el éxito de los programas de reproducción asistida porque tiene como objetivo aumentar el número de óvulos maduros que puedan recogerse y, por consiguiente, aumentar las tasas de embarazo al incrementar la posibilidad de elección de los embriones. Pues bien, en esta inducción de la ovulación son esenciales las gonadotropinas exógenas.

En los últimos años, y de acuerdo con la teoría de 2 células, 2 gonadotropinas, se ha venido utilizando la hormona foliculostimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) para el desarrollo folicular normal y para la esteroidogénesis¹. La administración de FSH sin LH en mujeres hipogonadotróficas provoca menores concentraciones de estradiol, menores tasas de fecundación de oocitos^{2,3} y ausencia de embarazos a término que cuando se tratan con FSH exclusivamente. Sin embargo, en mujeres normogonadotróficas sólo son necesarias cantidades muy bajas de LH para producir desarrollo folicular oocitario⁴. Más recientemente, se ha propuesto la utilización conjunta de agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRHa), para suprimir la función hipofisaria, y FSH para controlar mejor la hiperestimulación ovárica en la fecundación in vitro.

Es difícil determinar el número de ciclos de TRA que se realizan en España, aunque es seguro que se ha incrementado notablemente durante las dos últimas décadas. Una estimación indirecta basada en el uso de gonadotropinas y de material de laboratorio

indica que en 2003 se iniciaron en España entre 27.000 y 30.000 ciclos de FIV-ICSI, aunque la cifra real puede ser muy superior, ya que en realidad sólo el 30-35% de las unidades de reproducción españolas comunican sus registros a la Sociedad Española de Fertilidad⁵.

MEDICAMENTOS UTILIZADOS EN MEDICINA DE LA REPRODUCCIÓN

Como hemos señalado, para lograr suficiente calidad y cantidad de ovocitos, es necesario diseñar un protocolo de estimulación ovárica adecuado a cada paciente y a cada procedimiento, en el que se pueden utilizar diversas gonadotropinas: la FSH, la LH y la gonadotropina coriónica (hCG).

También se ha venido utilizando clomifeno, pero hace ya años que se demostró que los preparados gonadotrópicos proporcionan mejores resultados.

Este período inicial de superovulación requiere un incremento mantenido de la concentración de FSH que evite el proceso de selección de un único folículo e induzca el desarrollo de varios folículos; de este modo, se dispone de una serie de ovocitos maduros útiles para la fecundación o en otras técnicas de reproducción asistida.

La superovulación se lleva a cabo siempre mediante tratamiento adyuvante con un agonista o con un antagonista de la GnRH. Ya que se ha demostrado que este tratamiento adyuvante permite el crecimiento gradual de una amplia cohorte de folículos y evita el pico espontáneo de LH, que, en épocas anteriores, originaba hasta un 20% de cancelaciones de los ciclos de estimulación ovárica.

La FSH humana es secretada por las células gonadotróficas de la hipófisis por el estímulo de la GnRH y cumple un papel biológico muy importante, tanto en varones como en mujeres. En varones es esencial para la espermatogénesis, donde actúa sinérgicamente con los andrógenos y la LH, y en las mujeres regula el crecimiento folicular y actúa también en colaboración con los estrógenos y la LH. En los testículos actúa sobre las células de Sertoli favoreciendo la maduración de los túbulos seminíferos. En los ovarios actúa sobre las células de la granulosa activando la conversión de los andrógenos producidos en la teca en estrógenos, estimulando la proliferación de las células de la granulosa, indu-

ciendo un aumento considerable de receptores de la LH y de la prolactina, y activando las enzimas esteroideogénicas necesarias para la biosíntesis de progesterona.

La LH es otra gonadotropina producida por la hipófisis (junto a la FSH) cuya función en las mujeres es inducir la maduración final folicular, la ovulación y la luteinización en los ovarios con folículos previamente desarrollados, así como estimular la producción de hormonas masculinas en los testículos de los varones. Ambas se utilizan conjuntamente en el proceso de estimulación del desarrollo folicular en pacientes con déficit importante de LH y FSH.

La hCG se utiliza tras la estimulación del desarrollo folicular para provocar una maduración folicular final y la luteinización en las técnicas de reproducción asistida.

Estructuralmente, la FSH es una hormona glucoproteica formada por 2 subunidades, alfa y beta, unidas entre sí por 2 enlaces no covalentes. La subunidad alfa está formada por 92 aminoácidos y tiene dos complejos glucídicos enlazados con los residuos de asparagina en las posiciones 52 y 78. La subunidad beta la integran 111 aminoácidos y tiene también otros dos complejos glucídicos unidos a Asn-7 y a Asn-24.

La masa molecular de la subunidad alfa es de 14 kD, y la de la beta, de 17 kD. La secuencia de aminoácidos de la subunidad alfa de la FSH es la misma que la de la subunidad alfa de otras hormonas glucoproteicas, como la LH, la tirotropina (TSH) y hCG. La subunidad beta, en cambio, es única y es responsable de la especificidad fisiológica de la hormona. Gran parte de la actividad biológica de la hormona depende de la presencia de las cuatro cadenas glucídicas unidas a las dos subunidades peptídicas alfa y beta. Estas 4 cadenas condicionan, además, otra característica relevante en la actividad de la hormona folicular humana. Ambas subunidades se expresan por genes diferentes y experimentan, antes de la secreción, algunos cambios, como la adhesión de las cadenas glucídicas, pues bien, el contenido en ácido siálico y la disposición de estas 4 cadenas glucídicas son diferentes entre unas isoformas y otras y ello condiciona su potencia biológica, su vida media de eliminación y su inmunorreactividad⁶. Se piensa que la FSH natural consta de una mezcla microheterogénea de 20 o más de estas isoformas⁷.

Tabla 1. Gonadotropinas disponibles y su origen

Año	Nombre	Origen	Procedimiento de obtención	Nombre comercial original
Antes de 1950	Suero de yegua preñada			
1962	FSH procedente de pituitaria humana hMG Menotropina	Orina de mujer posmenopáusica	Extracto hormonal procedente de <i>pools</i> de orina	Pergonal Humegon Menogon Menopur Repronex Metrodin Follegon
1983	FSHu-P Urofolitropina	Orina de mujer posmenopáusica	Procede de la menotropina con un proceso de extracción mediante anticuerpos anti-LH en una columna de sefarosa	Metrodin HP Bravelle Fertinex
1993	FSHu-HP Urofolitropina altamente purificada	Orina de mujer posmenopáusica	Procede de la menotropina con un proceso de extracción mediante anticuerpos anti-FSH mediante cromatografía de inmovilización	Metrodin HP Bravelle Fertinex
1995	FSHr Folitropina recombinante humana	ADN recombinante en cultivos de células de hámster chino	Bancos de células madre en cultivo productoras de FSH humana con técnicas de purificación	Gonal-f (folitropina alfa) Puregon (folitropina beta)
2003	FSHr FbM Folitropina recombinante humana en ampollas dosificadas en masa (µg)	ADN recombinante en cultivos de células de hámster chino	Bancos de células madre en cultivo productoras de FSH humana con técnicas de purificación	Gonal-f FbM ampollas dosificadas en masa en vez de actividad

FSHr: hormona foliculostimulante recombinante; FSHu-HP: urofolitropina altamente purificada; FSHu-P: urofolitropina; FbM: *filled by mass*; hMG: gonadotropina menopáusica humana o menotropina.

La FSH suministrada al comienzo del ciclo, en la fase folicular temprana, actúa sobre la cohorte de folículos reclutados en los últimos días de la fase lútea del ciclo anterior, permitiendo la selección de un mayor número de folículos que puedan evolucionar como dominantes.

La LH sirve de soporte del crecimiento folicular iniciado por la FSH, proveyendo el sustrato androgénico para la aromatasa de las células de la granulosa que sintetizará estradiol. En el período preovulatorio, con el pico de LH se estimula la meiosis oocitaria, madura el cúmulo oóforo y se produce el estallido folicular con la expulsión del óvulo y la formación del cuerpo lúteo. Durante el resto del ciclo, la LH será el soporte de ese cuerpo lúteo.

Hace ya muchos años que se vienen usando las gonadotropinas para favorecer la ovulación; los primeros intentos se hicieron con gonadotropinas pro-

venientes del suero de yegua preñada, que aunque eficaz producía muchos efectos indeseables, como la aparición de anticuerpos antigonadotropina. A finales de los años cincuenta se utilizaron gonadotropinas procedentes de hipófisis humanas, que pronto fueron también abandonadas ante el riesgo de desarrollar la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ).

No fue hasta 1960 cuando comenzó el desarrollo farmacológico de las gonadotropinas mediante el aislamiento y la producción industrial de FSH procedente de la orina de mujeres posmenopáusicas (tabla 1). Este producto, conocido como extracto purificado de gonadotropina menopáusica humana o menotropina (hMG), produjo su primer embarazo en 1962. En aquellos años este material contenía, además de FSH, una significativa actividad LH, así como otras proteínas contaminantes. En realidad, la cantidad de hormona no era superior al 5% y la ac-

Tabla 2. Características de los preparados de gonadotropinas

	<i>Origen</i>	<i>Actividad</i>	<i>Pureza, contenido en FSH</i>	<i>Actividad FSH específica U/mg proteínas</i>	<i>Proteínas inyectadas por 75 U (mg)</i>	<i>Proteínas contaminantes</i>
hMG	Orina de mujer posmenopáusica	FSH y LH	2%	40	750	> 95%
FSHu	Orina de mujer posmenopáusica	FSH y LH (< 1 U)	85%	150	370-750	> 95%
FSHu-HP	Orina de mujer posmenopáusica	FSH	> 95%	9.000	6-11	< 1%
FSHr	ADN recombinante en cultivos de células de hámster chino	FSH	99,99%	10.000	8,1	0
FSHr FbM	ADN recombinante en cultivos de células de hámster chino	FSH	99,99%	13.500	–	0

FSHr: hormona foliculostimulante recombinante; FSHu-HP: urofolitropina altamente purificada; FSHu-P: urofolitropina; FbM: *filled by mass*; hMG: gonadotropina menopáusica humana o menotropina; LH: hormona luteinizante.

tividad específica podía ser tan baja como 40 U de FSH/mg de proteína; además había importantes variaciones en la relación FSH/LH de un lote a otro (tabla 2).

En 1983 se pudo mejorar el proceso de extracción y purificación a partir de la orina de mujeres posmenopáusicas y se consiguió que la LH se separara con un anticuerpo en una columna de sefarosa. Este producto, llamado urofolitropina (FSHu-P), mantiene al término de este proceso un 85-100% de la actividad inicial de FSH y muy poca actividad LH (< 1 U). La actividad específica se aproxima a 150 U de FSH/mg de proteína, pero aun así más del 95% de las proteínas sigue siendo contaminante^{8,9}.

El siguiente paso fue aumentar la actividad intrínseca del preparado y disminuir la cantidad de proteínas contaminantes que causaban efectos adversos y anticuerpos. Ello se consiguió mediante técnicas de purificación con anticuerpos monoclonales anti-FSH para extraer la FSH de la hMG a granel mediante cromatografía de inmovilización. El producto así aislado se llamó urofolitropina altamente purificada (FSHu-HP), y se comercializó en 1993. Este preparado contiene más de un 95% de FSH pura, con una actividad específica de 9.000 U/mg de proteína en comparación con la actividad específica de

150 U/mg de proteína de la menotropina y de la urofolitropina, y menos de un 5% de proteínas contaminantes. Además, este producto ofrecía un preparado farmacéutico más homogéneo y estandarizado, con una escasa variabilidad entre lotes. No obstante, FSHu-HP sigue teniendo origen en la orina de mujeres posmenopáusicas y, por tanto, está sujeta a algunos de los problemas propios que presentan las demás gonadotropinas urinarias, en particular el suministro y la calidad de la materia prima.

El gran avance en los últimos años ha sido la utilización de técnicas de ingeniería genética aplicadas a la producción de las denominadas gonadotropinas recombinantes, FSHr (FSH recombinante) y LHr (LH recombinante). Se pudieron obtener en 1995 tras aislar los genes que codifican las cadenas alfa y beta de LH y FSH, e introducirlos mediante un vector en células huésped de mamífero, en concreto de ovario de hámster chino, que producen las cadenas alfa y beta clonándose en medios nutrientes especiales y secretando las proteínas extracelularmente. Una vez purificada, la FSHr contiene 10.000 U de FSH/mg de proteína y la LHr 20.000 a 30.000 U de LH/mg de proteína, sin otras proteínas contaminantes¹⁰.

El último avance ha sido la posibilidad de dosificar la gonadotropina alfa en unidades de masa (en

Tabla 3. Evolución histórica y mejoras realizadas en gonadotropinas utilizadas

<i>Año</i>	<i>Origen</i>	<i>Limitaciones</i>
1962 hMG	Orina de mujer posmenopáusica Contenido activo muy variable	Pureza muy limitada Actividad LH Proteínas contaminantes
1983 FSHu-P	Orina de mujer posmenopáusica	Pureza muy limitada Baja actividad LH Contenido activo muy variable Proteínas contaminantes
1993 FSHu- HP	Orina de mujer posmenopáusica	Alta actividad FSH Baja actividad LH Pocas proteínas contaminantes Ciclos de tratamiento ovulatorio con menores efectos adversos
1995 FSHr	ADN recombinante en cultivos de células de hámster chino	Alta pureza Alta actividad FSH Producto bien caracterizado y reproducible Seguridad controlada Mayor eficacia en términos de número de embarazos
2003 FSHr-FbM	ADN recombinante en cultivos de células de hámster chino	Alta pureza Alta actividad FSH Producto bien caracterizado y reproducible Seguridad controlada Permite ajuste en unidades de peso en vez de actividad

FSHr: hormona foliculostimulante recombinante; FSHu-HP: urofolitropina altamente purificada; FSHu-P: urofolitropina; FbM: *filled by mass*; hMG: gonadotropina menopáusica humana o menotropina; LH: hormona luteinizante.
Tomado de Giudice et al⁹.

µg) en vez de utilizar las unidades de bioactividad (unidades internacionales) como venía siendo habitual desde el inicio de la investigación con gonadotropinas. La actividad de las preparaciones se refería siempre a unidades internacionales, de acuerdo con un sistema de medición de la actividad en un bioensayo en ovario de rata. Este sistema, internacionalmente aceptado, tiene una baja precisión y, como consecuencia, una alta variabilidad en las preparaciones de FSH. Los avances en diversos procesos de fabricación (cromatografía de alta resolución con exclusión por tamaño, enfoque isoeléctrico o mapeo de glicanos) han permitido a los fabricantes de folitropina alfa ofrecer una alta consistencia en el perfil de las isoformas, en el contenido de glicanos y entre distintos lotes del producto¹¹. Todo ha dado como resultado la posibilidad de cuantificar el producto en base al contenido en masa, en µg, en vez de en actividad, en unidades internacionales, lo

que a su vez ha permitido al médico administrar dosis conocidas y reproducibles¹².

Existen dos preparados de folitropina recombinante obtenidos y purificados por métodos distintos: la folitropina alfa, cuantificada en unidades de masa, y la folitropina beta, medida en unidades de bioactividad¹³.

EL RIESGO DE TRANSMISIÓN DE INFECCIONES CON EL USO DE LAS GONADOTROPINAS

Así pues, la evolución histórica en el desarrollo de las gonadotropinas ha permitido avanzar en varios aspectos relevantes (tabla 3):

– Aumentar significativamente la pureza de los preparados.

Tabla 4. Preparaciones de FSH utilizadas en España durante 2006

	<i>Dosis equivalentes de 75 unidades (U). Una ampolla tiene 75 U, pero hay presentaciones con viales multidosis</i>	%	
Gonal®	1.402.880	47,3	Recombinantes: 74,7%
Puregon®	814.051	27,4	
Bravelle®	7.231	0,2	Urinarias: 25,2%
Menopur®	443.675	14,9	
HGM Lepori®	300.687	10,1	
	2.968.524	100	

Cada preparación farmacéutica tiene distintas presentaciones en dosis y número de envases, por lo que a fin de compararlas en la tabulación se han ajustado al equivalente de 75 unidades.

– Aumentar de manera drástica la actividad específica.

– Aumentar la homogeneidad de los lotes y con ello permitir una mejor dosificación.

– Disminuir el contenido en proteínas contaminantes.

– Disminuir el riesgo de transmisión de infecciones.

– Disminuir la frecuencia de efectos adversos.

– Aumentar la eficacia en término de número de embarazos.

Aun permanecen disponibles en el mercado preparaciones procedentes de orina y hormonas recombinantes, que se han usado y siguen usándose ampliamente. En España, durante el año 2006, se han utilizado diversas preparaciones de FSH (tabla 4).

Cada preparación farmacéutica tiene distintas presentaciones en dosis y número de envases, por lo que a fin de compararlas en la tabulación se han ajustado al equivalente de 75 unidades internacionales.

Desde 1959 y hasta 1988 ha estado disponible para la inducción de la ovulación la FSH humana procedente de extractos de adenohipófisis de cadáveres. Lógicamente, la dificultad de obtención, y sobre todo el riesgo de que pudiera estar asociada al síndrome de Creutzfeldt-Jacob, motivó su retirada, aunque se estima que ha podido ser utilizada en unos 1.300 tratamientos.

Es obvio que esa retirada y todas las posteriores medidas precautorias están en clara relación con el

brote de encefalitis espongiforme bovina que apareció en el Reino Unido en los años ochenta y la demostración de que podía afectar en forma de una variante de la ECJ (vECJ) a la especie humana¹⁴.

No son muchos los datos existentes respecto del riesgo de transmisión de la enfermedad a partir de muestras de orina o de productos farmacéuticos obtenidos de orina animal o humana. Existe un estudio que ha demostrado que se puede preparar un prion definido como uPrPsc a partir de la orina de hámsteres, del ganado o de humanos afectados con encefalitis espongiforme transmisible¹⁵, aunque este prion aislado en orina tiene una isoforma diferente de la del prion detectado en el cerebro (PrPsc), de manera que no podemos saber si es realmente infeccioso. Por otra parte, estos resultados no han podido ser reproducidos, por lo que son muy cuestionados en la comunidad científica¹⁶. Más recientemente se ha demostrado que en animales infectados experimentalmente con homogeneizado de cerebro enfermo de *scrapie* se produce la transmisión de la enfermedad, y en aquellos animales con nefritis linfocelular hay eliminación de priones infecciosos por vía urinaria¹⁷.

En todo caso, estos hallazgos no dejan de ser datos experimentales de laboratorio y hasta la fecha no existe prueba concluyente alguna de que la orina pueda ser una vía de transmisión de enfermedad por priones entre humanos. Es más, la Agencia Europea de Evaluación de Medicamentos (EMEA) ha señalado que la evidencia epidemiológica en los últimos 25 años, en los que se han utilizado amplia-

mente gonadotropinas derivadas de muestras de orina, no sugiere que exista riesgo de padecer una ECJ¹⁸. En este mismo documento, la EMEA señala que, por el momento, no existen indicaciones para proceder a la exclusión de posibles donantes de orina, salvo que existan razones personales de riesgo de presentar ECJ, estando dispuesta a cambiar este criterio ante nuevas informaciones. Por el contrario, el documento señala como muy importantes las medidas precautorias respecto de las muestras de sangre, por ejemplo con los donantes de sangre para producción de hemoderivados, recomendando la exclusión de donantes por razones geográficas¹⁸. De similar opinión es la Organización Mundial de la Salud, que señala que la transmisión de ECJ por orina jamás se ha probado y que resulta altamente improbable¹⁹.

Hay que señalar que, como consecuencia del brote de encefalitis espongiforme bovina que apareció en el Reino Unido y la transmisión de una vECJ en la especie humana, todas las autoridades sanitarias del mundo han regulado y extremado las medidas para disminuir el riesgo de transmisión de priones en productos de uso humano, y en particular para los medicamentos. Las autoridades reguladoras ya han establecido los requisitos necesarios para poder utilizar productos derivados de animales, estableciendo el nivel de riesgo, definiendo los métodos necesarios para asegurar la no infectabilidad de los materiales producidos y comprobando los diferentes pasos de fabricación para garantizar el resultado final²⁰⁻²².

El proceso industrial de extracción de las gonadotropinas a partir de la orina de donantes está bien establecido y controlado; se realizan diferentes procesos de extracción (adsorción con caolina, precipitación con acetona, extracción con etanol y cuatro fases de cromatografía) antes de una concentración final dirigidas a maximizar la pureza^{14,23}. Sin embargo, las condiciones de obtención de muestras de orina para la extracción de gonadotropina urinaria ha cambiado mucho en los últimos años. Hasta finales de los años ochenta las muestras se obtenían de no más de 600-1.000 mujeres bien controladas médicamente y donantes habituales²³. Durante un año se podían recoger y tratar unos 120.000 l de orina, suficientes para tratar la infertilidad con amenorrea hipofisaria, pero a medida que las indicaciones de uso se fueron ampliando hizo falta recoger más

cantidad de muestra, y a principios de este siglo ya hacían falta 600.000 donantes. Al incluir donantes de países como Corea, China, India o Argentina, además de los países europeos, se hizo mucho más difícil garantizar la seguridad basada en la recolección individualizada.

Es por ello que aún existen riesgos, ya que es imposible garantizar el origen de la muestra, asegurar su trazabilidad, comprobar la calidad durante el transporte, o hacer un cribado en la detección inicial de donantes enfermas^{23,24}.

Quizás por ello, y a pesar de que el riesgo es extremadamente bajo, algunos países han hecho recomendaciones y tomado decisiones prudentes. La Unión Europea define este principio precautorio como la toma de decisiones en el manejo de situaciones de riesgo cuando se aprecian efectos potencialmente peligrosos sin que se pueda evaluar el riesgo con suficiente certeza²⁵. Así, en virtud de este principio, el Comité de Seguridad de Medicamentos del Reino Unido solicitó a Serono, en 2003, la retirada voluntaria de Metrodin HP del mercado británico una vez publicado el primer caso de muerte por una vECJ en Italia, un país de donde procede parte de la orina utilizada por Serono en algunos de sus productos^{26,27}.

Francia, en 1996, y Suiza, en 2003, solicitaron a los fabricantes que incluyeran en el prospecto un aviso para los usuarios indicando el origen urinario humano de las gonadotropinas y señalando la imposibilidad de excluir completamente el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas conocidas o desconocidas; además la autoridad suiza solicitó que se indicara también el país de origen de las muestras de orina utilizadas en el proceso de fabricación²⁸. Australia fue más lejos y ya en 1996 el Comité de Evaluación de Medicamentos Australiano reemplazó las gonadotropinas urinarias por las recombinantes, a la vista de su pureza y seguridad²⁹.

En todo caso, también hay que señalar que con el uso de las gonadotropinas recombinantes también existe un riesgo, muy remoto, y teórico. Durante el proceso de fabricación, hay dos momentos en que las células están en contacto con material bovino, las líneas celulares de hámster de ovario chino se mantienen en un cultivo al que se le añade suero fetal de ternera, al igual que las líneas celulares de hibridoma productoras de los anticuerpos utilizados

en la purificación¹⁴. Ni que decir tiene que si se han establecido herramientas de control para garantizar la seguridad en las gonadotropinas de origen urinario, a pesar de la consideración de la orina como un producto de bajo riesgo de transmisión²⁰, muchas más se han tomado con el material biológico procedente de animales^{21,22,30}. Es más, los fabricantes están procediendo a la retirada de cualquier material de origen bovino en la producción de gonadotropinas recombinantes, y desde 2007 la gonadotropina recombinante alfa se fabrica ya sin contacto con suero de ternera fetal.

La evaluación del riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas en el uso de gonadotropinas, tanto urinarias como recombinantes, en protocolos de estimulación ovárica es bajísimo, casi teórico, máxime si se considera la cantidad administrada y la duración del tratamiento. Aunque parece razonable pensar que dadas las dificultades para asegurar los procesos de obtención y transporte de las muestras de orina, quizás pueda existir un mayor riesgo en las gonadotropinas urinarias. Hasta el momento no ha habido ningún caso de transmisión de infección en mujeres en tratamiento con técnicas de fertilización in vitro.

Así pues, las diferencias han de buscarse con otros criterios, en particular, eficacia, beneficio/riesgo y farmacoeconomía.

CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DE LAS HORMONAS FOLICULOSTIMULANTES EXISTENTES

Desde el primer embarazo conseguido con gonadotropina recombinante en 1993 se han desarrollado muchos estudios comparativos entre la gonadotropina recombinante y las demás en aras de establecer sus diferencias en términos de eficacia. Una gran parte de estos estudios aparecen en la tabla 5. Como se puede apreciar, entre ellos hay muchos ensayos que podríamos llamar pequeños, no más de 3 o 4 tienen tamaños muestrales con más de 120 pacientes. Quizás ello haya podido contribuir a que, con los resultados de los autores en la mano, ninguna FSH que esté disponible, la gonadotropina menopáusica humana (hMG), la FSHu-P, la FSHu-HP y la FSHr, ha demostrado ser estadísticamente diferente en términos de eficacia de cualquier otra (tabla 5). Por ello, diversos autores han intentado analizar conjuntamente estos estudios en un intento por ganar tamaño y poder estadístico para hacer comparaciones.

Ya en 1995 Daya et al⁶⁴ y en 2000 Agrawal et al⁶⁵ publicaron 2 metaanálisis que comparaban FSHu con hMG. Los resultados fueron contrapuestos, los resultados de Daya et al⁶⁴ favorecían a la FSHu y los de Agrawal et al⁶⁴ a la hMG.

Tabla 5. Ensayos clínicos publicados e incluidos en los diferentes metaanálisis que comparan diferentes gonadotropinas

Autor y año	Comparación	Parámetro de evaluación	Pacientes incluidos	Resultados	Metaanálisis
O'Dea et al, 1993 ³¹	FSHr frente a uFSH-P	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	56/58	0,94 (IC del 95%, 0,39-2,29)	A, C
Hedon et al, 1995 ³²	FSHr frente a FSHu-P	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	57/33	1,44 (IC del 95%, 0,56-3,69)	A, C
Out et al, 1995 ³³	FSHr frente a FSHu-P	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	585/396	1,19 (IC del 95%, 0,90-1,58)	A, C
RHFSG, 1995 ³⁴	FSHr frente a FSHu-P	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	60/63	1,32 (IC del 95%, 0,53-3,34)	A, C
Alvino et al, 1995 ³⁵	FSHr frente a FSHu-P	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	27/28	1,54 (IC del 95%, 0,45-5,25)	A, C
Bergh et al, 1997 ³⁶	FSHr frente a FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	55/52	1,53 (IC del 95%, 0,71-3,29)	A, C
Manassiev et al, 1997 ³⁷	FSHr frente a FSHuP y FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	44/21	2,43 (IC del 95%, 0,76-7,82)	A
Gordon et al, 1997 ³⁸	FSHr frente a FSHu-P	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	39/30	2,55 (IC del 95%, 0,72-9,03)	A, C

(Continúa en la página siguiente)

Tabla 5. Ensayos clínicos publicados e incluidos en los diferentes metaanálisis que comparan diferentes gonadotropinas (Continuación)

<i>Autor y año</i>	<i>Comparación</i>	<i>Parámetro de evaluación</i>	<i>Pacientes incluidos</i>	<i>Resultados</i>	<i>Metaanálisis</i>
Janssen et al, 1998 ³⁹	hMG frente a FSHr	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	35/54	0,73 (IC del 95%, 0,26-2,10)	B, D
Ferraretti et al, 1999 ⁴⁰	FSHr frente a FSUuP y FSHu-P	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	8/9	3,80 (IC del 95%, 0,13 -107)	A
Kornilov et al, 1999 ⁴¹	FSHr frente a FSUuP y FSHu-P	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	28/69	1,65 (IC del 95%, 0,67-4,08)	A
Hoomans et al, 1999 ⁴²	FSHr frente a FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	83/82	0,98 (IC del 95%, 0,51-1,89)	A, C
Berger et al, 1999 ⁴³	FSHr frente a FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	87/72	1,28 (IC del 95%, 0,63-2,58)	A, C
Ghosh et al, 1999 ⁴⁴	FSHr frente a FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	22/25	1,50 (IC del 95%, 0,39-5,83)	A, C
Machado et al, 1999 ⁴⁵	FSHr frente a FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	40/24	0,31 (IC del 95%, 0,07-1,43)	A, C
Frydman et al, 2000 ⁴⁶	FSHr frente a FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	89/91	1,53 (IC del 95%, 0,71-3,29)	A, C
Franco et al, 2000 ⁴⁷	FSHr frente a FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	60/60	1,25 (IC del 95%, 0,59-2,66)	A, C
Lenton et al, 2000 ⁴⁸	FSHr frente a FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	23/14	0,77 (IC del 95%, 0,2-2,92)	A, C
Schats et al, 2000 ⁴⁹	FSHr frente a FSHu-HP	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	93/93	0,89 (IC del 95%, 0,46-1,72)	A, C
Serhal et al, 2000 ⁵⁰	hMG frente a FSHr	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	144/94	1,76 (IC del 95%, 0,94-3,31)	B
Gordon et al, 2001 ⁵¹	hMG frente a FSHr	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	39-29	0,64 (IC del 95%, 0,23-1,79)	B, C, D
Ng et al, 2001 ⁵²	hMG frente a FSHr	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	20/20	0,75 (IC del 95%, 0,17-3,33)	B, C, D
Strehler et al, 2001 ⁵³	hMG frente a FSHr	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	1/1	No estimable	B, D
Westergaard et al, 2001 ⁵⁴	hMG frente a FSHr	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	190/189	0,79 (IC del 95%, 0,52-1,20)	B, C, D
Germond et al, 2001 ⁵⁵	FSHu-HP frente a FSHr	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	39/40	1,3 (IC del 95%, 0,92-14,89)	C
Driedrich et al, 2002 ⁵⁶	hMG frente a FSHr	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	354/373	0,85 (IC del 95%, 0,60-1,21)	B, C, D
Dickey et al, 2002 ⁵⁷	FSHu-HP frente a FSHr	Tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	56/119	0,78 (IC del 95%, 0,40-1,53)	C
Kalani et al, 2003 ⁵⁸	hMG frente a FSHr	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	50/50	1,00 (IC del 95%, 0,39-2,56)	D
Balash et al, 2003 ⁵⁹	hMG frente a FSHr	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	25/25	0,68 (IC del 95%, 0,20-2,30)	D

El punto de corte representa la tasa o proporción de la comparación principal, de manera que valores superiores a 1 implican que hay ventaja de la gonadotropina recombinante y menos de 1, que hay ventaja de la otra gonadotropina en comparación, excepto en 3 estudios, en que es al revés^{50,58,59}. El intervalo de confianza (IC) viene a representar la significación estadística de los resultados, de tal manera que si entre ambos extremos se incluye el 1, los resultados no tienen significación estadística.

A corresponde al metaanálisis de Daya y Gunby⁶⁰ de 2001; B, al metaanálisis de Van Wely et al⁶¹ de 2003; C, al metaanálisis de Al-Inany et al⁶² de 2003, y D, al metaanálisis de Al-Inany et al⁶³ de 2005.

FSHr: hormona foliculostimulante recombinante; FSHu-HP: urofotropina altamente purificada; FSHu-P: urofotropina; hMG: gonadotropina menopáusica humana o menotropina.

Centrándonos en los estudios con FSHr, Daya y Gunby⁶⁰ publicaron, en 2000, en la biblioteca Cochrane, un metaanálisis que actualizaron posteriormente en 2002⁶⁶. Este metaanálisis recogía los artículos publicados entre 1993 y 2000, seleccionados según unos criterios de búsqueda bastante habituales; en particular, tenían que ser ensayos clínicos aleatorizados, o con distribución de tratamientos casi aleatorizada, y que estuvieran publicados o en forma de *abstracts* con información completa. Los autores seleccionaron los artículos que tenían datos suficientes para analizar los resultados de eficacia y seguridad, según unos objetivos primarios y secundarios (tabla 6).

Decidieron incluir a los ensayos que hubieran utilizado una folitropina de origen urinario purificada o altamente purificada en comparación con una FSHr, pero sin incluir estudios con hMG. Además, de acuerdo con la práctica más habitual, incorporaron estudios en los que se utilizaba supresión hipofisaria inducida con agonistas de GnRH con protocolo largo. Con todos estos condicionantes, se incluyeron un total de 18 ensayos que se metaanalizaron conjuntamente para alcanzar un total de 3.423 ciclos. El principal resultado del metaanálisis fue que la hormona recombinante era mejor en términos de número de embarazos clínicos por ciclo empezado que las dos urinarias agrupadas. La ventaja era pequeña, pero estadísticamente significativa 1,21 (intervalo de confianza [IC] del 95%, 1,04-1,42), lo que traducido a términos clínicos significa que la diferencia real entre ambas folitropinas es del 3,7%, o lo que es igual, por cada 19 mujeres tratadas se obtiene un embarazo más con FSHr que con FSH de origen urinario⁶⁷.

Los resultados secundarios del estudio permitieron además establecer que la folitropina alfa era mejor que las urinarias en términos de embarazos clínicos por ciclo empezado en técnicas de FIV (1,37 [IC del 95%, 1,05-1,79]) y no consiguieron demostrar diferencias entre las FSH comparadas para ninguna otra variable, es decir no demostraron diferencias en términos de embarazos clínicos por oocito recogido, embarazo clínico por embrión transferido, abortos espontáneos, embarazos múltiples, síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO) o número de folículos mayores de 10 mm recogidos, aunque algunos estudios demostraron algunas diferencias individualmente⁶⁷. Tampoco la folitropina recombinante alfa

fue superior a las urinarias en FIV más ICSI (tablas 6 y 7).

En 2003, Van Wely et al⁶¹ publicaron, también en la Biblioteca Cochrane, otro metaanálisis. Pero éste era fundamentalmente distinto. Se recogieron estudios entre 1993 y 2002, se comparó FSHr y hMG y se estudió como parámetro principal de evaluación la tasa de embarazos en marcha o la tasa de nacidos vivos por mujer. En este análisis, y de acuerdo con los criterios de búsqueda, se encontraron 9 ensayos clínicos, pero se incluyeron en el metaanálisis sólo 6 para el análisis principal^{39,51-54,56-67} (tablas 6 y 7) y 7 para un análisis secundario⁵⁰.

Los resultados de los 4 estudios realizados con protocolos largos de supresión hipofisaria inducida con agonistas de GnRH señalan una diferencia, en términos de embarazos en marcha o la tasa de nacidos vivos por mujer, favorable a la hMG de 1,27 (IC del 95%, 0,98-1,64), no significativa estadísticamente. En cuanto a los parámetros de evaluación secundarios, el metaanálisis tampoco demostró diferencias entre FSHr y hMG en cuanto a abortos por mujer, embarazos múltiples por mujer, promedio de oocitos recuperados por mujer o SHEO por mujer. Sí encontró una diferencia marginal en embarazos clínicos por mujer de 1,28 (IC del 95%, 1,00-1,64)⁶¹. En este caso, por cada 18 mujeres tratadas con hMG se obtendría un embarazo más que con FSHr. En todo caso, este metaanálisis debe considerarse con precaución, ya que establece sus conclusiones a partir de sólo 4 estudios verdaderamente aleatorizados y tiene ciertamente un poder estadístico muy bajo para sus comparaciones⁶⁸.

Otro punto importante para reseñar aquí es que los metaanálisis de Daya y Gunby^{60,64} y Van Wely et al⁶¹ no se pueden comparar entre sí; uno compara FSHr y folitropinas urinarias, purificada y altamente purificada, y el otro compara FSHr y hMG. Este tema es importante, ya que es práctica común combinar la supresión hipofisaria inducida por agonistas o antagonistas de GnRH con la FSH en la hiperestimulación ovárica controlada en la reproducción asistida. Esta regulación provoca concentraciones circulantes de LH más bajas que en ciclos normales⁶⁹, y según algunos autores pueden ser la causa de que algunas mujeres tengan niveles endógenos de LH demasiado bajos para el desarrollo folicular⁷⁰. En estas circunstancias, que en todo caso no se pueden prever de antemano, la utilización de hMG, que

Tabla 6. Metaanálisis sobre la comparación de la eficacia de las gonadotropinas. Características

<i>Autor y año de publicación</i>	<i>Años revisados</i>	<i>Afección estudiada</i>	<i>Comparación</i>	<i>Objetivo principal</i>	<i>Objetivos secundarios</i>	<i>Casos (n)</i>	<i>Ensayos incluidos</i>	<i>Referencias</i>
Daya et al, 2000	1993-2000	FIV con o sin ICSI	FSHr frente a FSHu	Tasa de embarazo clínico por ciclo comenzado	Tasa de abortos, embarazos múltiples, SHEO, dosis total de gonadotropinas administradas. Concentración sérica de E2, número de folículos, número de oocitos recogidos	2.823 pacientes; 3.423 ciclos	18	31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49
Van Wely et al, 2003	1998-2002	FIV o ICSI	FSHr frente a hMG	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	Cantidad total de gonadotropinas administradas. Tasa de abortos, número de oocitos recogidos Embarazos clínicos por mujer, embarazos múltiples, SHEO	1.452 pacientes	6/4	39, 51, 52, 53, 54, 56
Al-Inany et al, 2003	1993-2002	FIV o ICSI	FSHr frente a hMG, FSHu y FSHu-HP	Tasa de embarazo clínico por ciclo comenzado		4.510 pacientes	20	31, 32, 33, 34, 35, 36, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 52, 54, 55, 56, 57
Al-Inany et al, 2005	1999-2004	FIV o ICSI	FSHr frente a hMG	Tasa de embarazo en curso/ nacidos vivos por mujer	Embarazos clínicos por mujer, tasa de abortos, embarazos múltiples, SHEO, dosis total de gonadotropinas administradas	2.031 ciclos	8	39, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59

FIV: fertilización in vitro; FSHr: folitropina recombinante; FSHu: folitropina de origen urinario, lo que incluye FSHu (folitropina purificada) y FSHu-HP (folitropina altamente purificada); ICSI: inyección ovular intracitoplasmática de espermatozoides; hMG: gonadotropina menopáusica humana o menotropina.

tiene una importante actividad LH, podría ser de utilidad frente a la FSHr, libre de ella.

También en 2003 Al-Inany et al⁶² publicaron otro metaanálisis que comparaba FHSr con todas las FSHu en conjunto, y por separado, incluyendo en el análisis FSHu-P, FSHu-HP y hMG. El parámetro principal de evaluación fue la tasa de embarazos clínicos por ciclo comenzado (como en el metaanálisis de Daya y Gunby⁶⁰), sin que en la publicación aparezcan otros parámetros secundarios metaanalizados. En este análisis, y de acuerdo con los criterios de búsqueda, se encontraron 20 ensayos clínicos, de los cuales 15 estaban también incluidos en el metaanálisis de Daya y Gunby⁶⁰; 3 ensayos de los incluidos en aquel metaanálisis se excluyeron, bien por no ser aleatorizados³⁷, no usar protocolo largo de

supresión hipofisaria inducida con agonistas de GnRH⁴⁰ o utilizar un parámetro de evaluación principal distinto⁴¹. En el metaanálisis también se incluyen otros 4 estudios^{51,52,54,56} que coinciden con los del metaanálisis anteriormente citado de Van Wely et al⁶¹. Los resultados del metaanálisis completo, con los 20 ensayos seleccionados, y a pesar de incluir 4.610 ciclos, resultaron en una pequeña ventaja a favor de la FHSr: 1,07 (IC del 95%, 0,94-1,22), pero sin diferencias estadísticamente significativas. Los autores hicieron también comparaciones directas según las gonadotropinas utilizadas (tabla 7), sin que en ningún caso se encontraran diferencias estadísticamente significativas. Los datos respecto de la comparación frente a hMG son los mismos que los de Van Wely et al⁶¹ y las otras dos comparaciones, las

Tabla 7. Metaanálisis sobre la comparación de la eficacia de las gonadotropinas. Resultados

Autor y año de publicación	Análisis principal y subanálisis	Ensayos incluidos	Resultados	Observaciones, ensayos excluidos
Daya et al, 2000 ⁶⁰	Comparación FSHr frente a FSHu, tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	18	1,21 (IC del 95%, 1,04-1,42)	En este metaanálisis no se incluyen estudios donde el comparador fuera hMG
	Tasa de aborto espontáneo	17	0,80 (IC del 95%, 0,56-1,13)	En 17 de los 18 ensayos se utilizaba concomitantemente la supresión
	Embarazo múltiple	18	0,82 (IC del 95%, 0,59-1,13)	hipofisaria inducida por agonistas de
	SHEO	15	1,36 (IC del 95%, 0,79-2,33)	GnRH en protocolo largo
	Número de folículos en día hCG	10	1,11 (IC del 95%, 0,43-2,64)	Este metaanálisis se publicó inicialmente en la Biblioteca Cochrane en 2000 (60). Después se actualizó
	Dosis medias de gonadotropina			en <i>Fertility and Sterility</i> en 2002 (64). Posteriormente, no se ha actualizado y ha sido retirado de la Biblioteca Cochrane por conflicto de intereses de los autores
	Folotropina alfa frente a FSHu en FIV	10	1,37 (IC del 95%, 1,05-1,79)	
Van Wely et al, 2003 ⁶¹	Comparación hMG frente a FSHr, tasa de embarazo en curso/nacidos vivos por mujer	4	1,27 (IC del 95%, 0,98-1,64)	En este metaanálisis sólo se incluyen estudios donde el comparador fue hMG
	Tasa de embarazo clínico por ciclo empezado		1,28 (IC del 95%, 1,00-1,64)	En 4 de los 6 ensayos se utilizaban concomitantemente agonistas de
	Tasa de abortos	4	1,18 (IC del 95%, 0,63-2,20)	GnRH en protocolo largo. En uno se utilizó el protocolo corto y en otro no hay subregulación
	Número de oocitos recogidos	4	1,20 (IC del 95%, 0,05-2,35)	En el ensayo con GnRH en
	Embarazos clínicos por mujer	4	1,76 (IC del 95%, 0,94-3,31)	protocolo corto y en el ensayo sin
	Embarazos múltiples	4	1,46 (IC del 95%, 0,98-2,16)	subregulación no hubo diferencias entre tratamientos en ninguna variable
	SHEO	4	0,64 (IC del 95%, 0,04-11,02)	Este metaanálisis ha sido criticado por falta de poder estadístico para la comparación ⁶⁷

(Continúa en la página siguiente)

Tabla 7. Metaanálisis sobre la comparación de la eficacia de las gonadotropinas. Resultados (Continuación)

<i>Autor y año de publicación</i>	<i>Análisis principal y subanálisis</i>	<i>Ensayos incluidos</i>	<i>Resultados</i>	<i>Observaciones, ensayos excluidos</i>
Al Inany et al, 2003 ⁶²	Comparación FSHr frente a FSHu, tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	20	1,07 (IC del 95%, 0,94-1,22)	En este metaanálisis se incluyen estudios donde el comparador fue cualquier gonadotropina de origen urinario, hMG y urofolitropina purificada y altamente purificada. En todos los ensayos se utilizaban concomitantemente agonistas de GnRH en protocolo largo. 15 de los ensayos estaban incluidos en el metaanálisis de Daya y Gunby ⁶⁰ , pero rechaza 3 de aquéllos. Incluye también 4 de los 6 estudios analizados por Van Wely et al ⁶¹
	Comparación FSHr frente a hMG, tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	4 (1.014 pacientes)	0,81 (IC del 95%, 0,63-1,05)	
	Comparación FSHr frente a FSHu-P, tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	5 (1.375 pacientes)	1,24 (IC del 95%, 0,98-1,58)	
	Comparación FSHr frente a FSHu-HP, tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	11 (1.971 pacientes)	1,14 (IC del 95%, 0,94-1,40)	
Al-Inany et al, 2005 ⁶³	Comparación hMG frente a FSHr, tasas de embarazo clínico por ciclo empezado	8 (2.031 ciclos)	1,18 (IC del 95%, 0,93-1,50)	En este metaanálisis sólo se incluyen estudios donde el comparador fue hMG. En todos los ensayos se utilizaban concomitantemente agonistas de GnRH en protocolo largo. De los 8 ensayos incluidos 4 ya estaban analizados en el anterior metaanálisis de Al-Inany, y 6 en el de Van Wely

Los datos de esta tabla son los realizados por los propios autores. En el metaanálisis de Daya y Gunby⁶⁰ de 2000 > 1 implica un mejor resultado para la FSH recombinante, y < 1 para el comparador, al igual que en el metaanálisis de Al-Inany et al⁶² en 2003. Por eso los resultados globales son parecidos, 1,21 (IC del 95%, 1,04-1,42) y 1,07 (IC del 95%, 0,94-1,22).

En el metaanálisis de Van Wely et al⁶¹ de 2003 y Al-Inany et al⁶³ de 2005 los autores representan las cifras en sentido contrario; > 1 implica un mejor resultado para la hMG y < 1, para la FSH recombinante. Por eso 1,27 (IC del 95%, 0,98-1,64) y 1,18 (IC del 95%, 0,93-1,50) sugieren una ventaja a favor de hMG sin llegar a ser significativa. El 1,27 (IC del 95%, 0,98-1,64) de Van-Wely et al⁶³ de 2003 es igual al 0,81 de Al-Inany et al⁶² de 2003 expresados inversamente, ya que corresponden a los mismos 4 ensayos agrupados.

FIV: fertilización in vitro; FSHr: folitropina recombinante; FSHu: folitropina de origen urinario; FSHu-HP: folitropina altamente purificada; FSHu-P: folitropina purificada; hCG: gonadotropina coriónica; hMG: gonadotropina menopáusica humana o menotropina; SHEO: síndrome de hiperestimulación ovárica.

referentes a las folitropinas urinarias (5 ensayos en FSHu-P y 11 ensayos con FSHu-HP) muestran una tendencia favorable a FSHr sin alcanzar la significación estadística (tabla 7), probablemente por que el poder estadístico de la comparación de la muestra por separado sea menor que en el metaanálisis de Daya y Gunby⁶⁰.

Los mismos autores han publicado otro metaanálisis en 2005⁶³. En este caso sólo analizan la comparación FSHr frente a hMG, incluidos sólo ciclos con

supresión hipofisaria inducida con agonistas de GnRH con protocolo largo y estudiando como parámetro principal de evaluación la tasa de embarazos en marcha o la tasa de nacidos vivos por mujer, criterios iguales a los utilizados por Van Wely et al⁶¹ en su metaanálisis. Los autores incluyen 8 ensayos clínicos con 2.031 ciclos; 6 son iguales a los incluidos por Van Wely^{39,51-54,56} y 4 son iguales a los incluidos en el anterior metaanálisis de los mismos autores^{51,52,54,56}. De manera que sólo incrementan el me-

metaanálisis en otros 2 estudios pequeños^{58,59}. Los resultados muestran de nuevo una tendencia favorable a hMG: 1,18 (IC del 95%, 0,93-1,50), sin alcanzar la significación estadística (tabla 7). En cuanto a los parámetros de evaluación secundarios, embarazos clínicos por mujer, embarazos múltiples por mujer o SHEO por mujer, tampoco se pudo demostrar diferencias entre FSHr y hMG.

Daya⁶⁸, en una publicación de 2003, señala que tiene en preparación un nuevo metaanálisis con 40 ensayos en los que analiza gonadotropinas, protocolo de regulación con agonistas de GnRH, día de transferencia del embrión y tipo de TRA. Aunque en la publicación informa de algunos resultados, no hemos podido encontrar el metaanálisis completo publicado (no aparecen referencias a este nuevo estudio en su publicación de 2004⁶⁷), por lo que no lo hemos incluido en esta revisión.

En resumen, los metaanálisis realizados corresponden básicamente a dos aproximaciones (el actualizado en 2002 por Daya y Gunby⁶⁰ y el realizado en 2003 por Al-Inany et al⁶²), buscan saber si las FSHr son mejores que las urinarias, todas (Al-Inany et al⁶²) o solo las purificadas (Daya y Gunby⁶⁰). Esta aproximación sugiere en un estudio y demuestra en el otro que la FSHr es mejor que las demás en términos de número de embarazos clínicos por ciclo empezado.

La segunda comparación importante es la que enfrenta a la hormona recombinante con la hMG^{61,63}; en este caso, los dos metaanálisis, el de Van Wely y el segundo de Al-Inany, muestran, en términos de embarazos en marcha o tasa de nacidos vivos por mujer, una tendencia no estadísticamente significativa favorable a la hMG, por lo que no se puede concluir que sea mejor que la FSHr.

Quizás, después de tanto esfuerzo, las conclusiones puedan parecer pobres, probablemente porque las diferencias sean, si existen, pequeñas. Aunque hay otra forma de ver las cosas, los ensayos han demostrado que todas las folitropinas disponibles son eficaces, que nunca las urinarias o la hMG, solas o en combinación, han demostrado ser más eficaces que la FSHr, mientras que, por el contrario, las recombinantes sí han mostrado ser más eficaces que las urinarias purificadas agrupadas.

Los ensayos y los metaanálisis revisados también nos pueden dar información sobre algunos aspectos de seguridad. El SHEA es la complicación más im-

portante de la estimulación ovárica en la infertilidad o en procesos de concepción asistida. El desarrollo de un SHEO es imprevisible, pero se entiende que la juventud de la paciente, la exposición a LH/hCG, los protocolos con agonistas de GnRH, el desarrollo de folículos múltiples o la presencia de ovarios poliquísticos actúan como factores de riesgo.

La tasa de SHEO en FIV oscila entre 1-10%, y es mayor cuando se combinan gonadotropina y agonistas GnRH. Pueden ocurrir casos graves hasta en un 0,25-2% de los ciclos de FIV⁷¹. Pues bien, en ninguno de los metaanálisis comentados se ha podido demostrar diferencias en cuanto a la frecuencia de aparición de SHEO entre las FSH utilizadas.

En algunos estudios las pacientes se han quejado de diversos efectos adversos (dolor abdominal, náuseas, vómitos y cefalea), probablemente en relación con el aumento de estrógenos circulantes. Otro efecto adverso frecuente es el dolor o las molestias en el lugar de la inyección de FSH.

En este sentido, hay algunos estudios en que se demuestra que la folitropina alfa se asocia menos frecuentemente a reacciones locales que otras folitropinas⁷²; igualmente hay datos que sugieren que la folitropina alfa origina menos quemazón o dolor que la folitropina beta^{73,74}, y menos aún si se trata de folitropina alfa dosificada según masa⁷⁵.

Una última pieza del rompecabezas puede ser la aproximación farmacoeconómica. Hay dos características que definen la evaluación económica: una es la medida de los costes y de las consecuencias de la actividad desarrollada y la otra tiene que ver con el objetivo de cualquier evaluación: la elección⁷⁶. Obviamente, no es necesario hacer muchas aproximaciones farmacoeconómicas cuando el medicamento o procedimiento en estudio es el más eficaz y a la vez el más barato, o al revés, el más caro y menos eficaz; en ambas situaciones la decisión es clara. El problema aparece cuando el medicamento más caro es a la vez el más eficaz; como es habitual, en este caso el objetivo es determinar si esos costes añadidos se compensan con la consecución de más objetivos. Estos objetivos pueden ser de eficacia en la práctica real, y entonces llamamos a estos análisis estudios de coste-efectividad, o con objetivos de utilidad, y los llamamos estudios de coste-utilidad.

Este tipo de aproximaciones no es fácil, ya que exige tener bien establecida la eficacia comparativa, así como todos los costes involucrados. En este ca-

pítulo hay que señalar que en los estudios farmacoeconómicos hay que prestar atención, y no siempre se hace, a diferentes tipos de costes, costes directos, costes indirectos y costes intangibles. Son costes directos médicos y no médicos los costes de la medicación, por ejemplo, las gonadotropinas en las TRA y los de cada uno de los procesos médicos involucrados, por ejemplo la obtención de óvulos, la congelación o la implantación, pero también los costes en personal de todos los actores involucrados y el coste de recuperación de efectos adversos, por ejemplo. Son costes indirectos aquellos que derivan de la enfermedad pero no están directamente relacionados con el procedimiento, por ejemplo los relacionados con los cambios de capacidad productiva y la mengua en los ingresos económicos de la baja laboral. Los costes intangibles son aún más difíciles establecer; por ejemplo, es un coste intangible el dolor por la pérdida de un embarazo. En la práctica, muchos de estos datos son difíciles de establecer, de manera que en la mayoría de los ensayos clínicos hay pocos datos de evaluación de costes.

En los estudios comparativos entre gonadotropinas y en los metaanálisis publicados en este tema apenas se informa de otra cosa que no sea el consumo total de gonadotropinas o el número medio de ciclos utilizados^{33,36,37,46,48,49,61-63,66}. Es, por tanto, frecuente que los estudios farmacoeconómicos publicados se limiten a considerar la eficacia a partir de datos de un estudio, generalmente pequeño, o de un metaanálisis, y los datos económicos de los gastos médicos directos (costes de pruebas, exploraciones o procedimientos) de tablas estándar publicadas por instituciones o sistemas de salud. En el caso de los tratamientos para la infertilidad, existen además muchas más variables que se deben considerar, como el número de ciclos de estimulación ovárica, y diversas consecuencias o desenlaces después de cada procedimiento, por ejemplo, la transferencia de embriones frescos o congelados, la ausencia/presencia de fecundación, el embarazo/no embarazo, la aparición/no aparición de un SHEO y el aborto/no aborto. Para analizar todas estas variables, se ha venido utilizando un modelo computarizado, basado en un modelo de Markov⁷⁷, que considera todas estas variables, acoplado a una simulación informática que repite al azar todas las posibilidades existentes (modelo Monte-Carlo) en función de unas frecuencias preestablecidas^{78,79} y que nos proporciona al final

una estimación de los costes finales totales de acuerdo con las tasas de eficacia demostradas en los ensayos o en los metaanálisis.

En la literatura científica se pueden encontrar publicaciones que han utilizado esta aproximación para realizar estimaciones de coste-efectividad en diversos países y situaciones. Todas ellas utilizan como fuente de datos para establecer la eficacia y la cantidad de gonadotropinas utilizadas el metaanálisis de Daya y Gunby⁶⁰, en el que la FSHr se demuestra superior a las FSH urinarias purificadas combinadas, extrayendo los datos de costes de procedimientos y las probabilidades de las distintas evoluciones posibles de fuentes locales. De esta manera, diversos estudios, uno británico⁸⁰, uno italiano⁸¹, otro griego⁸², uno norteamericano⁸³ y dos españoles^{79,84}, concluyen que la FSHr es más coste-efectiva que las FSH urinarias purificadas.

Recientemente se ha publicado otro análisis de coste-efectividad con datos de un país en desarrollo donde, siguiendo el mismo modelo computarizado de Markov y el mismo proceso de análisis de las diversas posibilidades de evolución en las mujeres en programa de fertilización in vitro, se ha comparado el coste de la FSHr con la hMG. Los datos de eficacia y consumo de gonadotropinas se han tomado del metaanálisis de Al-Inany et al⁶³, que no demostraba diferencias entre ambas gonadotropinas. En Egipto, la diferencia en costes farmacéuticos entre ambas preparaciones de FSH es muy importante, por lo que el análisis concluye que a igualdad de eficacia la hMG es más coste-efectiva⁸⁵.

CONCLUSIONES

1. Las FSH de origen recombinante presentan ventajas sobre las otras hormonas presentes en el mercado de índole técnica, tienen mayor pureza, mayor actividad específica y gran homogeneidad entre lotes. En el caso de la folitropina alfa, como consecuencia de su dosificación en base a masa, se puede alcanzar un mejor ajuste de dosis, y quizás, por su mayor homogeneidad, mejor tolerancia local.

2. Todas las folitropinas presentes en el mercado son seguras. Nunca ha habido casos de transmisión de enfermedades infecciosas por la utilización de FSH presentes en el mercado. Ahora bien, el proceso de fabricación de las hormonas recombinantes

está regulado de tal manera que se puede garantizar absolutamente cada proceso desde el principio hasta el final. Las FSH de origen urinario se obtienen por procesos regulados y garantizados, pero no se puede asegurar la trazabilidad de la muestra inicial, por lo que siempre quedará la duda sobre la salud de las donantes.

3. Los ensayos clínicos han demostrado que todas las folitropinas disponibles son eficaces, aunque nunca las de origen urinario o la hMG, solas o en combinación, han demostrado ser más eficaces que la recombinante. Por el contrario, las recombinantes sí han mostrado ser más eficaces en un metaanálisis que las urinarias purificadas agrupadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kobayashi M, Nakano R, Ooshima A. Immunohistochemical localization of pituitary gonadotrophins and gonadal steroids confirms the 'two-cell, two-gonadotrophin' hypothesis of steroidogenesis in the human ovary. *J Endocrinol.* 1990;126:483-8.
2. Schoot DC, Harlin J, Shoham Z, Mannaerts BM, Lahlou N, Bouchard P, et al. Recombinant human follicle-stimulating hormone and ovarian response in gonadotrophin-deficient women. *Hum Reprod.* 1994;9:1237-42.
3. Balasch J, Miro F, Burzaco I, Casamitjana R, Civico S, Ballesca JL, et al. The role of luteinizing hormone in human follicle development and oocyte fertility: Evidence from in-vitro fertilization in a woman with long-standing hypogonadotrophic hypogonadism and using recombinant human follicle stimulating hormone. *Hum Reprod.* 1995;10:1678-8.
4. Chappel SC, Howles C. Reevaluation of the roles of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the ovulatory process. *Hum Reprod.* 1991;6:1206-12.
5. Bruna Catalán I, Pérez Milán F, Tur Padró R, Ricciarelli E, De la Fuente Hernández A, Monzó Miralles A, et al. Embarazo múltiple derivado de FIV-ICSI en España: Incidencia y criterios sobre la transferencia embrionaria. *Revista Iberoamericana de Fertilidad.* 2005;22:99-110.
6. Thotakura NR, Blithe DL. Glycoprotein hormones: glycobiochemistry of gonadotropins, thyrotropin and free α subunit. *Glycobiology.* 1995;5:3-10.
7. Stanton PG, Robertson DM, Burgon PG, Schmauk-White B, Hearn MTW. Isolation and physicochemical characterization of human follicle-stimulating hormone isoforms. *Endocrinology.* 1992;139:2820-32.
8. Giudice E, Crisci C, Altarocca V, O'Brien M. Characterisation of a partially purified human menopausal gonadotropin preparation. *J Clin Res.* 2001;4: 27-33.
9. Giudice E, Crisci C, Eshkol A, Papoian R. Composition of commercial gonadotropin preparations extracted from human postmenopausal urine: characterization of non-gonadotropin proteins. *Hum Reprod.* 1994;9:2291-9.
10. Bagatti C, Crisci C, Datola A, Gostoli G, Mascia M, Polletta T, et al. Characterisation and comparison of recombinant human follicle-stimulating hormones. *J Clin Res.* 2001;4:91-104.
11. Driebergen A, Bassett R, Baer G, et al. Improvements in quantification of r-hFSH activity: SE-HPLC versus the in vivo rat bioassay. [Abstract 480]. European Society for Human Reproduction and Embryology (EHSRE). Vienna, Austria; 2002.
12. Bassett R, Driebergen A. Continued improvements in the quality and consistency of follitropin alfa, recombinant human FSH. *Reprod Biomed Online.* 2005;10:169-77.
13. Horsman G, Talbot JA, McLoughlin JD. A biological, immunological and physico-chemical comparison of the current clinical batches of the recombinant FSH preparations Gonal-F and Puregon. *Hum Reprod.* 2000;15:1891-902.
14. Reichl H, Balen A, Jansen CAM. Prion transmission in blood and urine: what are the implications for recombinant and urinary-derived gonadotrophins? *Hum Reprod.* 2002;17:2501-8.
15. Shaked GM, Shaked Y, Kariv-Inbal Z, Halimi M, Avraham I, Gabizon R. A protease resistant prion protein isoform is present in urine of animals and humans affected with prion diseases. *J Biol Chem.* 2001;276:31479-82.
16. Serban A, Legname G, Hansen K, Kovaleva N, Prusiner SB. Immunoglobulins in urine of hamsters with scrapie. *J Biol Chem.* 2004;279:48817-20.
17. Seeger H, Heikenwalder M, Zeller N, Kranich J, Schwartz P, Gaspert A, et al. Coincident scrapie infection and nephritis lead to urinary prion excretion. *Science.* 2005;310:324-6.
18. CPMP. Position statement on Creutzfeldt-Jakob disease and plasma-derived and urine-derived medicinal products. EMEA/CPMP/BWP/2879/02. London, February 2003.
19. WHO. Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies. Geneva: World Health Organization; 2006.
20. EMEA 2001. Note for guidance on minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy agents via human and veterinary medicinal products. February 2001, Emea 401/01.

21. Deveau I, Daba R, Sutton S. The USP perspective to minimize the potential risk of tse infectivity in bovine-derived articles used in the manufacture of medical products pharmaceutical. *Forum*. 2004;30:1911-21.
22. EMEA 2004. Guideline on the investigation of manufacturing processes for plasma-derived medicinal products with regard to vCJD risk, CPMP/BWP/CPMP/5136/03. London, 21 October 2004.
23. Lunenfeld B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Human Reprod Update*. 2004;10:453-67.
24. Balen AH, Lumholtz IB. Consensus statement on the bio-safety of urinary-derived gonadotrophins with respect to Creutzfeldt-Jakob disease. *Hum Reprod*. 2005;20:2994-9.
25. The precautionary principle. Commission of the European Communities. Brussels, 2/02/2000.
26. SCRIP. Metrodin HP withdrawn in the UK. *Scrip World Pharmaceutical News*. 2003;2824:18.
27. La Bella V, Collinge J, Pocchiari M, Piccoli F. Variant Creutzfeldt-Jakob disease in an Italian woman. *Lancet*. 2002;360:997-8.
28. Swissmedic setter. TSE risk of medicines manufactured from human urine, foreseen measures to ensure medical safety. December 15, 2003.
29. Australian Drug Evaluation Committee. Resolution 6034. ADEC Meeting 1996.
30. Food and Drug Administration. Guidance: revised preventive measures to reduce the possible risk of transmission of Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD) and variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) by blood and blood products. January 2002.
31. O'Dea L, Loumaye E, Liu H. A randomized, comparative, multicenter clinical trial of recombinant and urinary human FSH in vitro fertilization and embryo transfer (IVFET). The American Fertility Society and The Canadian Fertility and Andrology Society 1993 Annual Meeting, Program Supplement, S50-S51 [abstract O-106].
32. Hedon B, Out HJ, Hugues JN, Camier B, Cohen J, Lopes P, et al. Efficacy and safety of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) in infertile women pituitary-suppressed with triptorelin undergoing in-vitro fertilization: a prospective, randomized, assessor-blind, multicentre trial. *Hum Reprod*. 1995;10:3102-6.
33. Out HJ, Mannaerts BM, Driessen SG, Bennink HJ. A prospective, randomized, assessor-blind, multicentre study comparing recombinant and urinary follicle stimulating hormone (Puregon versus Metrodin) in in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1995;10:2534-40.
34. Recombinant Human FSH Study Group. Clinical assessment of recombinant human follicle-stimulating hormone in stimulating ovarian follicular development before in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1995;63:77-86.
35. Alvino H, Norman RJ, Matthews CD. Recombinant human follicle stimulating hormone (Gonal-F, Serono) compared to urinary follicle stimulating hormone (Metrodin) in IVF cycles: a randomised control study. Fertility Society of Australia/Australian Gynecological Endoscopy Society 1995. Annual Meeting. [Abstract FSA 46].
36. Bergh C, Howles CM, Borg K, Hamberger L, Josefsson B, Nilsson L, et al. Recombinant human follicle stimulating hormone (r-hFSH; Gonal-F) versus highly purified urinary FSH (Metrodin HP): results of a randomized comparative study in women undergoing assisted reproductive techniques. *Hum Reprod*. 1997;10: 2133-9.
37. Manassiev NA, Davies WAR, Leonard T, Pavlovich B, Philips A, Tenekedjiev K. Initial results from the comparison of recombinant FSH and urinary FSH in an IVF programme. *Hum Reprod*. 1997;12:265.
38. Gordon UD, Gordon AC, Bonnar J, Harrison RF. A randomized prospective study of the effect of LH on follicular growth and development [abstract O-108]. *Hum Reprod*. 1997;12:52.
39. Jansen CA, Van Os HC, Out HJ, Coelingh Bennink HJ. A prospective randomized clinical trial comparing recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) and human menopausal gonadotrophins (Humegon) in non-down-regulated in-vitro fertilization patients. *Hum Reprod*. 1998;13:2995-9.
40. Ferraretti AB, Gianaroli L, Magli C, Feliciani E, Gergolet M, Fortini D. Recombinant FSH versus urinary FSH in non-down regulated poorly responding patients [abstract 196]. En: Abstract book, 11th World Congress of In Vitro Fertilization and Human Reproductive Genetics. Bologna, Italy: Monduzzi; 1999.
41. Kornilov NV, Shlykova SA, Loginova JA, Tomas C, Ashorn RG. Comparison of four different gonadotropins for ovarian stimulation in IVF treatment. 11th World Congress on In Vitro Fertilization and Human Genetics. Bologna, Italy: Monduzzi: 1999.
42. Hoomans EHM, Nyboe Andersen A, Loft A, Leerentveld RA, Van Kamp AA, Zech H. A prospective, randomized clinical trial comparing 150 IU recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) and 225 IU highly purified urinary follicle stimulating hormone (Metrodin-HP) in a fixed-dose regimen in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod*. 1999;14:2442-7.
43. Berger E, Chabloz P, DeQuay N, Sann A, Walton S, Germond M, et al. An open, randomized, group-comparative bi-centre study comparing recombinant FSH Follitropin _ 150 IU and highly purified urinary FSH 225 IU as a fixed dose regimen in IVF/ICSI treatment [abstract O-112]. *Hum Reprod*. 1999;14: 61-2.
44. Ghosh S, Chattopadhyay R, Goswami S, Chakravarty BN. Recombinant FSH versus highly purified urinary FSH—our experience [abstract P197]. En: Abstract book. 11th World Congress of In Vitro Fertilization and Human Reproductive Genetics. Bologna, Italy: Monduzzi; 1999.
45. Machado MG, Borges de Souza MC, Oliveira JBA, Henriques CA, Mancebo ACA. Highly purified gonadotropin and recombinant gonadotropin: study in IVF cycles. *Gynecol Endocrinol*. 1999;13 Suppl 13:37.

46. Frydman R, Howles CM, Truong F. A double-blind, randomized study to compare recombinant human follicle stimulating hormone (FSH; Gonal-F(TM)) with highly purified urinary FSH (Metrodin(TM) HP) in women undergoing assisted reproductive techniques including intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 2000;15:520-5.
47. Franco JG Jr, Baruf RL, Coelho J, Mauri AL, Petersen CG, Garbellini E. A prospective and randomized study of ovarian stimulation for ICSI with recombinant FSH versus highly purified urinary FSH. *Gynecol Endocrinol.* 2000;14:5-10.
48. Lenton E, Soltan A, Hewitt J, Thomson A, Davies W, Ashraf N, et al. Induction of ovulation in women undergoing assisted reproductive techniques: recombinant human FSH (follitropin alpha) versus highly purified urinary FSH (urofollitropin HP). *Hum Reprod.* 2000;15:1021-7.
49. Schats R, De Sutter P, Bassil S, Kremer JAM, Tournaye H, Donnez J. Ovarian stimulation during assisted reproduction treatment: A comparison of recombinant and highly purified urinary human FSH. *Hum Reprod.* 2000;15:1691-7.
50. Serhal P, Phopong P, Ranieri DM. Comparison between human menopausal gonadotrophin and recombinant FSH for ovarian stimulation in patients undergoing in-vitro fertilization. Abstracts from the 16th Annual Meeting of ESHRE. *Hum Reprod.* 2000;15:143.
51. Gordon UD, Harrison RF, Fawzy M, Hennely B, Gordon AC. A randomized prospective assessor-blind evaluation of luteinizing hormone dosage and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2001;75:324-31.
52. Ng EHY, Lau EYL, Yeung WSB, Ho PC. HMG is as good as recombinant FSH in terms of oocyte and embryo quality: a prospective randomized trial. *Hum Reprod.* 2001;16:319-25.
53. Strehler E, Abt M, El-Danasouri I, De Santo M, Sterzik K. Impact of recombinant follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropins on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2001;75:332-6.
54. Westergaard LG, Erb K, Laursen SB, Rex S, Rasmussen PE. Human menopausal gonadotrophin versus recombinant follicle-stimulating hormone in normogonadotrophic women down-regulated with a gonadotrophin-releasing hormone agonist who were undergoing in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a prospective randomized study. *Fertil Steril.* 2001;76:543-9.
55. Germond M, De Palma R, Senn A, Inaudi P, Dessole S, De Grandi P. Recombinant versus highly purified urinary FSH to induce ovulation induction and pregnancies in women over 35 years in an IVF/ICSI programme. *Hum Reprod.* 2000;16:46-7.
56. Diedrich R. The European and Israeli Study Group on highly purified hMG versus rFSH. Efficacy and safety of highly purified menotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a randomized, comparative trial. *Fertil Steril.* 2002;78:520-8.
57. Dickey RP, Thornton M, Nichols J, Marshall DC, Fein SH, Nardi RV. Comparison of the efficacy and safety of a highly purified human follicle-stimulating hormone (Bravelle) and recombinant follitropin-b for in vitro fertilization: a prospective, randomized study. *Fertil Steril.* 2002;77:1202-8.
58. Kilani Z, Dakkak A, Ghunaim S, Cognigni GE, Tabarelli C, Parmegiani L, et al. A prospective, randomized, controlled trial comparing highly purified hMG with recombinant FSH in women undergoing ICSI: ovarian response and clinical outcomes. *Hum Reprod.* 2003;18:1194-9.
59. Balasch J, Penarrubia J, Fabregues F, Vidal E, Casamitjana R, Manau D, et al. Ovarian responses to recombinant FSH or HMG in normogonadotrophic women following pituitary desensitization by a depot GnRH agonist for assisted reproduction. *Reprod Biomed Online.* 2003;7:35-42.
60. Daya S, Gunby J. Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(4):CD002810.
61. Van Wely M, Westergaard LG, Bossuyt PM, Van der Veen F. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(1):CD003973.
62. Al-Inany H, Aboulghar M, Mansour R, Serour G. Meta-analysis of recombinant versus urinary-derived FSH: an update. *Human Reprod.* 2003;18:305-13.
63. Al-Inany H, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Ovulation induction in the new millennium: recombinant follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin. *Gynecol Endocrinol.* 2005;20:161-9.
64. Daya S, Gunby J, Hughes EG, Collins JA, Sagle MA. FSH versus hMG for IVF cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 1995;64:347-54.
65. Agrawal R, Holmes J, Jacobs HS. Follicle-stimulating hormone or hMG for ovarian stimulation in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2000;73:338-43.
66. Daya S. Updated meta-analysis of recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Fertil Steril.* 2002;77:711-4.
67. Daya S. Follicle-stimulating hormone in clinical practice. An Update. *Treat Endocrinol.* 2004;3:161-71.
68. Daya S. Methodologic pitfalls in assessing the efficacy of recombinant follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin in assisted reproduction. *Fertil Steril.* 2003;80:1100-4.
69. Fleming R, Lloyd F, Herbert M, Fenwick J, Griffiths T, Murdoch A. Effects of profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation on follicular activity, oocyte and embryo function in cycles stimulated with purified follicle stimulating hormone. *Human Reprod.* 1998;13:1788-92.
70. Filicori M. The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction. *Fertil Steril.* 1999;71:405-14.
71. Balen AH. The current understanding of polycystic ovary syndrome. *The Obstetrician and Gynaecologist.* 2004;6:66-74.
72. Sargeant S. A study to evaluate the ease of use and tolerability by patients of gonadotropins old and new. *British Fertility*

- Society Annual Meeting. bstract PO22]. Sheffield, United Kingdom, 1998.
73. Brindsen P, Akagbosu F, Gibbons L, Lancaster S, Gourdon D, Engroud P, et al. Gonal-F® versus Puregon®: Results of a randomized, assessor-blind, comparative study in women undergoing assisted reproductive technologies (ART). [Abstract O-114]. ESHRE Annual General Meeting, 1998.
74. Afnan MA, Kennefick A. Recombinant gonadotropins: is there a difference in the tolerability of these products? British Fertility Society Annual General Meeting, 1998.
75. Wikland M, Borg K, Decosterd G, Saunder H, Bergson E, Lass A. A new formulation of Gonal-F® filled by mass is significantly better tolerated than Puregon® liquid in patients undergoing ovarian stimulation for ART. [Abstract 148]. 12th World Congress on In Vitro Fertilization and Molecular Reproduction. Buenos Aires, Argentina, 16-9 March 2002.
76. Drummond MF, Stoddart GL, Torrance GW. Methods for the economic evaluation of health care programs. 2nd ed. Oxford: University Press: 1997.
77. Briggs A, Sculper M. An introduction to Markov modelling for economic evaluation. *Pharmacoeconomics*. 1998;13:397-409.
78. Doubilet P, Begg CB, Weinstein MC, Braun P, McNeil BJ. Probabilistic sensitivity analysis using Monte Carlo simulation. A practical approach. *Med Decis Making*. 1985;5:157-77.
79. Barri PN, Balasch J, Romeu A, Ruiz Balda JA, Dayas S, Aurdy JL, et al. Cost-effectiveness of recombinant and urinary follicle-stimulating hormone in assisted reproduction techniques in the private health sector in Spain. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*. 2002;19:195-202.
80. Daya S, Ledger W, Auray JP, Duru G, Silverberg K, Wiklans M, et al. Cost-effectiveness modelling of recombinant FSH versus urinary FSH in assisted reproduction techniques in the UK. *Hum Reprod*. 2001;16:2563-9.
81. Mantovani G, Belisari A, Szucs TD. Pharmacoeconomic aspects of in vitro fertilization in Italy. *Hum Reprod*. 1999;14:953-8.
82. Van Loon J, Liaropoulos L, Mousiama T. Economic evaluation of a recombinant follicle-stimulating hormone (follicle-stimulating hormone, Puregon) in infertile women undergoing in vitro fertilization in Greece. *Clin Drug Invest*. 2000;19:201-11.
83. Silverberg K, Daya S, Auray JP, Duru G, Ledger W, Wikland M, et al. Analysis of the cost effectiveness of recombinant versus urinary follicle-stimulating hormone in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection programs in the United States. *Fertil Steril*. 2002;77:107-13.
84. Romeu A, Balasch J, Ruiz-Balda JA, Barri P, Daya S, Auray JP, et al. Cost-effectiveness of recombinant versus urinary follicle-stimulating hormone in assisted reproduction techniques in the Spanish public health care system. *J Assist Reprod Genet*. 2003;20:294-300.
85. Al-Inany H, Abou-Setta AM, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. HMG versus rFSH for ovulation induction in developing countries: a cost-effectiveness analysis based on the results of a recent meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2006;12:163-9.