



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Artigo original

Previsão de gravidez pós-fertilização *in vitro* de acordo com valor de β -hCG e progesterona



José Luis Metello*, Claudia Tomás, Pedro Ferreira, Sandra Ramos, Vanessa Lisboa e Pedro Sá Melo

Hospital Garcia de Orta (Cirma), Almada, Portugal

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 8 de maio de 2016

Aceito em 16 de julho de 2016

On-line em 23 de novembro de 2016

Palavras-chave:

β -hCG

Progesterona

Gravidez única

Gravidez gemelar

FIV

R E S U M O

Introdução: Múltiplos estudos sugerem que os valores de β -hCG e de progesterona podem ser bons preditores de gravidez.

Objetivo: Investigar o potencial dos valores de β -hCG e progesterona na previsão de gravidez evolutiva e de gravidez gemelar, 14 dias após punção ovocitária em ciclos FIV/ICSI, e estabelecer um modelo de previsão.

Métodos: Estudo retrospectivo de ciclos com punção e transferência de embriões a fresco entre maio/2011 e setembro/2015. Os grupos definidos foram: sem gravidez; gravidez não evolutiva; gravidez evolutiva (única ou gemelar). A análise estatística considerou $\alpha = 5\%$. Para avaliar a capacidade de prever gravidez evolutiva e gravidez gemelar recorreu-se a um modelo de análise multivariada e usou-se um processo de regressão logística binária. Recorreu-se às curvas ROC para avaliar a capacidade do valor de β -hCG e progesterona na distinção entre gravidez não evolutiva e evolutiva.

Resultados: Verificaram-se 149 casos: sem gravidez 11,4%, gravidez não evolutiva 24,8%, gravidez evolutiva 63,8% (83 única, 12 gemelares). Com exceção dos valores de progesterona e β -hCG, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as variáveis do grupo gravidez não evolutiva e evolutiva (β -HCG: 38,9 vs 159 UI/L; progesterona: 20,4 vs 60 ng/mL). Na comparação entre gravidez única e gemelar, apenas o valor de β -hCG foi estatisticamente significativo (β -HCG: 147 vs 331 UI/L). Quando o valor de progesterona é ≥ 25 , a probabilidade de gravidez é 5,4 vezes superior (IC95%, 1,18-24,8). Na regressão logística para gravidez gemelar apenas o valor de β -hCG foi estatisticamente significativo.

Conclusão: Uma avaliação única de progesterona e β -hCG, 14 dias após punção, tem um bom valor preditivo de gravidez evolutiva, porém com capacidade limitada para discriminar entre gravidez única e gemelar.

© 2016 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondência.

E-mail: jmetello@gmail.com (J.L. Metello).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2016.07.002>

1413-2087/© 2016 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Prediction of pregnancy after in vitro fertilization according β -hCG and progesterone levels

A B S T R A C T

Keywords:

β -hCG

Progesterone

Single pregnancy

Twin pregnancy

IVF

Introduction: Multiple studies suggest that the amount of β -hCG and progesterone can be good predictors of pregnancy.

Objective: To investigate the potential of β -hCG and progesterone values in predicting evolutive pregnancy and twin pregnancy, 14 days after oocyte puncture in IVF/ICSI cycles, establishing a predictive model.

Methods: A retrospective study of cycles with the use of a puncture and fresh embryo transfer between May/2011 and September/2015. The defined groups were: with no pregnancy; without evolutive pregnancy; and with evolutive (single or twin) pregnancy. Statistical analysis considered $\alpha=5\%$. To assess the ability to predict evolutive pregnancy and twin pregnancy, a multivariate analysis model was carried out, with the use of a binary logistic regression process. ROC curves were used to evaluate the ability of β -hCG and progesterone values in differentiating between non-evolutive and evolutive pregnancy.

Results: 149 cases were found: no pregnancy 11.4%, without evolutive pregnancy 24.8%, with evolutive pregnancy 63.8% (83 single, 12 twins). Excluding progesterone and β -hCG values, there were no statistically significant differences between the variables of non-evolutive and evolutive pregnancy groups (β -HCG: 38.9 vs. 159 IU/L, progesterone: 20.4 vs. 60 ng/mL). In a comparison between single and twin pregnancies, only the amount of β -hCG was statistically significant (β -HCG: 147 vs. 331 IU/L). When progesterone value is >25 , the probability of pregnancy is 5.4 times greater (95% CI, 1.18-24.8). In a logistic regression for twin pregnancies, only β -hCG value was statistically significant.

Conclusion: A single assessment of progesterone and β -hCG values 14 days after the puncture has a good predictive value of evolutive pregnancy, but with limited ability to discriminate between single and twin pregnancies.

© 2016 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

A hCG é uma proteína hormonal produzida pelo sinciciotrofoblasto e tem como função estimular o corpo lúteo para a produção de progesterona, por meio de receptores LH. Essa proteína é formada por duas subunidades: α e β , mas apenas a última é específica dessa proteína. Os valores de β -hCG começam a ser observados cerca de oito dias após o pico de LH.^{1,2} Após um crescimento rápido, as concentrações médias no plasma duplicam a cada 1,3 a 2 dias, até atingir entre 50 e 250 UI/L na altura em que falha o primeiro período menstrual.

Após uma transferência a fresco num ciclo FIV/ICSI, o primeiro resultado a ser obtido é habitualmente o valor de β -hCG, 14 dias após a punção. Frequentemente é pedida nova análise 48 h depois ou agendado um controle ecográfico duas semanas após um valor de β -hCG positivo.

Como opção, alguns estudos sugerem que a medição da progesterona numa fase precoce da gravidez será também um bom preditor de gravidez em concepções naturais.³ A progesterona é essencial para a manutenção do desenvolvimento do trofoblasto nas primeiras sete a oito semanas de gravidez.^{4,5} No global, um valor $> 20,7$ ng/mL poderá ser tranquilizador, enquanto um valor $< 12,5$ ng/mL está fortemente associado a um desfecho negativo.⁶ Esses valores foram derivados de gravidezes espontâneas e não deverão ser extrapolados para ciclos de FIV/ICSI. Nesses, não é clara a influência do

tratamento com agonistas ou antagonistas da GnRH na produção de progesterona pelo corpo lúteo, nem o efeito de múltiplos corpos lúteos, mesmo em gravidezes não viáveis. Importante ainda é o suporte que é dado com progesterona exógena.

O papel da avaliação de ambas as hormonas num contexto FIV/ICSI já foi também objeto de análise, com resultados díspares.

Para explorar a relação entre as diversas variáveis explicativas e uma variável resposta poder-se-á recorrer a modelos de regressão. Um modelo particularmente útil para esse tipo de análise é o modelo de regressão logística binária, no qual a variável resposta é dicotomizada em 0 e 1. Por meio dessa técnica é possível modelar uma variável resposta a partir de um conjunto de variáveis explicativas, sejam elas numéricas ou categóricas.

Objetivo

Investigar o potencial de uma avaliação precoce dos valores de β -hCG e de progesterona na previsão de gravidez evolutiva (embrião com batimentos cardíacos) e de gravidez gemelar, 14 dias após punção ovocitária, e estabelecendo um modelo de previsão com base numa regressão logística binária. Pretende-se ainda avaliar a relação existente entre o valor de β -hCG e de progesterona.

Métodos

Estudo retrospectivo de todos os ciclos feitos no CIRMA (Centro de Infertilidade e Procriação Medicamente Assistida) entre maio de 2011 e setembro de 2015. Foram incluídos todos os ciclos que fizeram punção e transferência a fresco de embriões. Os dados foram recolhidos da base de dados de todos os ciclos feitos no Centro.

As variáveis incluídas para análise foram: idade, dose de gonadotrofinas total usada, número de dias de estimulação, tipo de bloqueio hipofisário, tipo de maturação ovocitária, valor de estradiol no dia da maturação ovocitária, número de ovócitos obtido, número de embriões obtidos, número de embriões transferidos, dia da transferência, valor de β -hCG e de progesterona, 14 dias após a punção ovocitária.

Os grupos foram definidos como: sem gravidez, se teste negativo quando o valor de β -HCG < 5 UI/L; gravidez evolutiva se ecografia com embrião com batimentos cardíacos ou não evolutiva se esses não se verificaram. Foram incluídas apenas as mulheres que fizeram avaliação simultânea de β -hCG e de progesterona na unidade.

Tratamentos e dosagens hormonais

Foram feitos dois tipos-padrão de protocolo de estimulação: protocolo longo com bloqueio hipofisário com agonistas iniciados no meio da fase lútea do ciclo prévio à estimulação ou protocolo curto com antagonistas da GnRH iniciado no 6º dia da estimulação com gonadotrofinas. Em ambos os protocolos a estimulação foi feita com gonadotrofinas urinárias purificadas (Menopur®) ou sintéticas (Gonal® e Puregon®). Quando pelo menos três folículos tinham ≥ 17 mm foi desencadeada a maturação ovocitária com 5.000 ou 10.000 UI de gonadotrofina coriônica humana (Pregnyl®), conforme o peso da mulher fosse inferior ou superior a 70 kg, respectivamente. Cerca de 35-37 h após, a recolha ovocitária foi feita sob controle ecográfico transvaginal. Esse dia foi designado como 0. A fertilização dos embriões foi feita por FIV ou ICSI e foram transferidos um ou dois embriões, dois ou três dias após a punção. Todos os ciclos foram suplementados com progesterona vaginal 600 mg/dia repartidos em três tomas (Progefikk®), até ao dia do teste – dia 14 pós-punção. Mulheres com valor de β -hCG inferior a 5,0 IU/L tiveram alta, todas as outras foram seguidas com ecografia 14-21 dias após teste positivo, mantendo-se a dose de progesterona vaginal.

Os doseamentos hormonais foram efetuados em amostra de soro. Em ambos os parâmetros foi usada a metodologia de eletroquimioluminescência (Eclia) e usou-se o equipamento Modular EVO (E170) Roche Diagnostics®. O método de doseamento da β -HCG baseou-se em reação imunológica tipo sanduíche e o da progesterona em reação imunológica competitiva.

Análise estatística

Os dados foram analisados com o software SPSS. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Para avaliar se a amostra foi retirada de uma população com distribuição normal usou-se o teste de Shapiro-Wilk. Para testar igualdade de medianas entre variáveis contínuas, usou-se o teste de igualdade de medianas de Mann-Whitney. Para avaliar a associação entre variáveis qualitativas, usou-se o teste do qui-quadrado. Para avaliar a capacidade de prever gravidez evolutiva e gemelar recorreu-se a um modelo de análise multivariada que incluiu todas as variáveis descritas e usou-se um processo de regressão logística binária para avaliar a capacidade de previsão de detecção precoce de uma gravidez evolutiva. Tendo em conta a distribuição dos valores da variável contínua progesterona essa foi subclassificada em duas e teve como valor de corte 25 ng/dL. A qualidade do ajustamento foi avaliada pelo teste de Hosmer-Lemeshow. Recorreu-se às curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) para avaliar a capacidade do valor de β -hCG e de progesterona para distinguir entre gravidez evolutiva e não evolutiva.

Os valores sugeridos de corte para prever a viabilidade de uma gravidez foram derivados dessa curva. Para determinar o valor preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN) dos testes recorreu-se à fórmula baseada no teorema de Bayes.

A correlação entre o valor de progesterona e de β -hCG e foi determinada por meio do teste de correlação de Spearman.

Resultados

Estatística descritiva

Dos 149 casos registados, verificou-se gravidez em 89,7%. Das gravidezes obtidas, 20% foram bioquímicas (27), 7,6% (10) foram clínicas e 64,9% (95) foram evolutivas. Entre as gravidezes evolutivas 12,6% foram gêmeares (12).

Foram analisados todos os casos com gravidez positiva, que foram separados em dois grupos: gravidez não evolutiva ($n = 37$) e gravidez evolutiva ($n = 95$).

Comparação de variáveis contínuas

A variáveis contínuas analisadas foram: idade, dose total de medicação, nº de dias de estimulação, valor de estradiol, nº de ovócitos obtidos, nº de embriões obtidos, valor de β -hCG e de progesterona.

Com exceção dos valores de progesterona e β -hCG, para uma $p < 0,05$, não se pode afirmar que há diferenças estatisticamente significativas entre as variáveis do grupo gravidez evolutiva e gravidez não evolutiva. Dentro do grupo gravidez evolutiva compararam-se gravidez gemelar com gravidez única. Com exceção dos valores de β -hCG e nº de ovócitos, para uma $p < 0,05$ não se pode afirmar que há diferenças estatisticamente significativas entre as variáveis do grupo gravidez evolutiva única e gemelar.

A análise da [tabela 1](#) e da [figura 1A](#) e [B](#) parece mostrar que as variáveis idade, dose total de medicação, nº de dias de estimulação, valor de estradiol, nº de ovócitos obtidos e nº de embriões obtidos têm uma distribuição semelhante, o que não acontece com o valor de β -hCG e de progesterona. Nesse último caso verifica-se um valor aumentado nos casos de gravidez evolutiva.

Tabela 1 – Estatística descritiva das variáveis contínuas que compara gravidez evolutiva com não evolutiva e gravidez única com gravidez gemelar

	Gravidez não evolutiva (n = 37)			Gravidez evolutiva (n = 95)			Valor de p	Gravidez única (n = 83)			Gravidez gemelar (n = 12)			Valor de p
	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana		Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	
Idade	32,9	3,9	34	33,8	3,3	34	0,296	33,6	3,3	34	35,1	3,1	35,5	0,103
Dose total	1884,5	1095,9	1500	1712,4	745,3	1425	0,513	1735,8	770,9	1425	1550	532,6	1425	0,514
Dias de estimulação	9,5	2,1	9	9	1,4	9	0,357	9,1	1,5	9	8,3	1,2	8	0,104
Estradiol E2	1286	512	1203	1412,8	809,7	1333,5	0,456	1422,1	859,2	1334	1348,4	306,3	1332	0,728
Ovócitos	8,2	4,5	7	8,3	4,1	8	0,601	8,7	4,2	8	6,2	2	6	0,041
Nº embriões obtidos	4,7	2,9	3	5,3	2,9	5	0,063	5,4	3	5	4,2	1,2	4	0,213
HCG	46,7	38,3	38,9	184,6	105	159	< 0,001	163,4	84,2	147,8	331,2	120,4	331,7	< 0,001
Progesterona	25,5	19,4	20,4	80,9	62,7	60	< 0,001	81,3	65,7	57,3	77,8	38,2	62,1	0,545
DP, desvio padrão.														

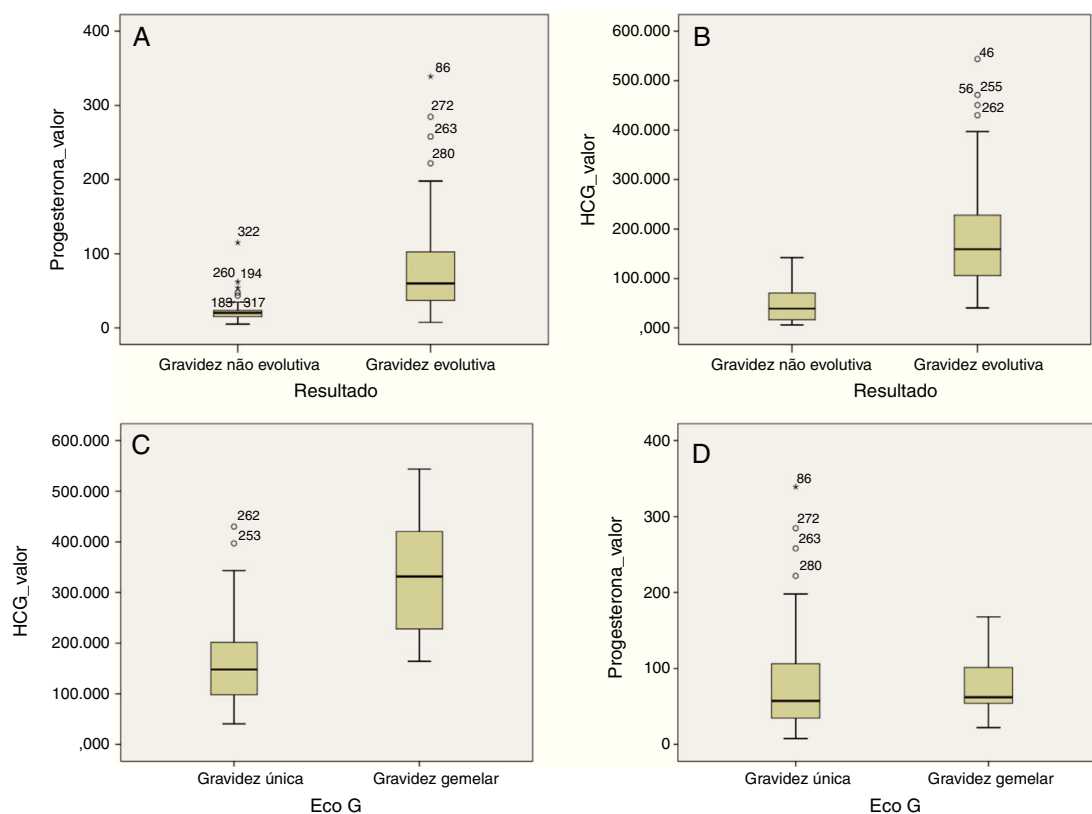


Figura 1 – Box-plot referentes aos valores de β -hCG e progesterona que comparam gravidez evolutiva com gravidez não evolutiva (A e B) e gravidez única com gravidez gemelar (C e D).

Relativamente ao valor de β -hCG, o menor valor encontrado numa gravidez evolutiva foi de 40 UI/L, enquanto o maior valor encontrado para gravidez não evolutiva foi de 142 UI/L. No entanto, enquanto a média para o primeiro foi de 184 UI/L (mediana de 159 UI/L), a do segundo foi de 46 UI/L (mediana 38,9 UI/L). Quanto ao valor de progesterona, o menor valor encontrado numa gravidez evolutiva foi de 8 ng/dL, enquanto que o maior valor encontrado para gravidez não evolutiva foi de 115 ng/dL. Por outro lado, enquanto a média para o primeiro foi de 80,9 ng/dL (mediana de 60 ng/dL), a do segundo foi de 25,5 ng/dL (mediana 20,4 ng/dL).

Os box-plot relativos à figura 1C e D permitem uma comparação direta dos valores de β -hCG e progesterona entre esses grupos. Parece verificar-se uma diferença entre a distribuição dos valores de β -hCG entre gravidezes evolutivas únicas e gemelares, mas não para os valores de progesterona. O valor médio de β -hCG foi de 163 UI/L, no primeiro caso comparativamente com 331 UI/L no caso das gravidezes gemelares. Já o valor médio relativo ao doseamento de progesterona foi semelhante, 81,3 ng/dL no primeiro caso contra 77,8 no segundo.

As variáveis categóricas analisadas foram: n° de embriões transferidos (1, 2 ou 3), maturação ovocitária (β -hCG 5.000 UI, 10.000 UI, Decapeptyl® ou outro), dia da transferência (2 ou 3) e tipo de bloqueio hipofisário (antagonista ou agonista). De acordo com os resultados obtidos, para $\alpha=5\%$, não se pode afirmar que há diferenças estatisticamente significativas entre as variáveis dos grupos gravidez evolutiva e gravidez

não evolutiva (tabela 2). Os resultados foram semelhantes na comparação entre gravidez única e gemelar.

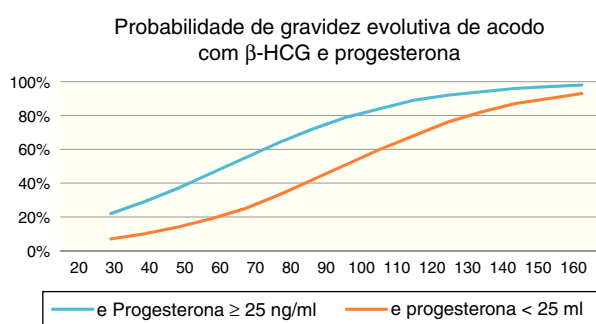
Estimativa de um modelo de análise multivariada para determinação de gravidez evolutiva

Gravidez vs não gravidez

Para avaliar a probabilidade de gravidez evolutiva de acordo com o valor de β -hCG e de progesterona foi feita uma regressão logística binária. O valor de β -hCG foi estatisticamente significativo para $p < 0,001$. Todos os outros valores apresentaram um $p > 0,05$, pelo que podemos concluir que apenas o valor de β -hCG tem uma associação estatisticamente significativa com a probabilidade de gravidez evolutiva. O valor do teste de Hosmer e Lemeshow apresenta $p = 0,983$, sugere um bom ajuste. Uma vez que o valor da variável contínua progesterona roçou a significância, subclassificaram-se em dois grupos com o valor de corte de 25 ng/dL. Foi feita nova regressão logística e verificou-se que o valor de β -hCG foi estatisticamente significativo para $p < 0,001$. O valor da variável progesterona categorizada apresentou um $p = 0,029$, também estatisticamente significativo considerando $p < 0,05$. Quando o valor de progesterona ≥ 25 , a probabilidade de gravidez é 5,4 vezes superior (IC95%, 1,18-24,8). O teste de Hosmer e Lemeshow apresenta um valor de $p = 0,903$, sugere um bom ajuste. Para

Tabela 2 – Estatística descritiva das variáveis categóricas

		Gravidez não evolutiva (n=37)		Gravidez evolutiva (n=95)			Gravidez única (n=83)		Gravidez gemelar (n=12)		
Maturação ovocitária	HCG-5000	28	76%	80	84%	0,479	69	83%	11	92%	0,734
	HCG-10000	8	22%	14	15%		13	16%	1	8%	
	Decapeptyl®	1	3%	1	1%		1	1%	0	0%	
Bloqueio hipofisários	Antagonista	35	95%	91	96%	0,088	79	95%	12	100%	0,437
	Agonista	2	5%	4	4%		4	5%	0	0%	
n° de embriões transferidos	1	15	41%	25	26%	0,242	25	30%	0	0%	0,075
	2	22	59%	69	73%		57	69%	12	100%	
	3	0	0%	1	1%		1	1%	0	0%	
Dia da transferência	2	20	54%	40	42%	0,216	35	42%	5	42%	0,974
	3	17	46%	55	58%		48	58%	7	58%	

**Figura 2 – Resultados obtidos a partir do modelo estimado.**

simplificar o modelo fez-se nova regressão, com o uso como variáveis do valor de β -HCG e de progesterona categorizada:

A probabilidade de gravidez evolutiva poderá ser calculada de acordo com a seguinte equação:

$$P = e^{-3,229 + \beta\text{-HCG} \times 0,037 + 1,294 * (1 + e^{-3,229 + \beta\text{-HCG} \times 0,037 + 1,294 *})}$$

*se progesterona ≥ 25 ng/mL, considerar o valor de 1,294; se progesterona < 25 , considerar 0.

Nesse modelo, se o valor de progesterona for ≥ 25 ng/mL o odds ratio de gravidez é 3,65 vezes maior (IC 95%: 1,07-12,41). A probabilidade de gravidez calculada é apresentada da [figura 2](#) e na [tabela 3](#).

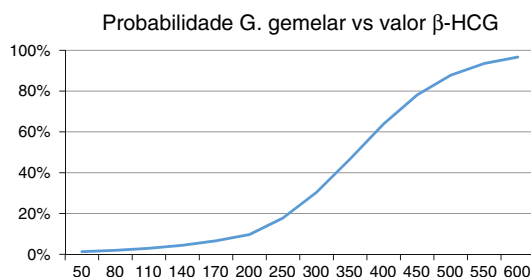
Para avaliar o valor de β -hCG e progesterona para distinguir gravidezes evolutivas de não evolutivas usaram-se curvas ROC. O valor da área sob a curva foi de 0,937 (IC95% 0,9-0,98). A variável de teste β -hCG tem muito boa

discriminação para determinar o estado gravidez evolutiva. De acordo com a curva obtida, a melhor relação sensibilidade-especificidade obtida pelo índice de Youden é dada para o valor 72% de probabilidade de gravidez (índice=0,717), obtido a partir de duas combinações possíveis: β -HCG 78 UI/L com progesterona ≥ 25 ng/mL ou β -HCG 113 UI/L com progesterona < 25 ng/mL. Para esse valor de corte obtêm-se: sensibilidade 85%, especificidade 86%, VPP 94% e VPN 70%. Para uma sensibilidade de 90%, especificidade de 78%, VPP 92% e VPN 76%, os valores obtidos serão: β -HCG 60 UI/L com progesterona ≥ 25 ng/mL ou β -HCG 95 UI/L com progesterona < 25 ng/mL.

Gravidez única vs gravidez gemelar

Para avaliar a probabilidade de gravidez evolutiva gemelar de acordo com o valor de β -hCG e de progesterona foi feita uma regressão logística binária. Apenas o valor de β -hCG foi estatisticamente significativo para $p < 0,002$. Nesse caso o valor de progesterona foi claramente não estatisticamente significativo. Procurou-se simplificar o modelo final incluindo apenas as variáveis estatisticamente significativas (β -hCG). Tendo em conta a plausibilidade da probabilidade de gravidez gemelar ser maior quando se transferem dois embriões, optou-se por colocar esse parâmetro no modelo final. O teste de Hosmer e Lemeshow apresenta um valor de $p = 0,877$, sugere um bom ajuste. Assim, a probabilidade de gravidez evolutiva gemelar poderá ser calculada de acordo com a seguinte equação:

$$P = e^{-24,4 + \beta\text{-HCG} \times 0,014 * (1 + e^{-24,4 + \beta\text{-HCG} \times 0,014 *})}$$



β -HCG (UI/L)	Probabilidade
50	1%
80	2%
110	3%
140	4%
170	7%
200	10%
250	18%
300	30%
350	47%
400	64%
450	78%
500	88%
550	94%
600	97%

Figura 3 – Probabilidade de gravidez gemelar estimada de acordo com o valor de β -hCG.

Tabela 3 – Probabilidade de gravidez estimada de acordo com o valor de β -hCG e valor de progesterona menor ou maior ou igual a 25 ng/mL

Valor de β -hCG	Progesterona $\geq$ 25 ng/mL	Progesterona < 25 mL
20	22%	7%
30	29%	10%
40	37%	14%
50	46%	19%
60	55%	25%
70	64%	33%
80	72%	42%
90	79%	51%
100	84%	60%
110	89%	68%
120	92%	76%
130	94%	82%
140	96%	87%
150	97%	90%
160	98%	93%

β -hCG, hormônio beta hCG.

*Se um embrião transferido, colocar 1,07; se dois, 19,37.

Na [figura 3](#) estão registradas as probabilidades de gravidez gemelar, de acordo com diferentes valores de β -hCG, obtidos a partir da equação referida e quando são colocados dois embriões.

Para avaliar o valor de β -hCG para distinguir gravidez gemelar de única, usaram-se as curvas ROC. O valor da área sob a curva foi de 0,942 (IC 95% 0,897-0,986). A variável de teste β -hCG tem muito boa discriminação para determinar o estado da gravidez evolutiva gemelar. Para um valor de corte de 204 UI/L com transferência de dois embriões obtêm-se: sensibilidade 92%, especificidade 88%, VPP 44% e VPN 99%. Para um VPP de 75%, o valor de β -hCG é de 414 UI/L com transferência de dois embriões (sensibilidade de 25%, especificidade de 99% e VPN 93%).

Determinação da correlação entre o valor de progesterona e de β -hCG

Para um nível de significância de 5% parece haver uma correlação positiva entre o valor de β -hCG e de progesterona. Essa correlação é moderada ($r=0,62$) quando se incluem todos os casos de gravidez, mas é fraca para os casos de gravidez evolutiva (única + gemelar) ($r=0,374$).

Discussão e conclusões

O objetivo deste trabalho foi investigar o potencial de uma avaliação precoce dos valores de β -hCG e de progesterona na previsão de gravidez evolutiva (embrião com batimentos cardíacos), 14 dias após punção ovocitária, e avaliar a possibilidade de distinguir gravidez gemelar de gravidez única.

No CIRMA habitualmente só se faz medição do valor de β -hCG. No entanto, circunstancialmente foram feitos alguns pedidos com β -hCG associado a progesterona, sobretudo nos casos em que o valor de β -hCG era superior a 5,0 UI/L. Foram somente esses ciclos que foram incluídos no estudo, 149

casos, dos quais 132 foram incluídos para análise (valor de β -hCG > 5,0 UI/L). Cerca de 28% dos casos tinham gravidez não evolutiva e 72% evolutiva. Os dois grupos foram comparados relativamente a variáveis que se consideraram importantes: idade, variáveis inerentes à estimulação (dose total de gonadotrofinas, nº de dias de estimulação, valor de estradiol obtido, tipo de bloqueio hipofisário, tipo de maturação final), variáveis inerentes ao resultado do ciclo (nº de ovócitos, nº de embriões obtidos), variáveis inerentes à transferência (dia de transferência, nº de embriões transferidos) e variáveis inerentes ao resultado final (β -hCG e progesterona).

No estudo comparativo das variáveis contínuas dos dois grupos verificaram-se diferenças estatisticamente significativas apenas para as variáveis β -hCG e progesterona, o que confirmou a impressão visual obtida pelos *box-plot*. Quando se comparou o grupo gravidez evolutiva única com o gemelar verificou-se uma diferença estatisticamente significativa para os valores de β -hCG e nº de ovócitos, mas não de progesterona. Quanto às variáveis categóricas, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre grupos.

Para avaliar a possibilidade de calcular a probabilidade de gravidez evolutiva de acordo com o valor de β -hCG e de progesterona foi feita uma regressão logística binária. Numa primeira análise, apenas o valor de β -hCG foi estatisticamente significativo para $p<0,05$. Tendo em conta o *box-plot* da variável progesterona, essa foi subclassificada em dois grupos, com o uso do valor de corte de 25 ng/mL. Com esse valor de corte, verificou-se que 75% das gravidezes não evolutivas tinham um valor inferior, enquanto o mesmo sucedia com 13% das gravidezes evolutivas. O resultado final mostrou que tanto o valor de β -hCG como a variável categorizada progesterona tinham diferenças estatisticamente significativas para $p<0,05$. Para qualquer valor de β -hCG, quando o valor de progesterona é ≥ 25 , a probabilidade de gravidez é 5,4 vezes superior (*odds ratio*). O modelo foi simplificado e a equação final obtida que permite calcular a probabilidade de gravidez evolutiva foi:

$$P = e^{-3,229 + \beta - \text{HCG} \times 0,037 + 1,294 * / (1 + e^{-3,229 + \beta - \text{HCG} \times 0,037 + 1,294 *})}$$

*Se progesterona ≥ 25 , considerar o valor de 1,294; Se progesterona < 25, considerar 0.

Para avaliar o valor de β -hCG para distinguir gravidezes evolutivas de não evolutivas usaram-se curvas ROC. A área sob a curva calculada foi 0,937, sugeriu que a variável de teste β -hCG tem muito boa discriminação para determinar o estado da gravidez evolutiva. Na análise da curva, verificou-se que a combinação de valores β -hCG 60 UI/L com progesterona ≥ 25 ng/dL ou β -HCG 95 UI/L com progesterona < 25 ng/mL tem uma sensibilidade de 90% e uma especificidade de 78% para gravidez evolutiva. Para esses valores o VPP é de 92% e o VPN é de 76%.

Para avaliar a possibilidade de calcular a probabilidade de gravidez evolutiva gemelar foi feita nova regressão logística binária e aqui apenas o valor de β -hCG foi estatisticamente significativo para $p<0,05$, com um bom ajustamento. No entanto tendo em conta a raridade de se verificarem gravidezes gêmeares quando apenas um embrião é transferido, essa variável foi colocada na equação. Assim, a probabilidade de

gravidez gemelar poderá ser calculada de acordo com a seguinte equação:

$$P = e^{-24,4+\beta-HCG \times 0,014+*} / (1 + e^{-24,4+\beta-HCG \times 0,014+*})$$

A área sob a curva ROC estimada foi de 0,942, indicadora de muito boa discriminação para determinar o estado da gravidez evolutiva gemelar. Na análise da curva concluiu-se que o valor 204 UI/L apresenta uma sensibilidade de 92% e uma especificidade de 88%. Para esses valores o VPP é de 44% e o VPN é de 99%. De destacar, no entanto, que um baixo VPP é indicador de que acima de 204 UI/L identificamos quase todas as gravidezes gemelares. No entanto, apenas 44% dos casos terão de fato uma gravidez gemelar. Para um VPP razoável, de 75%, o valor de β -hCG encontrado foi de 414 UI/L com transferência de dois embriões, com apenas 25% de sensibilidade.

O gráfico de dispersão dos valores de progesterona contra β -hCG parece mostrar uma correlação positiva entre os dois. Determinou-se a sua correlação por meio do teste de correlação de Spearman. O valor obtido, $r=0,62$, foi estatisticamente significativo, indica que existe uma correlação positiva moderada entre as duas variáveis no global, mas a correlação é fraca nos casos de gravidez evolutiva (única + gemelar), o que sugere que valores muito elevados β -hCG não implicam valores muito elevados de progesterona.

Outros estudos

Um estudo de Ioannidis et al.⁷ com 195 grávidas pós-FIV concluiu que as mulheres com gravidezes evolutivas apresentavam uma mediana de 150 UI/L comparativamente com as gravidezes não evolutivas – 41 UI/L. Os valores são semelhantes aos obtidos neste estudo, 159 e 39 UI/L. Já para a progesterona, o mesmo trabalho registra uma mediana de 22 ng/mL nas gravidezes não evolutivas semelhantes a 20,4 ng/mL neste estudo. No entanto, o valor para gravidezes evolutivas foi de 135 ng/mL contra 60 ng/mL neste trabalho. Um outro estudo, de Poikkeus,⁸ que comparou valores de β -hCG 12 dias após a transferência de embriões, registra uma mediana de 126 UI/L para gravidezes evolutivas únicas, 201 UI/L para gemelares e de 60 UI/L para não evolutivas, contra 148, 331 e 39 UI/L neste trabalho. A avaliação da progesterona não foi abordada. O trabalho de Kim⁹ com 103 pacientes usa uma combinação de β -hCG, progesterona e idade. Para gravidezes evolutivas apresenta um valor médio de β -hCG de 180 contra 185 UI/L neste estudo e no caso da progesterona 71,9 contra 62,7 ng/dL. A área sob a curva ROC foi de 0,912 contra 0,937. No que diz respeito à gravidez múltipla, Wu G et al.¹⁰ mostram diferenças entre gravidez única e gemelar, com um valor de corte de 239 IU/L (sensibilidade de 69%, especificidade de 74,5%). Comparativamente com este trabalho, o valor de corte foi de 202 UI/L, apresenta uma sensibilidade de 91% e uma especificidade de 83%.

Críticas

Como pontos fortes deste trabalho destacam-se o fato de a amostra usada ter sido recolhida de um único centro e o

tratamento a que as doentes foram submetidas, após a punção, ter sido o mesmo. Os testes laboratoriais, todos feitos 14 dias após a punção, foram os mesmos e o sangue foi processado pelo mesmo laboratório.

Como aspetos negativos refere-se que apesar de a dimensão da amostra ser considerável, um número maior, sobretudo com mais gravidezes não evolutivas e gemelares, poderia fortalecer as conclusões. Tendo em conta que a β -HCG é produzida pelo trofoblasto dos embriões implantados, não é possível excluir possíveis diferenças entre casos que transferiram um ou dois embriões, em que se verifique uma perda precoce de gravidez.

Conclusão

Uma avaliação única de progesterona e de β -hCG 14 dias após punção ovocitária na sequência de um ciclo FIV/ICSI tem um bom valor preditivo de gravidez evolutiva. Apesar dos valores de β -hCG serem significativamente maiores no caso de gravidezes gemelares, a capacidade que esta análise tem para discriminar entre gravidez única e gemelar é limitada. Não se verificaram diferenças no valor de progesterona entre gravidez única e gemelar.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Lenton EA, Neal LM, Sulaiman R. Plasma concentrations of human chorionic gonadotropin from the time of implantation until the second week of pregnancy. *Fertil Steril*. 1982;37:773-8.
2. Check JH, Weiss RM, Lurie D. Analysis of serum human chorionic gonadotrophin levels in normal singleton, multiple and abnormal pregnancies. *Hum Reprod*. 1992;7:1176-80.
3. Elson J, Salim R, Tailor A, Banerjee S, Sosmer N, Jurkovic D. Prediction of early pregnancy viability in the absence of an ultrasonically detectable embryo. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003;21:57-61.
4. Norman RJ, Buck RH, Kemp MA, Joubert SM. Impaired corpus luteum function in ectopic pregnancy cannot be explained by altered human chorionic gonadotropin. *Clin Endocrinol Metab*. 1988;66:1166-70.
5. Khan-Dawood FS, Goldsmith LT, Weiss G, Dawood MY. Human corpus luteum secretion of relaxin, oxytocin, and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;68:627-31.
6. Mol BW, Lijmer JG, Ankum WM, Van der Veen F, Bossuyt PM. The accuracy of single serum progesterone measurement in the diagnosis of ectopic pregnancy: a meta-analysis. *Hum Reprod*. 1998;13:3220-7.
7. Ioannidis G, Sacks G, Reddy N, Seyani L, Margara R, Lavery S, et al. Day 14 maternal serum progesterone levels predict pregnancy outcome in IVF/ICSI treatment cycles: a prospective study. *Hum Reprod*. 2005;20:741-6.
8. Poikkeus P, Hiilesmaa V, Tiitinen A. Serum HCG 12 days after embryo transfer in predicting pregnancy outcome. *Hum Reprod*. 2002;17:1901-5.

-
9. Kim JH, Jee BC, Suh CS, Kim SH. Nomogram to predict ongoing pregnancy using age of women and serum biomarkers after in vitro fertilization cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;172:65–9.
 10. Wu G, Yang J, Xu W, Yin T, Zou Y, Wang Y. Serum beta human chorionic gonadotropin levels on day 12 after in vitro fertilization in predicting final type of clinical pregnancy. *J Reprod Med.* 2014;59:161–6.