

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – CÂMPUS DE BOTUCATU**

**ANÁLISE DA PLOIDIA DE EMBRIÕES HUMANOS POR MEIO DA  
INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL COM O USO DE VARIÁVEIS DE  
MORFOLOGIA, MORFOCINÉTICA E VARIÁVEIS  
RELACIONADAS COM A PACIENTE**

Discente: Rebeca Colauto Milanezi de Souza

Orientador: Dr. José Celso Rocha

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Fábio Gouveia Nogueira

Botucatu/SP  
2022

**REBECA COLAUTO MILANEZI DE SOUZA**

**Análise da ploidia de embriões humanos por meio da  
Inteligência Artificial com o uso de variáveis de morfologia,  
morfocinética e variáveis relacionadas com a paciente**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociência de Botucatu (IBB) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia e Biotecnologia.

Orientador: Dr. José Celso Rocha

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Fábio Gouveia Nogueira

Botucatu  
2022

S729a

Souza, Rebeca Colauto Milanezi de

Análise da ploidia de embriões humanos por meio da Inteligência Artificial com o uso de variáveis de morfologia, morfocinética e variáveis relacionadas com a paciente / Rebeca Colauto Milanezi de Souza. -- Botucatu, 2022

114 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: José Celso Rocha

Coorientador: Marcelo Fábio Gouveia Nogueira

1. Inteligência Artificial. 2. Reprodução Humana. 3. Embrião humano. 4. Ploidia. 5. Embriologia. I. Título.

*Para Aquele que me chamou para amar,  
viver e criar.*

## AGRADECIMENTOS

Não posso começar a agradecer, sem antes de mencionar Aquele que sempre foi e é a razão de tudo isso. Jesus, tu és a razão disso tudo e a ti entrego todo este trabalho e esforço. Você sempre foi e sempre será o motivo de tudo para mim. Em todos os momentos desta minha jornada, o Senhor esteve lá, nos momentos alegres e nos momentos mais difíceis, sendo sempre meu suporte, minha fortaleza e minha herança. Obrigada por tudo e por tanto!

Agradeço também ao meu marido, André Sambugaro, que sempre me incentivou a buscar compromisso e excelência para com meu trabalho. Obrigada por todo o seu apoio, que foi essencial para a conclusão deste projeto. Você é o “cheirinho de Jesus” aqui para mim nesta Terra e me orgulho de ser sua esposa e de estar formando uma família com você, esperando neste momento nosso primeiro filho (ou filha).

Agradeço muito aos meus pais, Sérgio e Maria, por sempre terem dado todo o suporte para alcançar meus objetivos. Eles sempre mostraram a importância da educação, do conhecimento e dos estudos, e levo tudo isso para todos os meus dias e como exemplo para os meus filhos. Aos meus irmãos, Rachel e Rafael, e às minhas sobrinhas Nicole e Antonella, muito obrigada, por trazerem alegria e comicidade durante este período.

Também agradeço de coração ao meu orientador Prof. Dr. José Celso Rocha, pela oportunidade de aprendizado nesses dois anos e meio. Não consigo mensurar todo o crescimento, a quantidade de conhecimento e oportunidades que tive durante esse tempo. Levarei para toda minha vida todos esses aprendizados. Não poderia deixar de mencionar também meu co-orientador, Prof. Dr. Marcelo Fábio Gouveia Nogueira, que também fez parte deste processo e que também me ensinou muito, principalmente nas correções de escrita de projetos e trabalhos.

Também quero agradecer a todo pessoal do Laboratório de Matemática Aplicada da UNESP de Assis/SP, que me ensinaram muito durante todo esse tempo, principalmente quando estive em Assis, para execução do projeto, que abriram mão de seu tempo e me auxiliaram, mesmo durante o auge da pandemia. Sem a ajuda de vocês não teria conseguido realizar esse projeto. Muito obrigada e desejo muitas bênçãos e sucesso a todos vocês!

Também agradeço à clínica Huntington, clínica parceira no fornecimento de dados para este trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço a todos, que de alguma forma, foram importantes e essenciais nesta jornada.

A todos, de coração, muito obrigada!

## SUMÁRIO

RESUMO .....	7
ABSTRACT .....	9
LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	10
1. INTRODUÇÃO .....	11
2. JUSTIFICATIVA .....	20
3. HIPÓTESE .....	21
4. OBJETIVOS.....	21
5. MATERIAIS E MÉTODOS .....	21
6. ANÁLISE DOS DADOS.....	32
7. RESULTADOS .....	33
8. DISCUSSÃO.....	39
9. CONCLUSÃO .....	42
10. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	42
11. FINANCIAMENTO .....	42
12. REFERÊNCIAS.....	43
ANEXO 1 .....	53
ANEXO 2 .....	60
APÊNDICE 1.....	64

## RESUMO

A infertilidade é considerada um problema de saúde mundial que afeta cerca de 15% dos casais em idade reprodutiva. As atuais tecnologias empregadas pelas técnicas de reprodução assistida não são totalmente eficazes, sendo a taxa de sucesso gestacional consideravelmente baixa (cerca de 25 a 40%). Assim, a escolha do embrião de melhor qualidade é fundamental para o sucesso das duas principais técnicas de reprodução assistida, a fertilização *in vitro* e a injeção intracitoplasmática de espermatozoides. A taxa de sucesso dessas técnicas pode ser influenciada pela presença de aneuploidias embrionárias, as quais podem resultar em falha de implantação, em abortos e mesmo em malformações nos nascidos vivos. Para evitar técnicas invasivas de análise genética dos embriões, (por exemplo, a biópsia embrionária que utiliza irreversivelmente parte das células embrionárias para a análise genética), a Inteligência Artificial associada ao processamento de imagens do blastocisto, pode vir a ser um caminho alternativo. Nesse sentido, essa técnica pode vir a viabilizar a análise genética embrionária de forma não invasiva, a um baixo custo e de forma objetiva. Com isso, o objetivo deste trabalho foi adaptar um software já desenvolvido (como uma plataforma inicial) para a previsão da ploidia dos embriões humanos, distinguindo os embriões euploides dos embriões aneuploides. Para isso foram utilizadas as técnicas de Inteligência Artificial, como as Redes Neurais Artificiais e os Algoritmos Genéticos, associadas com a aplicação das variáveis oriundas do processamento digital de imagens dos blastocistos (variáveis morfológicas), da morfocinética (tempos de clivagem e de desenvolvimento do embrião) e variáveis da paciente em conjunto com as variáveis celulares que possam auxiliar na verificação da ploidia embrionária. No total, 574 embriões – com respectivos dados da morfocinética e dados das pacientes – foram avaliados. Esses dados foram obtidos de pacientes submetidas a ciclos de fertilização de maio de 2019 a março de 2021. A melhor rede neural artificial obtida foi aquela em que foram aplicadas as variáveis da morfologia, morfocinética e da paciente com as variáveis celulares (com diagnóstico específico para os fatores de infertilidade). Nesta rede, o acerto geral foi de 98,6% no treinamento, de 80,0% no teste, de 69,2% na simulação e de 64,7% no teste-cego. Com esses resultados, é possível concluir que a rede neural artificial obtida tem uma acurácia considerável na predição da classificação embrionária quanto à ploidia, sendo uma alternativa para viabilizar a análise genética embrionária de forma não invasiva, a um baixo custo e de forma objetiva. No entanto, apesar dos resultados promissores, concluímos que essas tecnologias precisam ser analisadas em estudos prospectivos e não somente em

estudos retrospectivos, como o do presente trabalho, objetivando uma melhor análise de sua eficácia.

Palavras-chave: inteligência artificial, ploidia, embrião, reprodução assistida, morfologia, morfocinética.

## ABSTRACT

Infertility is considered a worldwide health problem that affects about 15% of couples of reproductive age. The current technologies used by assisted reproduction techniques are not fully effective, because pregnancy success rates are considerably low (about 25 to 40%). Thus, choosing the best quality embryo is essential for the success of the two main assisted reproduction techniques, in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. The success rates of these techniques can be influenced by the presence of embryonic aneuploidies, which can result in implantation failure, miscarriages or malformations in live births. To avoid invasive techniques for genetic analysis of embryos (for example, embryo biopsy that irreversibly uses part of the embryonic cells for genetic analysis), Artificial Intelligence associated with blastocyst image processing may be an alternative way. In this sense, this technique may enable embryo genetic analysis in a non-invasive way, at a low cost and in an objective way. Therefore, the objective of this work was to adapt an already developed software (as an initial platform) for the prediction of ploidy of human embryos, distinguishing euploid embryos from aneuploid embryos. For this, Artificial Intelligence techniques were used, such as Artificial Neural Networks and Genetic Algorithms, associated with the application of variables arising from digital processing of blastocyst images (morphological variables), morphokinetics (cleavage and embryo development times) and patient variables together with cellular variables that could help verify embryonic ploidy. In total, 574 embryos – with respective morphokinetic and patient datas – were evaluated. These data were obtained from patients undergoing fertilization cycles from May 2019 to March 2021. The best artificial neural network obtained was the one in which the morphology, morphokinetic and patient variables were applied with cellular variables (with specific diagnosis for infertility factors). In this network, the overall accuracy was 98.6% in the training, 80.0% in the test, 69.2% in the simulation and 64.7% in the blind test. With these results, it is possible to conclude that artificial neural network obtained has considerable accuracy in predicting the embryonic classification in terms of ploidy, being an alternative to enable the embryonic genetic analysis in a non-invasive way, at a low cost and in an objective. However, despite the promising results, we conclude that these technologies need to be analyzed in prospective studies and not only in retrospective studies, such as the one in the present work, aiming at a better analysis of their effectiveness.

Keywords: artificial intelligence, ploidy, embryo, assisted reproduction, morphology, morphokinetics.

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG - Algoritmo Genético;

AUC - *Area Under the Curve*;

FIV - Fertilização *in vitro*;

GLCM - *Gray Level Co-occurrence Matrix*;

IA - Inteligência Artificial;

ICSI - *Intracytoplasmic Sperm Injection*;

IMC - Índice de Massa Corporal;

LaMAp - Laboratório de Matemática Aplicada (da UNESP/Assis);

MCI - Massa Celular Interna;

MLP - *Multilayer perceptron*;

NGS - *Next Generation Sequencing*;

PGT - *Preimplantation Genetic Testing*;

PGT-A - *Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy*;

PGT-M - *Preimplantation Genetic Testing for Monogenic disorders*;

PGT-SR - *Preimplantation Genetic Testing for Structural chromosomal Rearrangements*;

RHA - Reprodução Humana Assistida;

RNA - Rede Neural Artificial;

ROC - *Receiver Operating Characteristic*;

TE - Trofotoderme.

## 1. INTRODUÇÃO

A infertilidade é considerada um problema de saúde mundial, que afeta cerca de 15% dos casais em idade reprodutiva (considerando quando as relações sexuais são desprotegidas, sem qualquer método anticoncepcivo, não obtendo uma gestação durante o período de 12 meses) (Mascarenhas et al., 2012; Ledford, 2018; WHO, 2019).

Na tentativa de reverter essa condição patológica, as técnicas de Reprodução Humana Assistida (RHA) vêm sendo utilizadas para auxiliar a concepção. É estimado que cerca de 8 milhões de pessoas tenham nascido por auxílio das técnicas de reprodução assistida em todo o planeta (De Geyter, 2018; Ledford, 2018).

Essas técnicas são relativamente novas – surgiram no final da década de 70 – e, assim, as atuais tecnologias e metodologias empregadas apresentam relativa eficácia. Isto porque a taxa de sucesso gestacional, como das técnicas de fertilização *in vitro* (FIV) e de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI, do inglês *intracytoplasmic sperm injection*), é ainda consideravelmente baixa (cerca de 25 a 40%) (Mantikou et al., 2013; Dyer et al. 2016; Vienna Consensus, 2017; De Geyter, 2018).

### 1.1. Aneuploidia

A aneuploidia – alteração no número cromossômico padrão da espécie humana – é a principal causa de falha de implantação, quando consideramos que esta tem origem embrionária. Por isso, a taxa de sucesso das técnicas de RHA também pode ser influenciada pela presença de aneuploidia nas células do embrião. A alteração no número cromossômico das células embrionárias, além de resultar em falhas de implantação, pode também convergir a abortos espontâneos ou até mesmo em malformações nos nascidos vivos (ESHRE Capri Workshop Group, 2005; Fragouli et al., 2013; Babariya et al., 2017).

A condição genética alterada é ainda preocupante quando são consideradas as estatísticas frente à idade materna, sendo maior o risco de aneuploidia embrionária para mulheres acima de 38-40 anos. Mais relevante ainda é o fato de que a maior parte das pacientes, em tratamento nas clínicas de reprodução assistida, pertence a essa faixa etária (Petraglia et al., 2013; Babakhanzadeh et al., 2020).

A principal técnica utilizada para a avaliação embrionária, com o objetivo da detecção de aneuploidias, é a análise do DNA por sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês *Next Generation Sequencing*), após a aplicação da técnica de biópsia de células da trofoblaste (TE). Neste procedimento, cerca de 5 a 15 células são aspiradas por uma

micropipeta de biópsia. Essas células são encaminhadas posteriormente à análise genética, em que ocorrerá amplificação do DNA das células biopsiadas e posterior análise por NGS (Shendure, 2008; Basille *et al.*, 2009; Kung *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2016).

Com o NGS é possível a identificação de centenas de alterações genéticas, já que a técnica tem por objetivo sequenciar os 23 pares de cromossomos, avaliando assim o genoma do embrião. Esta é a principal técnica utilizada para o teste genético pré-implantação para detecção de aneuploidias (também conhecido como PGT-A, do inglês, *Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy*) (Geraedts & Sermon, 2016).

O PGT (do inglês, *Preimplantation Genetic Testing*) também pode avaliar a presença de doenças monogênicas (PGT-M, do inglês, *Preimplantation Genetic Testing for Monogenic disorders*) ou de rearranjo estrutural (PGT-SR, do inglês, *Preimplantation genetic testing for Structural chromosomal Rearrangements*), neste último caso para detecção de translocações e inversões. Estas técnicas permitem a avaliação de embriões de casais cujos filhos apresentam alto risco de herdar uma anormalidade genética ou cromossômica conhecida (Butler *et al.*, 2019; Sciorio & Dattilo, 2020).

No entanto, a metodologia de biópsia embrionária e de sequenciamento são solicitadas apenas para alguns casos, como, por exemplo, quando a idade materna é avançada, ou quando há doença genética na família ou filhos anteriores com cromossomopatias. Os demais casais, que também poderão apresentar embriões aneuploides, não são avaliados. Ademais, é uma metodologia caracteristicamente invasiva e custosa (Geraedts & Sermon, 2016).

Além disso, a taxa de mosaïcismo – em que duas ou mais populações celulares com diferentes complementos cromossômicos estão presentes dentro do mesmo embrião – está presente em cerca de 35 a 50% dos embriões em estágio pré-implantacional (Maxwell *et al.*, 2016). A presença de mosaïcismo é relevante devido à representatividade dos resultados da análise genética estar relacionado às células da TE, e não às da massa celular interna (MCI). São estas que estão relacionadas à formação do feto e do âmnio, enquanto àquelas à formação dos demais anexos embrionários (Maxwell *et al.*, 2016; Munné & Wells, 2017).

Desta forma, a análise genética por NGS pode levar a resultados falsos positivos – quando há células alteradas apenas na TE, enquanto na MCI não há – ou há resultados falsos negativos – quando a análise é negativa para aneuploidia na TE e, no entanto, há células alteradas na MCI (Gleicher *et al.*, 2016; Maxwell *et al.*, 2016; Munné & Wells, 2017).

Isso tudo tem evidenciado que a metodologia de biópsia embrionária não deveria ser uma prática recorrente nos laboratórios. Alguns estudos sugerem restrições e cautela na aplicação dessa técnica (Paulson, 2017; Gleicher *et al.*, 2020).

## 1.2. Características que podem estar associadas à ploidia embrionária

Alguns fatores podem estar relacionados com o surgimento e com a incidência de aneuploidias. Dentre os principais fatores estão a idade da paciente, falhas de implantação e abortos de repetição, além da presença de fator masculino severo (por exemplo, em condições de oligozoospermia severa). Outros fatores também podem estar envolvidos com a aneuploidia. Entre eles estão a idade e o índice de massa corporal (IMC) da paciente, a contagem e a origem do(s) oócito(s), o número de tentativas (ou ciclos) anteriores, a presença de fragmentação e de multinucleação/binucleação nos embriões. Além disso, os diagnósticos de infertilidade também podem estar relacionados com a ploidia (Kort *et al.*, 2018).

Com relação à idade materna, o avanço da idade feminina está associado a um aumento exponencial na taxa de aneuploidia embrionária. A origem da aneuploidia pode ser resultado da não-disjunção dos cromossomos durante o processo de meiose ou da mitose. Tanto a aneuploidia causada por mecanismos na oogênese, quanto àquela que ocorre durante as primeiras divisões mitóticas, estão correlacionas à idade materna (Guo *et al.*, 2019; Mikwar *et al.*, 2020).

Já o IMC é outro parâmetro relacionado à ploidia embrionária. IMC alterado ( $\leq 18,5 \text{ kg/m}^2$  ou  $\geq 25,0 \text{ kg/m}^2$ ) pode afetar o sistema reprodutor feminino, contribuindo para anovulação, menstruação irregular, qualidade de oócitos prejudicada, alterações endometriais e desequilíbrios hormonais (Must *et al.*, 1999; Imterat *et al.*, 2019).

Há de se considerar que o impacto negativo que o IMC alterado tem sobre a qualidade embrionária vem de desequilíbrios no eixo hipotálamo-hipófise-ovário, que estão relacionados a alterações hormonais da leptina e do 17- $\beta$ -estradiol. Estes hormônios, por sua vez, estão relacionados com a regulação do metabolismo energético de lipídeos, e conseqüentemente, da fisiologia reprodutiva e do IMC. Alguns estudos sugerem que esta alteração metabólica e hormonal pode levar ao comprometimento folicular, prejudicando o desenvolvimento de oócitos, reduzindo assim a taxa de fertilização (Goldman *et al.*, 2015; Imterat *et al.*, 2019).

Apesar dos mecanismos celulares ainda não serem claros, a presença de radicais livres, decorrente do estresse oxidativo causado pelas citocinas e proteínas inflamatórias –

produzidas pelas células adiposas – podem levar à apoptose do complexo *cumulus*-oocitário e a anormalidades cromossômicas no oócito (Goldman *et al.*, 2015; Imterat *et al.*, 2019). Dessa forma, tanto IMC baixos ou IMC altos podem reduzir a capacidade reprodutiva.

O número de ciclos (ou tentativas) anteriores também é outro fator correlacionado à ploidia embrionária. Assim como para o número de oócitos coletados, os fármacos utilizados na hiperestimulação ovariana podem alterar as vias metabólicas e com isso levar a erros meióticos. Para pacientes com gestações aneuploides anteriores, há um risco ainda maior para aneuploidias (Kort *et al.*, 2018; Yatsenko & Rajkovic, 2019).

A fragmentação celular é outro importante fator, pois frequentemente é utilizada como um dos parâmetros morfológicos para a avaliação da qualidade do embrião. Os fragmentos celulares são fragmentos apoptóticos ou pedaços citoplasmáticos anucleares provenientes de blastômeros que geralmente surgem durante o estágio de clivagem. No entanto, não há conclusão definitiva sobre sua patogênese (Stigliani *et al.*, 2013).

Contudo, a presença de fragmentos, contendo cromossomos que frequentemente emergem e persistem, ou que são reabsorvidos durante a interfase, pode contribuir para a presença de embriões aneuploides. Isto sugere que os parâmetros de fragmentação dos blastômeros podem vir a ser prognósticos para a ploidia embrionária (Chavez *et al.*, 2012; Stigliani *et al.*, 2013).

A porcentagem destes fragmentos também é correlacionada com o potencial de implantação embrionária. Quanto maior a porcentagem de fragmentação, menor o potencial de implantação, e o contrário é recíproco. O potencial de implantação também é determinado, em parte, pela distribuição dos fragmentos. Fragmentações generalizadas estão frequentemente associadas a anormalidades genéticas. Idade materna avançada também é associada como uma contribuição potencial para o aumento da fragmentação celular. A presença de fragmentos celulares também está relacionada com alto nível de atraso e parada no desenvolvimento embrionário (Chavez *et al.*, 2012; Fujimoto *et al.*, 2011; Stigliani *et al.*, 2013; Gallego *et al.*, 2019).

A presença de blastômeros binucleados e/ou multinucleados também é relacionada à ploidia embrionária. A etiologia da multinucleação/binucleação não é clara, mas parece estar relacionada a erros ou à interrupção na divisão nuclear e divisão celular (por exemplo, mau funcionamento do complexo do fuso mitótico). Outra informação importante é que a multinucleação, por sua vez, é aumentada com a presença de oócitos imaturos, os quais também não estão cromossomicamente aptos para a fertilização (Balakier *et al.*, 2016; Desai *et al.*, 2018; Paim & Fitzharris, 2020).

Com relação ao diagnóstico de infertilidade, fatores como endometriose, de origem masculina, ou de causa desconhecida (sem causa aparente), entre outras, podem relacionar-se à ploidia embrionária (Juneau *et al.*, 2017; Kort *et al.*, 2018; Tarozzi *et al.*, 2019). Em especial, no fator masculino, estudos sugerem o forte impacto da influência paterna sobre a ploidia embrionária, principalmente nos casos em que há a presença de fragmentação nuclear nos espermatozoides. Isto porque, a presença de radicais livres pode causar alterações metabólicas que culminam na perda da integridade da cadeia de DNA presente nos espermatozoides (Tarozzi *et al.*, 2019). Pacientes com infertilidade sem causa aparente (causa inexplicada) também apresentam maior taxa de embriões aneuploides, se comparado aos pacientes férteis (Kort *et al.*, 2018).

Todos esses parâmetros demonstram a complexidade biológica envolvida com relação à ploidia embrionária. Podemos destacar que a ploidia embrionária pode ser influenciada tanto por aspectos do desenvolvimento embrionário, quanto pelas características maternas e paternas (Babariya *et al.*, 2017).

### 1.3. Análise morfológica

A determinação da qualidade morfológica embrionária é um dos pontos cruciais para o sucesso da implantação e do desenvolvimento embrionário-fetal. Isso significa que a taxa de sucesso das técnicas de RHA também pode ser influenciada pela morfologia embrionária (Istanbul Consensus, 2011; Van den Abbeel *et al.*, 2013; Capalbo *et al.*, 2014).

O método de avaliação majoritariamente empregado nas clínicas de reprodução ao redor do mundo é a classificação embrionária realizada segundo modelo descrito por Gardner e Schoolcraft (1999), e que foi padronizado posteriormente pelo consenso de Istanbul (ESHRE, 2011). Esse método é realizado sob visualização microscópica óptica do embrião e sua classificação é fundamentada na identificação e categorização das características e qualidade da MCI e da TE, além da identificação do grau de expansão do blastocisto. Essa metodologia convencional de avaliação pode causar grande transtorno para o embrião, uma vez que necessita de sua retirada da incubadora para posterior avaliação microscópica. Isto pode culminar em alterações metabólicas no embrião.

No entanto, com o advento da tecnologia de *time-lapse* – que será discutida na seção posterior –, permitiu-se que o embrião seja cultivado em condições mais apropriadas e com menor probabilidade de alterações nas condições químicas e metabólicas (Mantikou *et al.*, 2013; Armstrong *et al.*, 2014; Racowsky *et al.*, 2015). Todavia, devemos destacar que nem

todas as clínicas possuem esta tecnologia, em função do seu alto custo (Chavez-Badiola *et al.*, 2020a).

Outro ponto a destacar é que, decorrente da subjetividade do(s) avaliador(es), o padrão de classificação convencional pode variar entre os embriologistas (variações inter-observacionais) e variar nas avaliações do próprio embriologista (variações intra-observacionais). Isso pode levar à baixa reprodutibilidade das classificações embrionárias (Conaghan *et al.*, 2013; Kirkegaard *et al.*, 2015).

Esta situação decorre em função da subjetividade do avaliador que pode ser influenciada pelo cansaço, pelo humor, por experiências anteriores, por alterações de atenção aos detalhes, pelo método de abordagem, entre outras (Matos *et al.*, 2014; Kirkegaard *et al.*, 2015; Rocha *et al.*, 2017a). Somado a isso, a visão humana apresenta dificuldades na distinção de nuances de cor ou brilho, das formas, para medir escalas ou tamanho relativo, ângulos ou a posição de vários objetos (Russ, 2016).

Com relação à associação da morfologia com a ploidia embrionária, ela ainda não é muito clara. Mas alguns estudos demonstram que embriões de baixa qualidade morfológica podem apresentar menor taxa de gestação, e maior incidência de aneuploidia, se comparados aos embriões de melhor qualidade morfológica (Istanbul Consensus, 2011; Van den Abbeel *et al.*, 2013; Capalbo *et al.*, 2014). Outros estudos também citam essa potencial associação da morfologia com a ploidia, onde afirmam que blastocistos de alta qualidade morfológica podem apresentar maior taxa de euploidia, se comparadas aos blastocistos com morfologia de baixa qualidade (Bouillon *et al.*, 2017; Majumdar *et al.*, 2017).

#### **1.4. Time-lapse**

A tecnologia do *time-lapse* permite a visualização do desenvolvimento pré-implantacional *in vitro*. É uma metodologia que, por meio de fotomicrografias – que avaliadas de forma conjunta e contínua – permitem observações e informações detalhadas da cinética do desenvolvimento e da morfologia embrionária (Pribenszky *et al.*, 2010; Meseguer *et al.*, 2011; Wong *et al.*, 2013).

Assim, de forma menos invasiva que a avaliação morfológica convencional, o *time-lapse* permitiu o surgimento dos marcadores morfocinéticos, que são marcadores da dinâmica da divisão celular. Dessa forma, assim como os parâmetros morfológicos, esses marcadores também são relevantes para a seleção do embrião a ser transferido (Conaghan *et al.*, 2013; Armstrong *et al.*, 2014; Racowsky *et al.*, 2015).

Por exemplo, os marcadores como os tempos de clivagem, de início da blastulação e o tempo em que o blastocisto atingiu sua plenitude podem estar relacionados à ploidia embrionária. Embriões com clivagem rápida apresentam potencial para implantação reduzido, se comparados aos embriões com tempo de ciclo celular normal. Isto porque alterações no tempo de início do processo de compactação e da blastulação, e no tempo para atingir o estágio completo de blastocisto estão relacionados com maior taxa de embriões aneuploides. Portanto, há necessidade de um tempo adequado para uma síntese de DNA ordenada e eficiente, durante o ciclo celular mitótico do embrião (Cruz *et al.*, 2012; Motato *et al.*, 2016; Griffin & Ogur, 2018; Cruz, 2018).

Alguns outros trabalhos apresentam a informação de que a seleção de parâmetros como t5 e t8 tem uma relevância maior para com relação à condição de ploidia, se comparado aos parâmetros t2 e t3. Isto se deve à ativação genômica embrionária, que se inicia nos estágios de 4 a 8 células na espécie humana. Este período é caracterizado por intensa atividade metabólica celular, ativação de genes, aumento da velocidade da divisão e diferenciação celular. Portanto, é altamente provável que erros mitóticos em células embrionárias, neste estágio de desenvolvimento, envolvam sistemas bioquímicos complexos que atrasam e alteram a cario e citocinese (Cruz *et al.*, 2012; Campbell *et al.*, 2013; Coticchio *et al.* 2019; ESHRE, 2020).

Apesar de incluir os parâmetros morfocinéticos do embrião que possam estar relacionados com a ploidia, o *time-lapse* não permite a predição direta da ploidia embrionária. Somado a isso, ainda há subjetividade intra e inter-observacional durante as avaliações, uma vez que os dados de morfocinética obtidos continuam a demandar a figura de um embriologista para essa análise de dados (Wong *et al.*, 2013; Armstrong *et al.*, 2014; Racowsky *et al.*, 2015).

## 1.5. Inteligência artificial

A aplicação das técnicas de inteligência artificial (IA) vem trazendo diversos avanços na área médica (Swaim *et al.*, 2020, Bormann *et al.*, 2021). O objetivo da IA consiste em mimetizar (ou seja, simular) a capacidade cognitiva humana para a resolução de problemas complexos. É uma área de conhecimento relacionada com a criação e gerenciamento de sistemas computacionais que, de determinada forma, expressam inteligência. Dessa forma, constituem metodologias que permitem a criação de sistemas de predição e de classificação. Na medicina reprodutiva, por exemplo, alguns estudos têm aplicado técnicas de IA para a classificação de embriões e a predição de gestação e de nascidos vivos (Rad *et al.*, 2018;

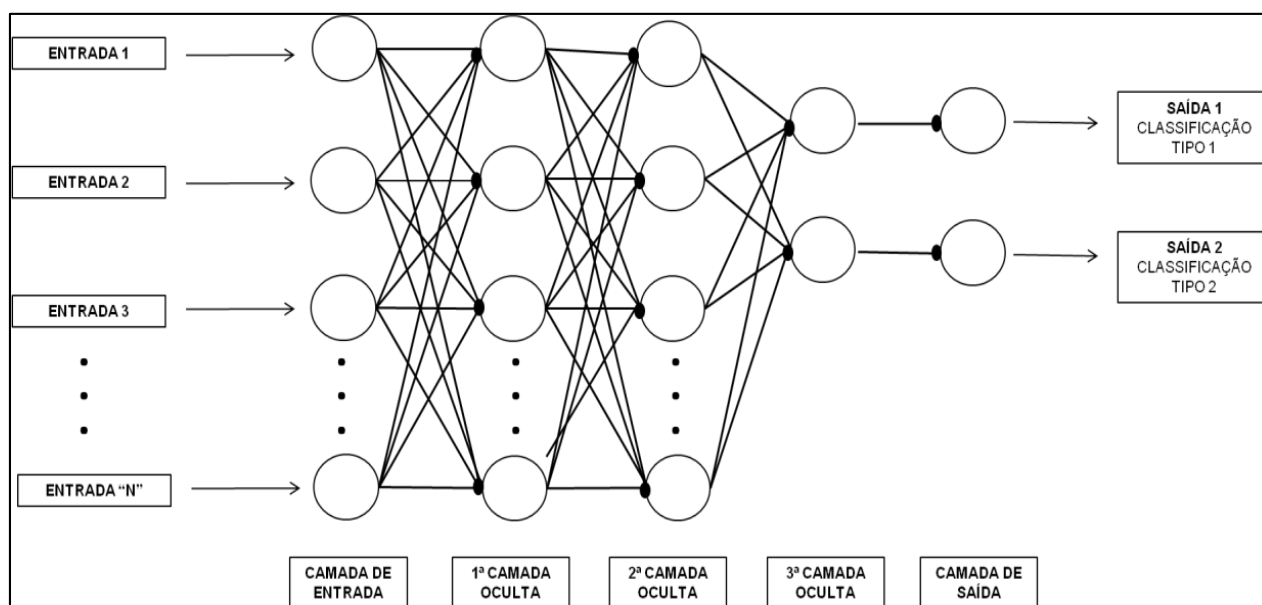
Dirvanauskas *et al.*, 2019, Khosravi *et al.*, 2019; Tran *et al.*, 2019; Bormann *et al.*, 2020; Chavez-Badiola *et al.*, 2020a; Letterie, 2021).

A IA compreende um variado conjunto de técnicas como: redes neurais artificiais (RNAs), algoritmos genéticos (AGs), redes *multilayer perceptron* (MLP, ou redes multicamadas), *deep learning*, redes convolucionais, lógica difusa, entre outras (Basheer & Hajmeer, 2000; Kovács, 2002; Krogh, 2008; Abiodun *et al.*, 2018). Duas delas, as RNAs e os AGs, em especial, podem ser utilizadas para a simulação de modelos preditivos na área de reprodução assistida (Matos *et al.*, 2014; Rocha *et al.*, 2017a; Rad *et al.*, 2018; Rocha *et al.*, 2018; Zaninovic *et al.*, 2018; Dirvanauskas *et al.*, 2019; Khosravi *et al.*, 2019; Tran *et al.*, 2019; Bormann *et al.*, 2020; Chavez-Badiola *et al.*, 2020a, Swain *et al.*, 2020).

### 1.5.1. Redes neurais artificiais

As RNAs são sistemas de processamento simples, que são distribuídos de forma paralela e constituídos por unidades (nós) de processamento. Formam assim uma rede de neurônios artificiais capazes de aplicar funções matemáticas simples a dados recebidos em sua entrada (Basheer & Hajmeer, 2000; Haykin, 2007; Krogh, 2008). De maneira geral, são sistemas de processamento simples que simulam neurônios biológicos.

Com relação ao modelo de RNA MLP (multicamadas), este é composto por unidades de entrada, de associação e de resposta (Figura 1). São redes que possuem uma camada de entrada, uma de saída, e entre elas, camadas intermediárias, sendo que todas as camadas estão interconectadas (Braga *et al.*, 2000).



**Figura 1.** Esquema de uma arquitetura de uma rede neural artificial multicamadas.

Para que uma determinada RNA realize a categorização de dados, é necessário que seja submetida a um processo de aprendizado. Este aprendizado inclui três etapas – treinamento, validação e teste –, as quais consistem no ajuste dos pesos das conexões de processamento para a maior acurácia preditiva possível.

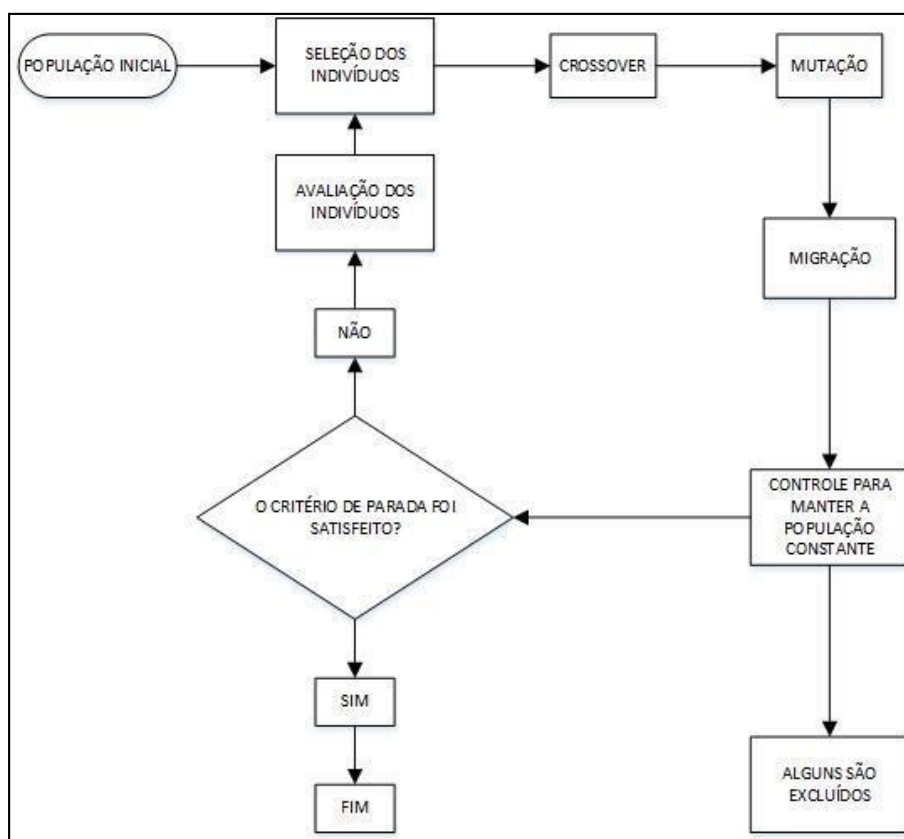
Por sua vez, esse aprendizado é realizado através da aplicação de algoritmos de treinamento, os quais podem ser de dois tipos: a) algoritmo supervisionado, no qual há o fornecimento de conjuntos de exemplos de dados de entrada e saída à rede, ajustando seus pesos com base no gabarito de saída; e b) não supervisionado, em que os algoritmos de aprendizado não necessitam de conjuntos de exemplos (gabarito) para o aprendizado da rede (Braga *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2010).

### **1.5.2. Algoritmos genéticos**

Os AGs compreendem um conjunto de algoritmos computacionais baseados na teoria da evolução – seleção natural darwiniana. Esses algoritmos agregam conceitos genéticos com a finalidade da resolução de problemas. Dessa forma, os algoritmos permitem a simulação do que seria a evolução de estruturas matemáticas, como por exemplo, das RNAs, tomadas como indivíduos (os “cromossomos” do AG) (Tanomaru, 1995; Lacerda & Carvalho, 1999; Carr, 2014). Portanto, os AGs são utilizados para a otimização das RNAs.

Em outras palavras, essa técnica computacional é realizada para que se possam selecionar os indivíduos mais bem-sucedidos (ou mais aptos) a cada iteração – isto é, as RNAs com as melhores acurácias. Para isso, os AGs utilizam operadores genéticos, como os processos de recombinação (ou *crossing over*, produção de recombinações entre os indivíduos), mutação (acréscimo de alterações no conjunto de indivíduos) e migração (acréscimo de indivíduos aleatórios e não conhecidos na população do AG) para que ocorram variações suficientes. Assim, a aplicação do AG permite variações suficientes para a identificação das melhores RNAs, isto é, aquelas com menores erros de classificação (Tanomaru, 1995; Lacerda & Carvalho, 1999; Pozo *et al.*, 2011).

A seguir, na Figura 2, é apresentado um esquema da aplicação do algoritmo genético.



**Figura 2.** Fluxograma representando a aplicação da técnica de algoritmos genéticos.

## 2. JUSTIFICATIVA

Frente ao surgimento de diversas metodologias de IA, a aplicação dessas técnicas pode auxiliar na identificação dos marcadores da ploidia de embriões humanos. Portanto, a IA pode vir a permitir a predição da ploidia embrionária, de uma menos invasiva, com resultados reprodutíveis e confiáveis, com a busca de uma melhor acurácia em seus resultados.

Para enfatizar a aplicação da técnica de IA na reprodução assistida, resultados promissores foram encontrados em estudos que utilizaram IA para a predição embrionária das taxas de sucesso da gestação e de nascidos vivos, por exemplo, em Matos *et al.*, 2014; Rocha *et al.*, 2017a; Rad *et al.*, 2018; Rocha *et al.*, 2018; Zaninovic *et al.*, 2018; Dirvanauskas *et al.*, 2019; Khosravi *et al.*, 2019; Tran *et al.*, 2019; Bormann *et al.*, 2020; Chavez-Badiola *et al.*, 2020a; Zaninovic & Rosenwaks, 2020; Friedenthal *et al.*, 2021.

Pelos estudos prévios realizados nesta pesquisa, ainda não existe nenhum software preditivo que possa ser aplicado à ploidia. Algo nesse sentido seria de grande valia para auxiliar médicos e embriologistas na predição da ploidia de embriões.

### **3. HIPÓTESE**

A hipótese deste projeto é o desenvolvimento de um software capaz de diferenciar embriões euploides de embriões aneuploides, com acurácia  $\geq 70\%$ .

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo geral**

O objetivo desse trabalho foi prever a ploidia de embriões humanos, distinguindo os euploides dos aneuploides, através da adaptação de um software previamente desenvolvido, associado ao uso das técnicas de IA. Para isso, foram utilizadas variáveis oriundas do processamento digital de imagens dos blastocistos (variáveis morfológicas), variáveis da morfocinética (tempos de clivagem e de desenvolvimento do embrião) e variáveis da paciente juntamente com outras variáveis celulares que possam auxiliar na verificação da ploidia.

#### **4.2. Objetivos específicos**

- Validar as variáveis morfológicas, já determinadas para a classificação de embriões bovinos, para a previsão da ploidia de embriões humanos;
- Identificar novas variáveis, além daquelas morfológicas e morfocinéticas, para auxiliar na determinação da ploidia;
- Adaptar o software já existente, utilizado para a classificação de embriões bovinos, para a classificação de embriões humanos com relação à ploidia;
- Prever, de modo retrospectivo, a ploidia embrionária, baseada nas variáveis anteriormente citadas.

### **5. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **5.1. Banco de dados**

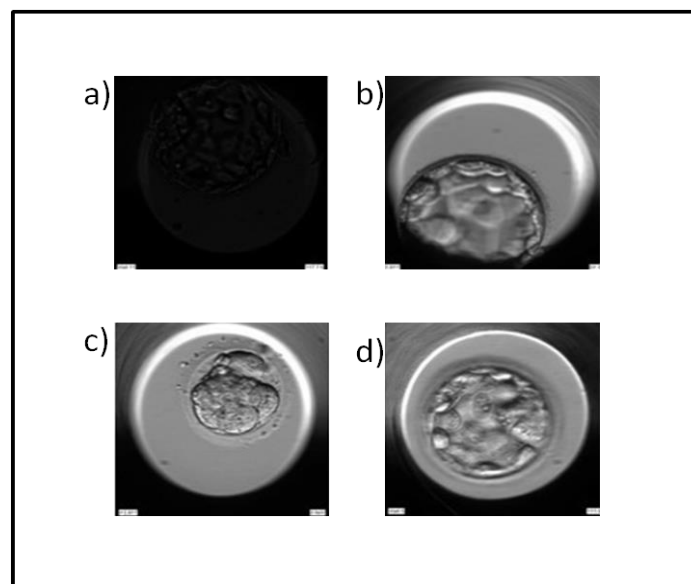
O banco de dados utilizado para o desenvolvimento deste projeto foi proveniente do convênio firmado entre a rede de clínicas Huntington (sediada em São Paulo/SP) e o Laboratório de Matemática Aplicada da UNESP de Assis/SP (LaMAp).

Foram fornecidos, no total, 574 vídeos de blastocistos humanos, juntamente com as respectivas informações da morfocinética (tempos do desenvolvimento embrionário),

informações das pacientes (idade, IMC, número de oócitos coletados, origem do oócito, número de ciclos ou tentativas anteriores, fator de infertilidade diagnosticado) e outras informações celulares (porcentagem de fragmentação e presença de multinucleação ou binucleação, ambos no dia 2 de desenvolvimento). Todas as pacientes foram identificadas anonimamente. Todos os vídeos dos embriões foram provenientes da tecnologia de *time-lapse*, da incubadora EmbryoScope® (Vitrolife®). Esses vídeos, e respectivas informações, foram coletados de pacientes submetidas a ciclos de fertilização de maio de 2019 a março de 2021.

Para fragmentar os vídeos em imagens, foi utilizado o software “*Free Video to JPG Converter*”, responsável por gerar entre 500 e 700 imagens de cada embrião, aproximadamente. Destas imagens fragmentadas, foram selecionadas aquelas em que o embrião se encontrava em estágio de blastocisto ou o mais próximo disso.

Portanto, foram considerados para este estudo os embriões cultivados até o estágio de blastocisto e que foram biopsiados e analisados quanto à ploidia. Foram descartadas as imagens desfocadas, ou com o blastocisto visualmente incompleto (imagem cortada), imagens escuras, ou nas quais o embrião não se encontrava em estágio de blastocisto ou que estava degenerado. Ao todo, 74 embriões foram excluídos segundo esses critérios. Na Figura 3, são apresentados exemplos de imagens de blastocistos que foram excluídas por conta desses critérios.



**Figura 3.** Ilustrações de embriões descartados, de acordo com os critérios gerais de exclusão. a) imagem escura, com luminosidade insuficiente para reconhecer regiões; b) imagem do blastocisto cortada, com visualização incompleta do blastocisto; c) embrião fora do estágio de blastocisto; d) imagem do blastocisto desfocada (Adaptado de Chéles *et al.*, 2022).

Do banco de dados de 574 imagens, foram utilizadas 408 imagens para o treinamento e simulação das RNAs e 166 imagens para o teste-cego. No Anexo 1 está apresentado o número efetivo de embriões que foram utilizados para cada conjunto avaliado, considerando o número de imagens descartadas segundo critérios mencionados no parágrafo anterior.

Este estudo obteve aprovação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), tendo o Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) sob nº 06081218.4.0000.5449, estando disponível na Plataforma Brasil.

## **5.2. Processamento digital das imagens**

O processamento digital foi realizado para extrair e analisar as informações das imagens dos blastocistos. Dessa forma, as informações contidas nas imagens tornaram-se quantificáveis.

Neste trabalho, foi utilizado o software desenvolvido pelo LaMAp, o qual faz uso da plataforma MatLab<sup>®</sup>. Este software é responsável pela análise automatizada das imagens sem a necessidade de intervenção de um usuário (Rocha *et al.*, 2017a; Rocha *et al.*, 2017b).

Ao todo, 500 imagens de blastocistos foram processadas e avaliadas.

O processamento digital compreende algumas etapas que estão descritas a seguir.

### **5.2.1. Padronização**

Inicialmente, as imagens foram submetidas a um algoritmo de padronização e, assim, foram normalizadas em termos de contraste e resolução (Russ, 2016). Depois, as imagens foram importadas automaticamente para o software MatLab<sup>®</sup>, através do algoritmo já previamente desenvolvido. Posteriormente, foram tratadas e convertidas em escalas de cinza, e ajustadas com relação à proporção da imagem e resolução. Por último, a intensidade luminosa foi ajustada com o objetivo de maximização de contraste, a fim de auxiliar as etapas posteriores (Rocha *et al.*, 2017b).

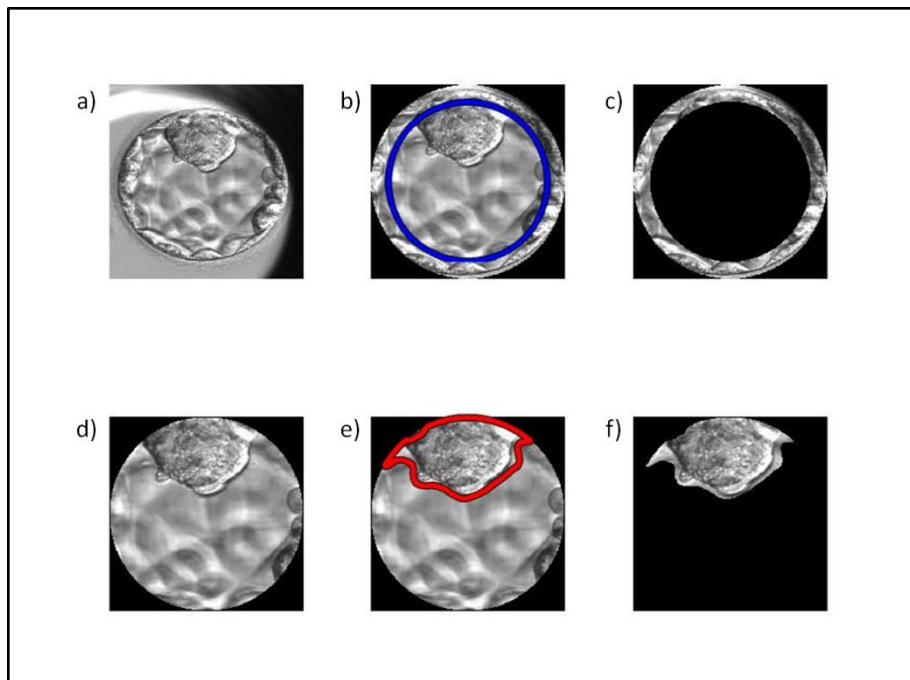
### **5.2.2. Segmentação**

Nesta etapa, a imagem do blastocisto é isolada do restante da imagem (separada do plano de fundo). Primeiramente, a imagem foi submetida à alteração do gradiente, a fim de que os limites dos blastocistos se tornem mais evidentes e delimitados. Depois, foi aplicada a função Transformada de Hough, utilizada para determinar a circunferência que melhor

caracteriza o blastocisto (Atherton & Kerbyson, 1999). Por último, foi realizada a segmentação das duas principais estruturas do blastocisto: a MCI e a TE.

Por sua vez, a MCI foi segmentada pela aplicação de filtros Gabor. Já a TE foi obtida tomando a área total do blastocisto e realizando a segmentação apenas da região periférica (Marmol, 2011).

A Figura 4 é uma ilustração da representação de todas as segmentações que foram realizadas no blastocisto.



**Figura 4.** Ilustração representativa das segmentações do blastocisto. a) imagem original do blastocisto, obtida pelo equipamento EmbryoScope® (Vitrolife®); b) blastocisto já isolado da imagem de fundo e com marcação em azul da área entre a trofocitotórax e a parte interna do embrião; c) trofocitotórax isolada; d) massa celular interna e blastocela segmentadas; e) marcação, pelo algoritmo, da área identificada como a massa celular interna; f) massa celular interna isolada.

### 5.2.3. Extração de variáveis

Após a segmentação do blastocisto, ocorreu a extração das características da imagem. Neste processo, as informações da imagem deram origem a vetores numéricos. Estes vetores foram usados como variáveis de entrada para a RNA, tornando assim as informações da imagem próprias para serem utilizadas em técnicas computacionais.

Ao final de todo o processamento digital, 33 variáveis foram extraídas de cada imagem do blastocisto, que são as variáveis morfológicas, discutidas na seção 5.4.1.

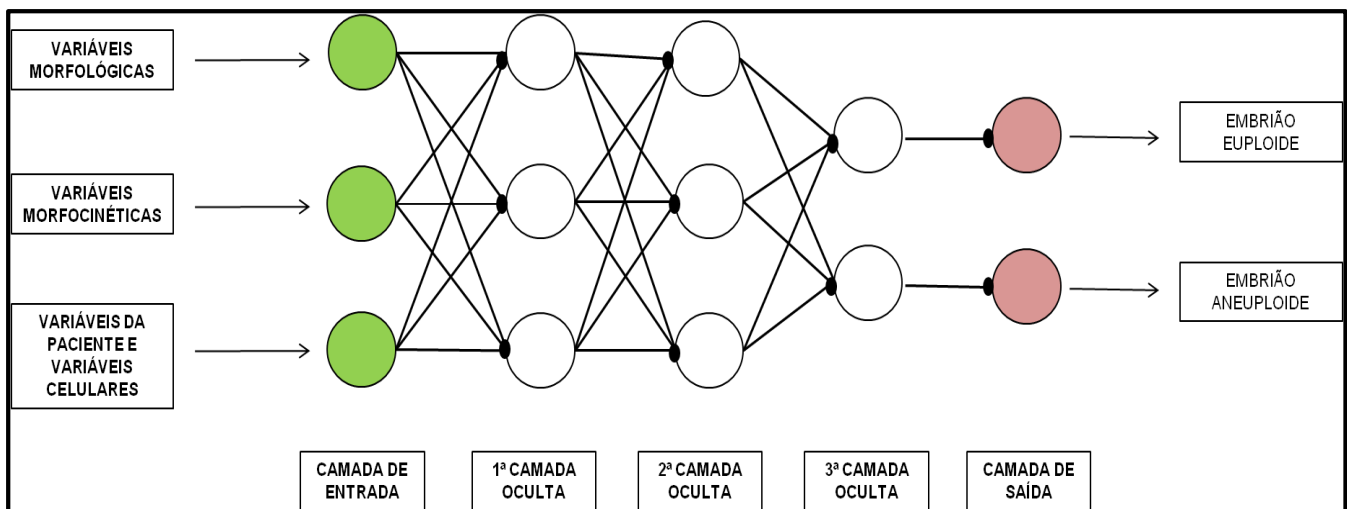
### 5.3. Inteligência artificial

Para este estudo, duas técnicas de IA foram aplicadas: as redes neurais artificiais e os algoritmos genéticos.

Todo o processo foi desenvolvido na plataforma MatLab®. Essa plataforma apresenta diversas funções, as quais permitem o desenvolvimento da programação de RNAs e AGs.

#### 5.3.1. Redes neurais artificiais

As RNAs utilizadas para esse trabalho foram as MLP. Foram utilizadas de 1 a 3 camadas intermediárias e, para cada camada, o número de neurônios variou entre 10 e 500. As variáveis de entrada são representadas pelas seguintes variáveis: morfológicas, morfocinéticas e as da paciente em união com as variáveis celulares que podem auxiliar na verificação da ploidia. As variáveis de saída são: euploide e aneuploide. A Figura 5 representa a arquitetura da RNA aplicada para esse trabalho.



**Figura 5.** Arquitetura da rede neural artificial multicamadas para o estudo em questão, indicando a aplicação das variáveis morfológicas, morfocinéticas e as da paciente, esta última juntamente com as variáveis celulares que podem auxiliar na verificação da ploidia (variáveis de entrada), para a predição de embrião euploide ou embrião aneuploide (variáveis de saída), destacando a camada de entrada (cor verde) e a camada de saída (cor rosa).

Para o treinamento das RNAs, foi utilizado o algoritmo *Backpropagation*, que é um algoritmo de aprendizado supervisionado. Este algoritmo é dividido em duas etapas: *Feedforward* e *Backward*. Na etapa *Feedforward*, os dados fornecidos na camada de entrada são propagados em um único sentido na rede até a camada de saída. As respostas produzidas pelas saídas da rede são então comparadas aos valores das respostas padrão

(gabarito). Uma vez verificado o erro cometido pela rede, e não atendido o erro estipulado para o processo, segue o treinamento com o algoritmo *Backforward*. Neste momento, ocorre uma retropropagação dos erros a fim de se ajustarem os pesos da rede (Braga *et al.*, 2000). Em suma, a aplicação destes algoritmos de aprendizado permite uma gradativa diminuição dos erros produzidos pelas respostas da rede, frente àquelas desejadas.

Para o treinamento e aprendizado da RNA, o banco de dados foi dividido da seguinte forma: 70% para o conjunto de treinamento, 15% para o conjunto de validação e 15% para o conjunto de teste (Matos, 2014; Chakrabarty *et al.*, 2015; Kalpana *et al.*, 2015).

As variáveis de entrada e de saída utilizadas nas RNAs são apresentadas e discutidas na seção 5.4.

Após o treinamento da rede, o teste-cego foi realizado. Este teste permite a avaliação da acurácia do software. Para isto, as melhores redes obtidas – aquelas que apresentaram melhores acurácias – foram testadas com dados que não foram utilizados para a sua aprendizagem.

O banco de dados para o teste-cego, como já mencionado, foi composto por 166 imagens de blastocistos humanos, juntamente com todas as variáveis necessárias para sua análise. O resultado obtido, após a realização do teste-cego, foi comparado às saídas desejadas, as quais não são oferecidas quando da realização do teste-cego. Dessa forma, foi possível inferir sobre a robustez do modelo (reprodutibilidade de acertos em situações distintas de dados).

### **5.3.2. Algoritmos genéticos**

A técnica de AG foi aplicada na construção de um conjunto de indivíduos que representam as arquiteturas das RNAs MLP. A geração destes indivíduos ocorreu de forma aleatória e cada conjunto (população) apresentou entre 100 e 1000 indivíduos.

Construída a primeira população, as demais foram constituídas da seguinte forma: 20% dos indivíduos selecionados como os mais aptos foram mantidos para a população seguinte, outros 50% deles foram advindos da recombinação e mutação dos indivíduos da população anterior, e os últimos 30% vieram por meio de migração. Uma vez formada a primeira geração, o número de indivíduos para as futuras gerações permaneceu o mesmo.

Por fim, os indivíduos mais aptos foram escolhidos a partir do menor erro do conjunto de testes.

Os testes foram realizados para avaliar a respectiva acurácia de classificação de uma determinada RNA, comparando-os com os resultados esperados. As redes com os menores erros de classificação foram selecionadas.

#### **5.4. Variáveis de estudo**

As variáveis de estudo foram divididas nos seguintes conjuntos: variáveis de entrada (derivadas da morfologia, da morfocinética e derivadas da paciente, esta em união com as variáveis celulares que podem estar associadas à ploidia) e de saída (a classificação da ploidia: euploide ou aneuploide).

##### **5.4.1. Variáveis morfológicas**

Para as variáveis morfológicas, foram consideradas as 33 variáveis extraídas por meio do software desenvolvido previamente, conforme mencionado no item 5.2.3 (Rocha *et al.*, 2018; Chéles *et al.*, 2022). Essas variáveis estão apresentadas e descritas no Anexo 2.

##### **5.4.2. Variáveis morfocinéticas**

As variáveis morfocinéticas, por sua vez, são representadas por:

- tempos de clivagem ( $t_2$ ,  $t_3$ ,  $t_4$ ,  $t_5$  e  $t_8$ ; tempo, em horas, compreendidos desde a inseminação até a divisão celular em duas, três, quatro, cinco e oito células, respectivamente, devendo a divisão estar completa);
- tSB (tempo, em horas, do início da formação do blastocisto);
- tB (tempo, em horas, na qual o blastocisto está plenamente formado, quando a blastocela ocupa aproximadamente metade do volume do embrião);
- tEB (tempo de desenvolvimento até o estágio de blastocisto expandido);
- tPNf (tempo de desenvolvimento até o momento do desaparecimento dos pronúcleos. Caso haja a assincronia, corresponde ao tempo de desenvolvimento até o desaparecimento do último pronúcleo);
- CC2, CC3, RelCC2, tSB –  $t_8$ , tB – tSB,  $t_4$  –  $t_3$ ,  $t_5$ - $t_2$ , Score Global (as quais representam relações numéricas dos tempos de desenvolvimento).

Todos esses parâmetros estavam contidos na planilha de dados fornecidos pela clínica Huntington. Ao todo, são 17 variáveis morfocinéticas.

##### **5.4.3. Variáveis da paciente e variáveis celulares**

As variáveis da paciente e as variáveis celulares também foram fornecidas pela clínica. São elas: a idade da paciente; o IMC; o número de oócitos coletados; a origem do oócitos (fresco ou vitrificado); o número de ciclos (isto é, as tentativas) de fertilização anteriores; o fator de infertilidade diagnosticado (seja ele específico ou não); a porcentagem de células fragmentadas no embrião no dia 2 de desenvolvimento e a presença/ausência de multinucleação ou binucleação nas células embrionárias no dia 2 de desenvolvimento.

Para a aplicação das variáveis na técnica de IA, é necessário que todas as variáveis sejam representadas por vetores numéricos, isto é, que sejam caracterizadas numericamente. Para isso, as variáveis da paciente e as variáveis celulares receberam um valor numérico (ou escore) determinado por inferência baseada na literatura. Esses valores estão descritos nas Tabelas de 1 a 13 a seguir.

Os escores destas variáveis de entrada vão de um a dez, sendo 1 (um) a indicação de um prognóstico pior, e 10 a indicação de bom prognóstico. As Tabela de 1 a 5, juntamente com as Tabelas de 8 a 13, descrevem os escores para as variáveis da paciente, enquanto as Tabelas 6 e 7, descrevem para as variáveis celulares.

**Tabela 1.** Escore da idade da paciente.

<b>TABELA 1</b>	
<b>IDADE DA PACIENTE (MULHER)</b>	<b>ESCORE</b>
$\geq 42$ anos	1
$37 < \text{idade} < 42$	3
$31 < \text{idade} < 36$	7
$\leq 31$ anos	10

**Tabela 2.** Escore do índice de massa corporal (IMC) da paciente.

<b>TABELA 2</b>	
<b>ÍNDICE DE MASSA CORPORAL(IMC)</b>	<b>ESCORE</b>
$\geq 30 \text{kg/m}^2$	1
$25 < \text{IMC}(\text{kg/m}^2) < 29,9$	5
$20,1 < \text{IMC}(\text{kg/m}^2) < 24,9$	10
$18,6 < \text{IMC}(\text{kg/m}^2) < 20$	5
$\leq 18,5 \text{kg/m}^2$	1

**Tabela 3.** Escore do número de oócitos coletados da paciente.**TABELA 3**

<b>Nº DE OÓCITOS COLETADOS</b>	<b>ESCORE</b>
0 a 15 oócitos	10
16 a 29 oócitos	7
≥ 30 oócitos	3

**Tabela 4.** Escore da origem do oócito.**TABELA 4**

<b>OÓCITO (origem do oócito)</b>	<b>ESCORE</b>
Fresco	10
Vitrificado	1

**Tabela 5.** Escore do número de tentativas anteriores.**TABELA 5**

<b>Nº DE TENTATIVAS PRÉVIAS</b>	<b>ESCORE</b>
0 (zero)	10
1 a 4 ciclos	5
≥ 5 ciclos	1

**Tabela 6.** Escore da porcentagem (taxa) de fragmentação das células embrionárias no dia 2 (D2) de desenvolvimento.**TABELA 6**

<b>TAXA (%) DE FRAGMENTAÇÃO</b>	<b>ESCORE</b>
0 – 10%	10
10 – 20%	7
20 – 50%	3
50 – 100%	1

**Tabela 7.** Escore da presença/ausência de células multinucleadas ou binucleadas no dia 2 (D2) de desenvolvimento.**TABELA 7**

<b>Nº CÉLS. MULTI/BINUCLEADAS</b>	<b>ESCORE</b>
0	10
1	1
2	1

O fator de infertilidade diagnosticado (ou a causa do diagnóstico de infertilidade) foi avaliado de duas formas. Primeiro, foi avaliado o diagnóstico não específico de fator de infertilidade, como descrito na Tabela 8.

**Tabela 8.** Escore levando em consideração apenas se há ou não diagnóstico de infertilidade (não é especificado o tipo ou a causa do diagnóstico).

TABELA 8	
DIAGNÓSTICO	ESCORE
Nenhum	10
Presença de qualquer diagnóstico	1

Outras análises foram realizadas avaliando os diagnósticos específicos dos fatores de infertilidade, como descrito nas Tabelas de 9 a 13.

**Tabela 9.** Escore levando em consideração se o diagnóstico de infertilidade é específico para endometriose.

TABELA 9	
DIAGNÓSTICO - ENDOMETRIOSE	ESCORE
Outro ou nenhum diagnóstico	10
Presença de endometriose	1

**Tabela 10.** Escore levando em consideração se o diagnóstico de infertilidade é específico para fator masculino.

TABELA 10	
DIAGNÓSTICO – FATOR MASCULINO	ESCORE
Outro ou nenhum diagnóstico	10
Presença de fator masculino	1

**Tabela 11.** Escore levando em consideração se o diagnóstico de infertilidade é específico para fator tubário.

TABELA 11	
DIAGNÓSTICO – FATOR TUBÁRIO	ESCORE
Outro ou nenhum diagnóstico	10
Presença de fator tubário	1

**Tabela 12.** Escore levando em consideração se o diagnóstico de infertilidade é específico para “outros fatores de infertilidade”.

TABELA 12	
DIAGNÓSTICO – “OUTRO FATOR”	ESCORE
Outro ou nenhum diagnóstico	10
Presença de “outros fatores de infertilidade”	1

**Tabela 13.** Escore levando em consideração se o diagnóstico de infertilidade é desconhecido.

TABELA 13	
DIAGNÓSTICO – DESCONHECIDO	ESCORE
Outro ou nenhum diagnóstico	10
Diagnóstico desconhecido	1

Ao todo, são 8 variáveis da paciente juntamente com as variáveis celulares, quando consideramos o diagnóstico não específico para as causas de infertilidade, e são 12 variáveis da paciente juntamente com as variáveis celulares, quando consideramos os diagnósticos específicos de infertilidade (ou as causas de infertilidade específicas).

#### 5.4.4. Variáveis de saída

Para as variáveis de saída, foram utilizados os estados de ploidia: euploide ou aneuploide. Nestes casos, os valores são 1 (um) e 0 (zero), sendo que 1 indica que o embrião é euploide e 0 indica que o embrião é aneuploide. Portanto, as variáveis de saída também receberam um valor numérico, segundo o resultado do exame da análise genética para ploidia embrionária.

Embriões mosaicos foram considerados como embriões aneuploides, ou seja, receberam o escore 0 (zero) e, assim, foram utilizados para as análises.

#### 5.4.5. Combinações de variáveis

Além dos conjuntos de variáveis de entrada serem avaliados isoladamente, também foram avaliados em união com outros conjuntos. A seguir, mostramos as combinações de conjuntos de entradas para as RNAs que foram avaliados:

- Variáveis da morfologia e da morfocinética: são 50 entradas (33 morfológicas + 17 morfocinéticas);

- Variáveis da morfologia e da paciente e celulares (sem diagnóstico de infertilidade específico): são 41 entradas (33 morfológicas + 8 da paciente e celulares);
- Variáveis da morfologia e da paciente e celulares (com diagnósticos de infertilidade específicos): são 45 entradas (33 morfológicas + 12 da paciente e celulares);
- Variáveis da morfocinética e da paciente e celulares (sem diagnóstico de infertilidade específico): são 25 entradas (17 morfocinéticas + 8 da paciente e celulares);
- Variáveis da morfocinética e da paciente e celulares (com diagnósticos de infertilidade específicos): são 29 entradas (17 morfocinéticas + 12 da paciente e celulares);
- Variáveis da morfologia, da morfocinética e da paciente e celulares (sem diagnóstico de infertilidade específico): são 58 entradas (33 morfológicas + 17 morfocinéticas + 8 da paciente e celulares);
- Variáveis da morfologia, da morfocinética e da paciente e celulares (com diagnósticos de infertilidade específicos): são 62 entradas (33 morfológicas + 17 morfocinéticas + 12 da paciente e celulares).

No total foram avaliados onze conjuntos de variáveis, sendo 4 avaliados com as variáveis de forma isolada – morfologia, ou morfocinética, ou paciente e celulares com diagnóstico não específico de infertilidade, ou paciente e celulares com diagnósticos específicos de infertilidade – e 7 com as combinações mencionadas acima.

No Anexo 1 foram apresentados o número de embriões utilizados para cada conjunto de variáveis (ou combinações de conjuntos de entradas para as RNAs), em cada uma das etapas (para o treinamento, simulação e teste-cego).

## **6. ANÁLISE DOS DADOS**

### **6.1. Matriz de confusão**

A matriz de confusão expressa o resultado obtido da aplicação da técnica de RNA, e apresenta as taxas de acerto e erro da RNA com relação à classificação pretendida pelo estudo em questão. As taxas de acertos e erros são determinadas para todas as etapas: no treinamento, no teste, na simulação e no teste-cego. Desta forma, a matriz de confusão é utilizada para analisar a acurácia da técnica aplicada, a fim de distinguir e identificar a melhor RNA estabelecida após aplicação das técnicas de IA.

Portanto, neste trabalho a matriz de confusão fornece os acertos gerais e os acertos específicos para a classificação de embriões euploides e aneuploides.

## **6.2. Receiver Operating Characteristic (ROC) curve e Area Under the Curve (AUC)**

A curva ROC é fornecida pelo gráfico gerado a partir dos valores que representam a sensibilidade (taxa de verdadeiros positivos) em função da especificidade (taxa de falsos positivos) do modelo preditivo em questão. Os pontos obtidos são então conectados, formando a curva ROC. A área abaixo desta curva formará a AUC. Esta área é aplicada para comparação da acurácia geral de diferentes testes de um mesmo modelo preditivo.

Uma AUC com valor de 1,0 (um) indica uma acurácia perfeita (100%), o valor de 0,5 indica um acerto ao acaso e o valor de 0 (zero) indica uma acurácia 100% negativa, isto é, um modelo preditivo completamente errado (Watson & Petrie, 2010).

## **7. RESULTADOS**

Com a aplicação da técnica de IA, nos 11 distintos conjuntos de variáveis (11 diferentes combinações de entradas), obtivemos os resultados da predição da ploidia que são mostrados através das matrizes de confusão, das curvas ROC e valores de AUC.

A melhor rede obtida foi para o grupo em que todas as variáveis foram avaliadas em conjunto, sendo elas, as variáveis morfológicas, morfocinéticas e as da paciente em união com as variáveis celulares, considerando as causas de infertilidade específicas. Tal grupo foi composto por 62 variáveis, sendo: 33 variáveis advindas da morfologia, 17 variáveis advindas da morfocinética e 12 variáveis advindas da paciente e das variáveis celulares – com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade.

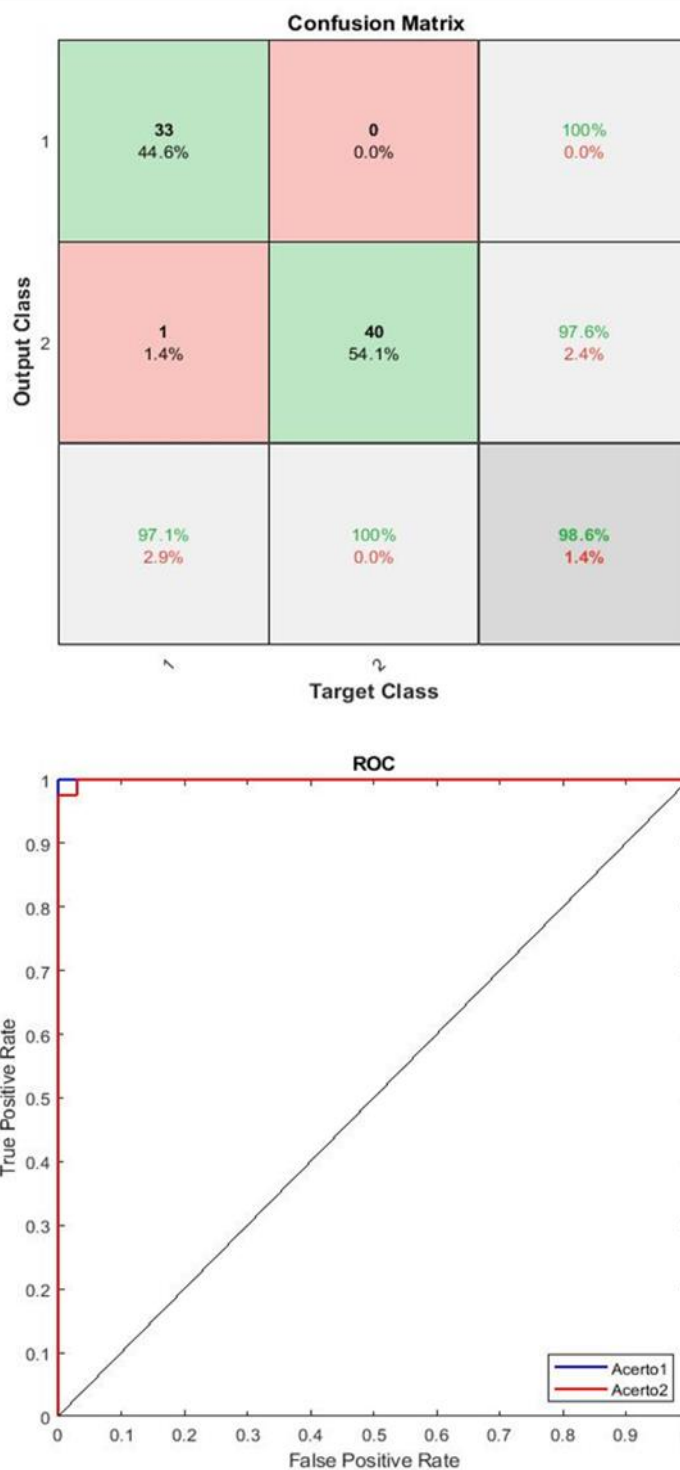
A Figura 6 mostra os resultados da matriz de confusão e curva ROC para os dados de treinamento e a Figura 7 mostra os resultados para os dados de teste. Esta IA obteve 98,6% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 97,1% e para embriões aneuploides de 100,0%, para os dados de treinamento (matriz de confusão da Figura 6). Quando consideramos os dados de teste, o resultado do acerto geral foi de 80,0%, sendo de 71,4% e de 87,5% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura 7).

Com relação aos resultados da simulação, a Figura 8 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura 9 para os dados do teste-cego. A IA obteve 69,2% de acerto geral na simulação, sendo 50,0% de acerto para embriões euploides e 85,7% de acerto para embriões aneuploides (matriz de confusão da Figura 8). Para os

dados do teste-cego, o acerto geral foi de 64,7%, sendo o acerto de 70,2% para embriões euploides e de 60,0% para embriões aneuploides (matriz de confusão da Figura 9).

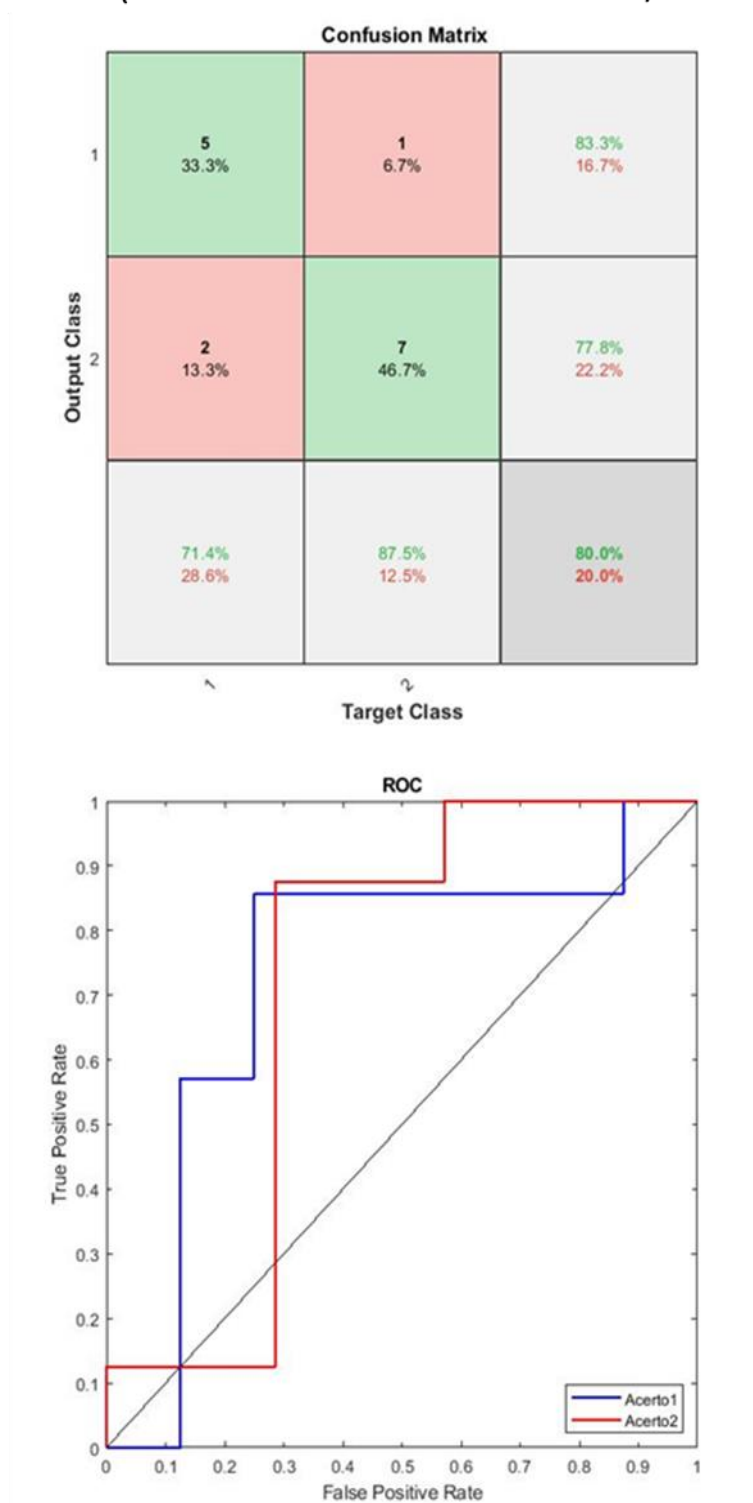
Já a Tabela 14 mostra os resultados do AUC, de 1,0, 0,7321, 0,6548 e 0,6886 para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, respectivamente, quando consideramos os embriões euploides, e AUC de 0,9993, 0,7143, 0,7202 e 0,6066, na mesma ordem anterior, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO – MORFOLOGIA, MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



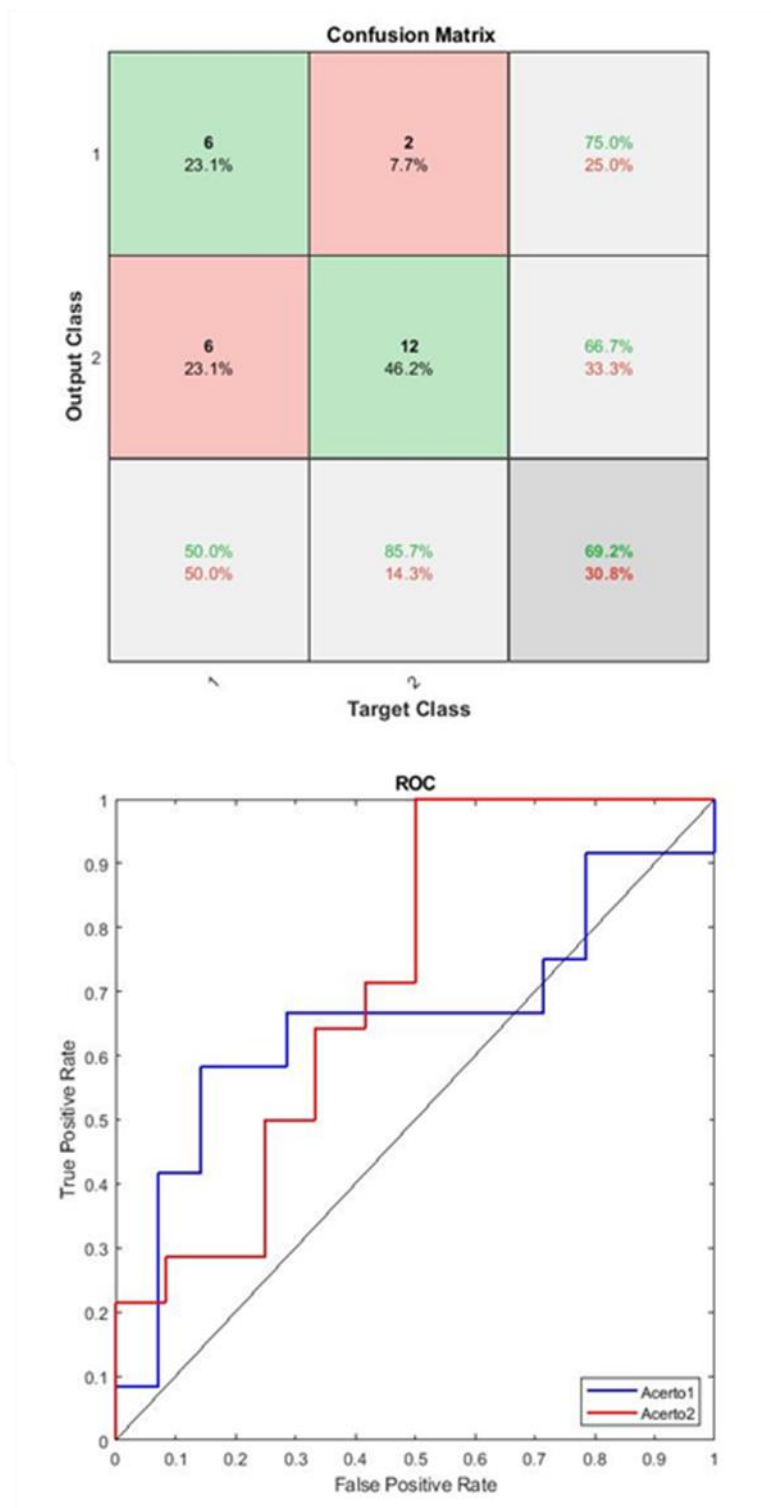
**Figura 6.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de treinamento, considerando a REDE MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES (com diagnósticos específicos de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE – MORFOLOGIA, MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



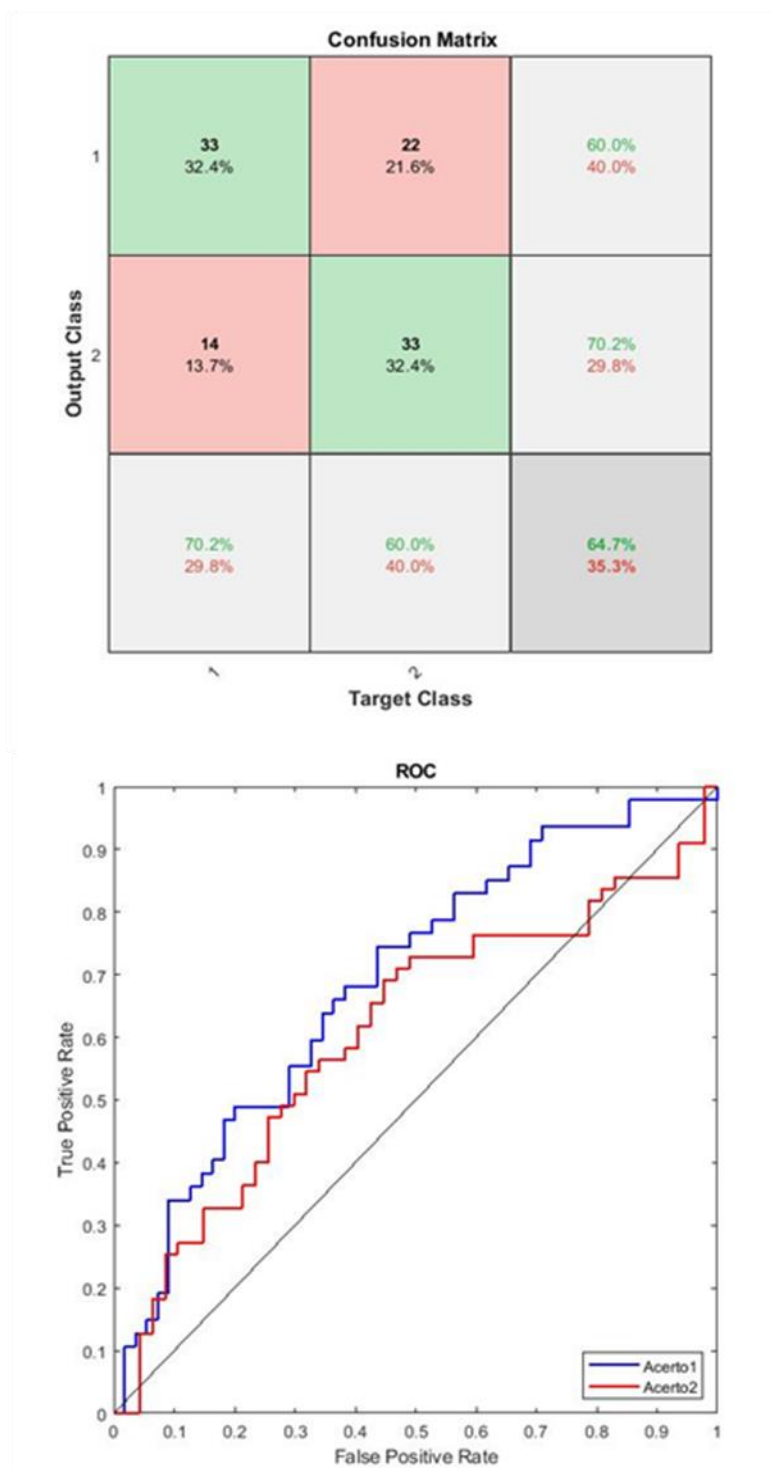
**Figura 7.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste, considerando a REDE MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES (com diagnósticos específicos de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## SIMULAÇÃO – MORFOLOGIA, MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



**Figura 8.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de simulação, considerando a REDE MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES (com diagnósticos específicos de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE-CEGO – MORFOLOGIA, MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



**Figura 9.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste-cego, considerando a REDE MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES (com diagnósticos específicos de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela 14.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES (com diagnósticos específicos de infertilidade).

<b>TABELA 14</b>	
<b>VALORES DE AUC</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	1,0000
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9993
AUC Teste – EUPLOIDE	0,7321
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,7143
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,6548
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,7202
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,6886
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,6066

De maneira geral, as RNAs obtidas apresentaram acurácia menor que 70% em algumas etapas. Todavia, as RNAs com o uso das variáveis da paciente e celulares (sem diagnóstico específico para as causas de infertilidade), da morfologia com as variáveis da paciente e celulares (sem diagnóstico específico para as causas de infertilidade) e da morfologia, da morfocinética e variáveis da paciente e celulares (sem ou com o diagnóstico específico para as causas de infertilidade), apresentaram acurácia maior que 60% em todas as etapas.

Os resultados de todos os conjuntos e combinações de variáveis, com exceção do apresentado neste item, estão no Apêndice 1, com seus respectivos gráficos das curvas ROC, valores de AUC e matrizes de confusão.

## **8. DISCUSSÃO**

Neste trabalho, foi aplicada a técnica de IA, em particular uma associação entre as técnicas de RNAs e AGs, para a adaptação do software, com a finalidade de predição da ploidia de embriões humanos. Para isso, utilizamos as variáveis morfológicas, morfocinéticas e as da paciente com as variáveis celulares, em conjunto ou não.

Quando consideramos apenas as variáveis morfológicas, consideramos aquelas que representam matematicamente todo o embrião em termos de homogeneidade, textura, intensidade das bordas, entre outras características da imagem. Foi identificada uma IA com

acerto geral de 98,4% no treinamento, de 61,9% no teste, de 58,0% na simulação e de 57,1% no teste-cego.

Uma observação importante é que embriões em estágio de blastocisto apresentam maior taxa de euploidia, se comparada aos embriões em estágio de clivagem. Isto ocorre devido ao mecanismo de auto-correção das células embrionárias durante o desenvolvimento pré-implantacional. Ou seja, podemos encontrar maior taxa de embriões aneuploides quando consideramos a avaliação no estágio de clivagem (Maxwell *et al.*, 2016; Munné e Wells, 2017). Isto torna a classificação de blastocistos mais interessante do que aquela realizada em estágio de clivagem. Este é um ponto positivo quando levamos em consideração que este estudo utilizou imagens de embriões em estágio de blastocisto.

O modelo de IA proposto por Chavez-Badiola *et al.* (2020b), utilizando dados morfológicos, classificou com sucesso os blastocistos relação à ploidia. A acurácia da predição geral foi de 70,0%, sendo de 79,0% para embriões euploides, considerando os dados do teste. Foram resultados relevantes, principalmente quando consideramos a classificação para euploidia. Eles usaram um total de 1.231 imagens de embriões, derivadas de microscópios invertidos. Os resultados de Chavez-Badiola *et al.* (2020b) podem evidenciar a importância de um banco de dados maior para o treinamento de RNAs, em contrapartida com as 500 imagens usadas para este presente estudo.

Com relação ao conjunto que possui somente as variáveis da morfocinética, identificamos uma IA com acerto geral de 94,3% no treinamento, de 71,1% no teste, de 59,4% na simulação e de 64,0% no teste-cego.

Se levarmos em consideração que os dados da morfocinética não são pegos de forma totalmente automática por um software, ainda há influência da subjetividade intra e inter-observacional durante as avaliações, já que a obtenção e análise destes dados demandam a figura de um embriologista (Wong *et al.*, 2013; Armstrong *et al.*, 2014; Racowsky *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2021). Essa informação demonstra uma limitação deste presente estudo, corroborando com os resultados obtidos, em que os valores das acurácias da simulação e do teste-cego foram menores que 70% para esta RNA.

Em geral, os parâmetros morfocinéticos podem ajudar a distinguir entre embriões euploides e aneuploides, mas, por si só, não são suficientes para substituir a biópsia embrionária. Se pudermos considerar outros parâmetros como os morfológicos, as características da paciente e embrionárias, juntamente com os dados morfocinéticos, pode haver métodos mais precisos e práticos para a seleção com relação à ploidia embrionária,

como também pode ser observado em outros trabalhos (Reignier *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2021).

Com relação apenas às variáveis da paciente e celulares, quando aplicado o diagnóstico não específico das causas de infertilidade, a IA obteve um acerto geral de 80,4% no treinamento, de 65,2% no teste, de 67,6% na simulação e de 63,4% no teste cego. Já com relação à aplicação dos diagnósticos específicos para as causas da infertilidade, a IA apresentou acerto geral de 79,4% no treinamento, de 69,6% no teste, de 54,1% na simulação e de 59,8% no teste-cego.

Em nosso estudo, a melhor IA obtida foi aquela com a aplicação conjunta das variáveis de entrada da morfologia, da morfocinética e da paciente em união com as variáveis celulares, quando consideramos os diagnósticos específicos das causas de infertilidade. Nesta IA, o acerto geral foi de 98,6% no treinamento, de 80,0% no teste, de 69,2% na simulação e de 64,7% no teste-cego.

Quando consideramos os resultados do uso das variáveis em conjunto, verificamos que o maior número de variáveis pode ter favorecido o aprendizado das RNAs, quando comparado à menor quantidade de variáveis.

No estudo de Huang *et al.* (2021), o modelo preditivo proposto alcançou uma acurácia de 80,0% nos dados do teste para a predição de embriões euploides, aplicando algumas variáveis morfológicas, morfocinéticas e dados da paciente. Comparando com nosso trabalho, Huang *et al.* (2021) utilizou um número maior de dados (1803 embriões), o que pode estar correlacionado aos resultados obtidos.

Em outro estudo, Aparicio Ruiz *et al.* (2021) treinou uma RNA com variáveis morfológicas e morfocinéticas, considerando também a concentração de Interleucina-6 nas amostras de cultura de embriões. Esta RNA permitiu a distinção entre embriões euploides e aneuploides com acurácia de 65,0%, nos dados de teste. Isto significa que a análise de meios de cultura de embriões também pode ser uma variável potencial a ser aplicada para distinguir a ploidia e para a predição de outros resultados clínicos (Aparicio Ruiz *et al.*, 2021; Bori *et al.*, 2021).

Desta forma, podemos verificar que há uma enorme quantidade e diferentes tipos de dados que podem ser usados para os algoritmos de IA, bem como uma gama de combinações possíveis de algoritmos e arquiteturas para melhor se adequar a um determinado problema da RHA.

Neste presente trabalho, uso de todas as variáveis em conjunto, permitiu a identificação da melhor RNA, o que evidencia a complexidade biológica envolvida no

desenvolvimento embrionário-fetal, correlacionando a influência materna, paterna e embrionária sobre ploidia.

Em relação aos resultados obtidos neste trabalho, acreditamos que um aumento substancial do banco de dados pode levar a uma melhora nas acurácias, visto que a IA aprende com informações prévias. Dados multicêntricos também podem auxiliar na obtenção de RNAs com maiores acurácias.

## **9. CONCLUSÃO**

A hipótese deste estudo foi refutada, uma vez que determinadas acurácias foram menores que 70%, considerando os diferentes conjuntos de variáveis de entrada. Apesar disso, podemos concluir que a técnica de IA é uma ferramenta potencialmente útil para a predição da ploidia embrionária. Isto porque, algumas acurácias obtidas neste estudo foram próximas a 70%.

Dessa forma, com os dados utilizados e as diferentes IAs obtidas, podemos destacar que a ploidia embrionária pode ser influenciada tanto por aspectos do desenvolvimento embrionário, quanto pelas características maternas e paternas. Tudo isso demonstra a complexidade biológica envolvida e a influência das diversas variáveis sobre o desenvolvimento embrionário-fetal, especificamente sobre a ploidia embrionária.

## **10. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Vislumbramos que a IA é uma técnica potencial para viabilizar a análise genética embrionária de uma forma menos invasiva, a baixo custo e de uma forma objetiva.

Acreditamos que para a aplicação da IA na previsão da ploidia embrionária, em clínicas de RHA, ainda são necessários estudos prospectivos e não somente retrospectivos, como foi o caso desta pesquisa. Além disso, uma interface amigável homem-máquina de fácil acesso para médicos e embriologistas é indispensável para essa realidade.

## **11. FINANCIAMENTO**

O presente trabalho foi realizado e financiado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## 12. REFERÊNCIAS

ABIODUN, O. I.; JANTAN, A.; OMOLARA, A. E.; DADA, K. V.; MOHAMED, N. A. E.; ARSHAD, H. State-of-the-art in artificial neural network applications: A survey. **Heliyon**, v. 4, n. 11, p. e00938, 2018.

APARICIO RUIZ, B.; BORI, L.; PAYA, E.; VALERA, M. A.; QUIÑONERO, A.; DOMINGUEZ, F.; MESEGUER, M. P-203 Applying artificial intelligence for ploidy prediction: The concentration of IL-6 in spent culture medium, blastocyst morphological grade and embryo morphokinetics as variables under consideration. **Human Reproduction**, v. 36, n. Supplement\_1, p. deab127. 066, 2021.

ARMSTRONG, S.; VAIL, A.; MASTENBROEK, S.; JORDAN, V.; FARQUHAR, C. Time-lapse in the IVF-lab: how should we assess potential benefit?. **Human Reproduction**, v. 30, n. 1, p. 3-8, 2014.

ATHERTON, T.J.; KERBYSON, D.J. Size invariant circle detection. **Image and Vision Computing**, 1999.

BABAKHANZADEH, E.; NAZARI, M.; GHASEMIFAR, S.; KHODADADIAN, A. Some of the factors involved in male infertility: a prospective review. **International journal of general medicine**, v. 13, p. 29, 2020.

BABARIYA, D.; FRAGOULI, E.; ALFARAWATI S.; SPATH, K.; WELLS, D. The incidence and origin of segmental aneuploidy in human oocytes and preimplantation embryos. **Human Reproduction**, v. 32, n. 12, p. 2549-2560, 2017.

BALAKIER, H.; SOJECKI, A.; MOTAMEDI, G.; LIBRACH, C. Impact of multinucleated blastomeres on embryo developmental competence, morphokinetics, and aneuploidy. **Fertility and sterility**, v. 106, n. 3, p. 608-614. e2, 2016.

BASHEER, I. A.; HAJMEER, M. Artificial neural networks: fundamentals, computing, design, and application. **Journal of microbiological methods**, v. 43, n. 1, p. 3-31, 2000.

BORI, L.; DOMINGUEZ, F.; FERNANDEZ, E. I.; DEL GALLEGO, R.; ALEGRE, L.; HICKMAN, C.; QUIÑONERO, A.; NOGUEIRA, M. F. G.; ROCHA, J. C.; MESEGUER, M. An artificial intelligence model based on the proteomic profile of euploid embryos and blastocyst morphology: a preliminary study. *Reproductive BioMedicine Online*, v. 42, n. 2, p. 340-350, 2021.

BORMANN, C. L.; THIRUMALARAJU, P.; KANAKASABAPATHY, M. K.; KANDULA, H.; SOUTER, I.; DIMITRIADIS, I.; ET AL. Consistency and objectivity of automated embryo assessments using deep neural networks. **Fertility and sterility**. 113:781-787, 2020.

BORMANN, C. L.; CURCHOE, C. L.; THIRUMALARAJU, P.; KANAKASABAPATHY, M. K.; GUPTA, R.; POONIWALA, R.; KANDULA, H.; SOUTER, I.; DIMITRIADIS, I.; SHAFIEE, H. Deep learning early warning system for embryo culture conditions and embryologist performance in the ART laboratory. **Journal of assisted reproduction and genetics**, p. 1-6, 2021.

BOUILLON, C.; CELTON, N.; KASSEM, S.; FRAPSAUCE, C.; GUÉRIF, F. Obstetric and perinatal outcomes of singletons after single blastocyst transfer: is there any difference according to blastocyst morphology?. **Reproductive biomedicine online**, v. 35, n. 2, p. 197-207, 2017.

BRAGA, A. P.; CARVALHO, A. P. L. F.; LUDERMIR, T. B. Redes neurais artificiais: teoria e prática. **Editora LTC**, 2000.

BUTLER, R.; NAKHUDA, G.; GUIMOND, C.; JING, C.; LEE, N.; HITKARI, J.; Tallon, N.; Taylor, B.; YUZPE, A. Analysis of PGT-M and PGT-SR outcomes at a Canadian fertility clinic. **Prenatal Diagnosis**, v. 39, n. 10, p. 866-870, 2019.

CAMPBELL, A.; FISHEL, S.; BOWMAN, N.; DUFFY, S.; SEDLER, M.; HICKMAN, C. F. L. Modelling a risk classification of aneuploidy in human embryos using non-invasive morphokinetics. **Reproductive biomedicine online**, v. 26, n. 5, p. 477-485, 2013.

CAPALBO, A.; RIENZI, L.; CIMADOMO, D.; MAGGIULLI, R.; ELLIOTT, T.; WRIGHT, G.; NAGY, Z. P.; UBALDI, F. M. Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. **Human reproduction**, 29.6: 1173-1181; 2014.

CARR, J. **An Introduction to Genetic Algorithms**. Whitman College Mathematics Department, p. 1–40, 2014.

CHAKRABARTY, A.; DE, A.; DUBEY, R. An excursion towards multi-frequency-prediction based flexible asset allocation system. **Global Journal of Flexible Systems Management**, v. 16, p. 173–190, 2015.

CHAVEZ, S.; LOEWKE, K. E.; HAN, J.; MOUSSAVI, F.; COLLS, P.; MUNNE, S.; BEHR, B.; PERA, R. A. R. Dynamic blastomere behaviour reflects human embryo ploidy by the four-cell stage. **Nature communications**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2012.

CHAVEZ-BADIOLA, A.; FLORES-SAI, A.; MENDIZABAL-RUIZ, G. Predicting pregnancy test results after embryo transfer by image feature extraction and analysis using machine learning. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 4394, 2020a.

CHAVEZ-BADIOLA, A.; FLORES-SAIFFE-FARÍAS, A.; MENDIZABAL-RUIZ, G.; DRAKELEY, A. J.; COHEN, J. Embryo Ranking Intelligent Classification Algorithm (ERICA): artificial intelligence clinical assistant predicting embryo ploidy and implantation. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 41, n. 4, p. 585-593, 2020b.

CHÉLES, D. S.; FERREIRA, A. S.; DE JESUS, I. S.; FERNANDEZ, E. I.; PINHEIRO, G. M.; DAL MOLIN, E. A.; ALVES, W.; SOUZA, R. C. M.; BORI, L.; MESEGUER, M.; ROCHA, J. C.; NOGUEIRA, M. F. G. An image processing protocol to extract variables predictive of human embryo fitness for assisted reproduction. **Applied Sciences**, v. 12, n. 7, p. 3531, 2022.

CONAGHAN, J.; CHEN, A. A.; WILLMAN, S. P.; IVANI, K.; CHENETTE, P. E.; BOOSTANFAR R.; BAKER, V. L.; ABUSIEF, G. D.; GVAKHARIA M.; LOEWKE, K. E.; SHEN, S. Improving embryo selection using a computer-automated time-lapse image analysis test plus day 3 morphology: results from a prospective multicenter trial. **Fertility and sterility**, v. 100, n. 2, p. 412-419.e5, 2013.

COTICCHIO, G.; LAGALLA, C.; STURMEY, R.; PENNETTA, F.; BORINI, A. The enigmatic morula: mechanisms of development, cell fate determination, self-correction and implications for ART. **Human reproduction update**, v. 25, n. 4, p. 422-438, 2019.

CRUZ, M.; GARRIDO, N.; HERRERO, J.; PÉREZ-CANO, I.; MUÑOZ, M.; MESEGUER, M. Timing of cell division in human cleavage-stage embryos is linked with blastocyst formation and quality. **Reproductive biomedicine online**, v. 25, n. 4, p. 371-381, 2012.

DE GEYTER, C. More than 8 Million Babies Born from IVF since the World's First in 1978. **European Society of Human Reproduction and Embryology Press Release**. [www.eshre.eu/ESHRE2018/Media/ESHRE-2018-Press-releases/De-Geyter.spx](http://www.eshre.eu/ESHRE2018/Media/ESHRE-2018-Press-releases/De-Geyter.spx), accessed October, v. 26, p. 2018, 2018.

DESAI, N.; GOLDBERG, J. M.; AUSTIN, C.; FALCONE, T. Are cleavage anomalies, multinucleation, or specific cell cycle kinetics observed with time-lapse imaging predictive of embryo developmental capacity or ploidy?. **Fertility and sterility**, v. 109, n. 4, p. 665-674, 2018.

DIRVANAUSKAS, D.; MASKELIUNAS, R.; RAUDONIS, V.; DAMASEVICIUS, R. Embryo development stage prediction algorithm for automated time lapse incubators. **Comput Methods Programs Biomed**. 2019.

DYER, S.; CHAMBERS, G. M.; MOUZON, J.; NYGREN, K. G.; ZEGERS-HOCHSCHILD, F.; MANSOUR, R.; ISHIHARA, O.; BANKER, M.; ADAMSON, G. D. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology 2008, 2009 and 2010. **Human reproduction**, v. 31, n. 7, p. 1588-1609, 2016.

ESHRE CAPRI WORKSHOP GROUP. Fertility and ageing. **Human reproduction update**, v. 11, n. 3, p. 261-276, 2005.

ESHRE SPECIAL INTEREST GROUP OF EMBRYOLOGY; ALPHA SCIENTISTS IN REPRODUCTIVE MEDICINE. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. **Human Reproduction**, 26.6: 1270-1283, 2011.

ESHRE WORKING GROUP ON TIME-LAPSE TECHNOLOGY et al. Good practice recommendations for the use of time-lapse technology. **Human reproduction open**, v. 2020, n. 2, p. hoaa008, 2020.

FRAGOULI, E.; ALFARAWATI, S.; SPATH, K.; SARASA, J.; ENCISO, M.; JAROUDI, S.; GRIFFITHS, T.J.; SPENCER, J.; ROGERS, S.; SAGE, K.; THORNHILL, A.; WELLS, D. The origin and impact of embryonic aneuploidy. **Human genetics**, 132.9: 1001-1013, 2013.

FRIEDENTHAL, J.; HERNANDEZ-NIETO, C.; ROTH, R. M.; SLIFKIN, R.; GOUNKO, D.; LEE, J. A.; NAZEM T.; BRITON-JONES, C.; COPPERMAN, A. Clinical implementation of algorithm-based embryo selection is associated with improved pregnancy outcomes in single vitrified warmed euploid embryo transfers. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, p. 1-7, 2021.

FUJIMOTO, V. Y.; BROWNE, R. W.; BLOOM, M. S; SAKKAS, D.; ALIKANI, M. Pathogenesis, developmental consequences, and clinical correlations of human embryo fragmentation. **Fertility and sterility**, v. 95, n. 4, p. 1197-1204, 2011.

GALLEGO, R. D.; REMOHÍ, J.; MESEGUER, M. Time-lapse imaging: the state of the art. **Biology of reproduction**, v. 101, n. 6, p. 1146-1154, 2019.

GARDNER, D. K.; SCHOOLCRAFT, W. B. In vitro culture of human blastocysts. Towards Reproductive Certainty: **Fertility and Genetics Beyond**, p. 378-388, 1999.

GERAEDTS, J.; SERMON, K. Preimplantation genetic screening 2.0: the theory. **MHR: Basic science of reproductive medicine**, 22.8: 839-844, 2016.

GLEICHER, N.; VIDALI, A.; BRAVERMAN, J.; KUSHNIR, V. A.; BARAD, D. H.; HUDSON, C.; WU, Y. G.; WANG, Q.; ZHANG, L.; ALBERTINI, D. F. Accuracy of preimplantation genetic screening (PGS) is compromised by degree of mosaicism of human embryos. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 14, n. 1, p. 54, 2016.

GLEICHER, N.; ALBERTINI, D. F.; BARAD, D. H.; HOMER, H.; MODI, D. MURTINGER, M.; PATRIZIO, P.; ORVIETO, R.; TAKAHASHI, S.; WEGHOFFER, A.; ZIEBE, S.; NOYES, N. & FOR THE INTERNATIONAL DO NO HARM GROUP IN IVF (IDNHG-IVF). The 2019 PGDIS position statement on transfer of mosaic embryos within a context of new information on PGT-A. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 18, n. 1, p. 1-8, 2020.

GOLDMAN, K. N.; HODES-WERTZ, B.; MCCULLOH, D. H.; FLOM, J. D.; GRIFO, J. A. Association of body mass index with embryonic aneuploidy. **Fertility and sterility**, v. 103, n. 3, p. 744-748, 2015.

GRIFFIN, D. K.; OGUR, C. Chromosomal analysis in IVF: just how useful is it?. **Reproduction**, v. 156, n. 1, p. F29-F50, 2018.

GUO, X.; NI, J.; LIANG, Z.; XUE, J.; FENECH, M. F.; WANG, X. The molecular origins and pathophysiological consequences of micronuclei: New insights into an age-old problem. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 779, p. 1-35, 2019.

HAYKIN, S. Redes neurais: princípios e prática. **Bookman Editora**, 2007.

HUANG, B.; TAN, W.; LI, Z.; JIN, L. An artificial intelligence model (euploid prediction algorithm) can predict embryo ploidy status based on time-lapse data. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2021.

IMTERAT, M.; AGARWAL, A.; ESTEVES, S. C.; MEYER, J.; HARLEV, A. Impact of Body Mass Index on female fertility and ART outcomes. **Panminerva Med**, v. 61, n. 1, p. 58-67, 2019.

JUNEAU, C.; KRAUS, E.; WERNER, M.; FRANASIAC, J.; MORIN, S.; PATOUNAKIS, G.; MOLINARO, T.; ZIEGLER, D.; SCOTT, R. T. Patients with endometriosis have aneuploidy rates equivalent to their age-matched peers in the in vitro fertilization population. **Fertility and Sterility**, v. 108, n. 2, p. 284-288, 2017.

KALPANA, R.; CHITRA, M.; VIJAYALAKSHMI, K. Pattern classification of EEG signals on different states of cognition using linear and nonlinear classifiers. *Research Journal of Applied Sciences*. **Engineering and Technology**, v. 11, p. 623-629, 2015.

KHOSRAVI, P.; KAZEMI, E.; ZHAN, Q.; MALMSTEN, J. E.; TOSCHI, M.; ZISIMOPOULOS, P.; SIGARAS, A.; LAVERY, S.; COOPER, L. A. D.; HICKMAN, C.; MESEGUER, M.; ROSENWAKS, Z.; ELEMENTO, O.; ZANINOVIC, N.; HAJIRASOULIHA, I. Deep learning enables robust assessment and selection of human blastocysts after in vitro fertilization. **Digital Medicine**. 2019.

KIRKEGAARD, K.; AHLSTRÖM, A.; INGERSLEV, H. J.; HARDARSON, T. Choosing the best embryo by time lapse versus standard morphology. **Fertility and sterility**, v. 103, n. 2, p. 323-332, 2015.

KORT, J. D.; MCCOY, R. C.; DEMKO, Z.; LATHI, R. B. Are blastocyst aneuploidy rates different between fertile and infertile populations?. **Journal of assisted reproduction and genetics**, v. 35, n. 3, p. 403-408, 2018.

KOVÁCS, Z. L. Redes neurais artificiais. **Editora Livraria da Fisica**, 2002.

KROGH, A. What are artificial neural networks? **Nature biotechnology**, v. 26, n. 2, p. 195, 2008.

KUNG, A.; MUNNÉ, S.; BANKOWSKI, B.; COATES, A.; WELLS, D. Validation of next-generation sequencing for comprehensive chromosome screening of embryos. **Reproductive biomedicine online**, v. 31, n. 6, p. 760-769, 2015.

LACERDA, E. G. M.; CARVALHO, A.C.P.L. F. **Introdução aos algoritmos genéticos**. v. 1, p. 99-148, 1999.

MASCARENHAS, M. N.; FLAXMAN S. R.; BOERMA, T.; VANDERPOEL, S.; STEVENS, G. A. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. **PLoS medicine**, v. 9, n. 12, p. e1001356, 2012.

MIKWAR, M.; MACFARLANE, Amanda J.; MARCHETTI, Francesco. Mechanisms of oocyte aneuploidy associated with advanced maternal age. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, p. 108320, 2020.

MUST, A.; SPADANO, J.; COAKLEY, E. H.; FIELD, A. E.; COLDITZ, G.; DIETZ, W. H. The disease burden associated with overweight and obesity. *Jama*, v. 282, n. 16, p. 1523-1529, 1999.

LEDFORD, H. IVF at 40: revisiting the revolution in assisted reproduction. **Nature**, 2018.

LETTERIE, Gerard. Three ways of knowing: the integration of clinical expertise, evidence-based medicine, and artificial intelligence in assisted reproductive technologies. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, p. 1-9, 2021.

MAJUMDAR, G.; MAJUMDAR, A.; VERMA, I. C.; UPADHYAYA, K. C. Relationship between morphology, euploidy and implantation potential of cleavage and blastocyst stage embryos. **Journal of human reproductive sciences**, v. 10, n. 1, p. 49, 2017.

MANTIKOU, E.; YOUSSEF, M. A. F. M.; VAN WELY, M.; VAN DER VEEN, F.; AL-INANY H. G.; REPPING S., MASTENBROEK, S. Embryo culture media and IVF/ICSI success rates: a systematic review. **Human reproduction update**, v. 19, n. 3, p. 210-220, 2013.

MARMOL, U. Use of Gabor filters for texture classification of airborne images and IDAR data. **ArchiwumFotogrametrii, KartografiiiTeledetekcji**, v. 22, p. 325–336, 2011.

MATOS, F. D.; ROCHA, J. C.; NOGUEIRA, M. F. G. A method using artificial neural networks to morphologically assess mouse blastocyst quality. **Journal of animal Science and technology**, v. 56, n. 1, p. 15, 2014.

MATOS, F. D. Software baseado em rede neural artificial desenvolvida por meio de algoritmo genético para a classificação morfológica de blastocistos bovinos. 2014. 129 f. **Dissertação - Mestrado em Biociências. Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2014.**

MAXWELL, S. M.; COLLS, P.; HODES-WERTZ, B.; MCCULLOH, D. H.; MCCAFFREY, C.; WELLS, D.; MUNNÉ, S.; GRIFO, J. A. Why do euploid embryos miscarry? A case-control study comparing the rate of aneuploidy within presumed euploid embryos that resulted in miscarriage or live birth using next-generation sequencing. **Fertility and sterility**, v. 106, n. 6, p. 1414-1419. e5, 2016.

MESEGUER, M.; HERRERO, J.; TEJERA, A.; HILLIGSOE, K. M.; RAMSING, N. B.; REMOHI, J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. **Human reproduction**, v. 26, n. 10, p. 2658-2671, 2011.

MOTATO, Y.; DE LOS SANTOS, M. J.; ESCRIBA, M. J.; RUIZ, B. A.; REMOHÍ, J.; MESEGUER, M. Morphokinetic analysis and embryonic prediction for blastocyst formation through an integrated time-lapse system. **Fertility and sterility**, v. 105, n. 2, p. 376-384. e9, 2016.

MUNNÉ, S.; WELLS, D. Detection of mosaicism at blastocyst stage with the use of high-resolution next-generation sequencing. **Fertility and sterility**, v. 107, n. 5, p. 1085-1091, 2017.

PAIM, L. M. G.; FITZHARRIS, G. The impact of embryo binucleation depends upon its origin. **Reproduction**, v. 160, n. 1, p. V1-V4, 2020.

PAULSON, Richard J. Preimplantation genetic screening: what is the clinical efficiency?. **Fertility and Sterility**, v. 108, n. 2, p. 228-230, 2017.

PETRAGLIA, F.; SEROUR, G. I.; CHAPRON, C. The changing prevalence of infertility. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 123, p. S4-S8, 2013.

POZO, A.; CAVALHEIRO, A. D. F.; ISHIDA, C.; SPINOSA, E.; RODRIGUES, E. M. **Computação Evolutiva**, Departamento de Informática, Universidade Federal do Paraná, p. 61, 2011.

PRIBENSZKY, C.; MÁTYÁS, S.; KOVÁCS, P.; LOSONCZI, E.; ZÁDORI, J.; VAJTA, G. Pregnancy achieved by transfer of a single blastocyst selected by time-lapse monitoring. **Reproductive biomedicine online**, v. 21, n. 4, p. 533-536, 2010.

QASEMI, M.; MAHDIAN, R.; AMIDI, F. Cell-free DNA discoveries in human reproductive medicine: providing a new tool for biomarker and genetic assays in ART. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 38, n. 2, p. 277-288, 2021.

RACOWSKY, C.; KOVACS, P.; MARTINS, W. P. A critical appraisal of time-lapse imaging for embryo selection: where are we and where do we need to go?. **Journal of assisted reproduction and genetics**, 32.7: 1025-1030, 2015.

RAD, R. M.; SAEEDI, P.; AU, J.; HAVELOCK, J. Blastomere cell counting and centroid localization in microscopic images of human embryo. **IEEE 20th Int Work Multimed Signal Process MMSP 2018**. IEEE; 1-6; 2018.

REIGNIER, A.; LAMMERS, J.; BARRIERE, P.; FREOUR, T. Can time-lapse parameters predict embryo ploidy? A systematic review. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 36, n. 4, p. 380-387, 2018.

ROCHA, J. C.; PASSALIA, F. J.; MATOS, F. D.; TAKAHASHI, M. B.; CINICIATO, D. S.; MASERATI, M. P.; ALVES, M. F.; ALMEIDA, T. G.; CARDOSO, B. L.; BASSO, A. C.; NOGUEIRA, M. F. G. A method based on artificial intelligence to fully automatize the evaluation of bovine blastocyst images. **Scientific reports**, 7.1: 7659, 2017a.

ROCHA, J. C.; PASSALIA, F. J.; MATOS, F. D.; TAKAHASHI, M. B.; CINICIATO, D. S.; MASERATI, M. P.; ALVES, M. F.; ALMEIDA, T. G.; CARDOSO, B. L.; BASSO, A. C.; NOGUEIRA, M. F. G. Automatized image processing of bovine blastocysts produced in vitro for quantitative variable determination. **Scientific data**, v. 4, p. 170192, 2017b.

ROCHA, J. C., NOGUEIRA, M. F. G.; ZANINOVIC, N.; HICKMAN, C. Is AI assessment of morphokinetic data and digital image analysis from time-lapse culture predictive of implantation potential of human embryos?. **Fertility and Sterility**, v. 110, n. 4, p. e373, 2018.

RUSS, J. C. The image processing handbook. **CRC press**, 2016.

SCIORIO, R.; DATTILO, M. PGT-A preimplantation genetic testing for aneuploidies and embryo selection in routine ART cycles: Time to step back?. *Clinical Genetics*, v. 98, n. 2, p. 107-115, 2020.

SHENDURE, J.; JI, H. Next-generation DNA sequencing. **Nature biotechnology**, v. 26, n. 10, p. 1135, 2008.

SILVA, I. N.; SPATTI, D. H.; FLAUZINO, R. A. Redes neurais artificiais: para engenharia e ciências aplicadas. **São Paulo: Artliber**, 2010.

STIGLIANI, S. ANSERINI, P.; VENTURINI, P. L.; SCARUFFI, P. Mitochondrial DNA content in embryo culture medium is significantly associated with human embryo fragmentation. **Human reproduction**, v. 28, n. 10, p. 2652-2660, 2013.

SWAIN, J.; VERMILYEA, M. T.; MESEGUER, M.; EZCURRA, D. AI in the treatment of fertility: key considerations. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 37, n. 11, p. 2817-2824, 2020.

TANOMARU, J. Motivação, fundamentos e aplicações de algoritmos genéticos. In: **II Congresso Brasileiro de Redes Neurais**. p. 373-403, 1995.

TAROZZI, N. NADALINI, M.; LAGALLA, C.; COTICCHIO, G.; ZACÀ, C.; BORINI, A. Male factor infertility impacts the rate of mosaic blastocysts in cycles of preimplantation genetic testing for aneuploidy. **Journal of assisted reproduction and genetics**, v. 36, n. 10, p. 2047-2055, 2019.

TRAN, D.; COOKE, S.; ILLINGWORTH, P. J.; GARDNER, D. K. Deep learning as a predictive tool for fetal heart pregnancy following time-lapse incubation and blastocyst transfer. **Human Reproduction**. 34:1011–8; 2019.

VAN DEN ABBEEL, E.; BALABAN, B.; ZIEBE, S.; LUNDIN, K.; CUESTA, M. J. G.; KLEIN, B. M.; HELMGAARD, L.; ARCEG, J. C. Association between blastocyst morphology and outcome of single-blastocyst transfer. **Reproductive biomedicine online**, v. 27, n. 4, p. 353-361, 2013.

WATSON, P. F.; PETRIE, A. Method agreement analysis: A review of correct methodology. **Theriogenology**, v. 73, n. 9, p. 1167–1179, 2010.

WHO. **Infertility is a global public health issue**. Disponível em: <[who.int/reproductivehealth/topics/infertility/perspective/en](http://who.int/reproductivehealth/topics/infertility/perspective/en)>. Acesso em 4 de dezembro de 2022.

WONG, C.; CHEN, A. A.; BEHR, B.; SHEN, S. Time-lapse microscopy and image analysis in basic and clinical embryo development research. **Reproductive biomedicine online**, v. 26, n. 2, p.120-129, 2013.

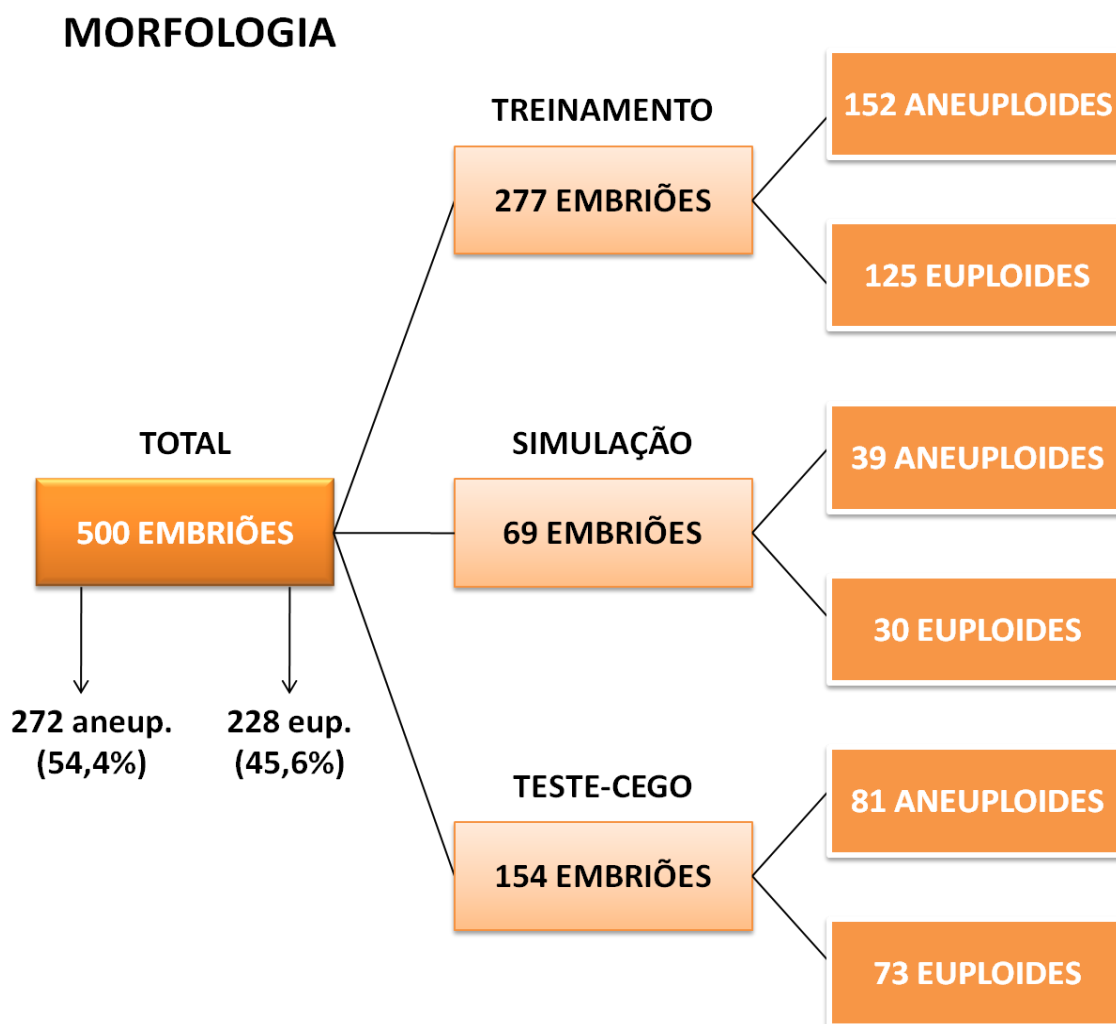
YATSENKO, S. A.; RAJKOVIC, A. Genetics of human female infertility. **Biology of reproduction**, v. 101, n. 3, p. 549-566, 2019.

ZANINOVIC, N.; ROCHA, C. J.; ZHAN, Q.; TOSCHI, M.; MALMSTEN, J.; NOGUEIRA, M. F. G.; MESEGUER, M.; ROSENWAKS, Z.; HICKMAN, C. Application of artificial intelligence technology to increase the efficacy of embryo selection and prediction of live birth using human blastocysts cultured in a time-lapse incubator. **Fertility and Sterility**, v. 110, n. 4, p. e372-e373, 2018.

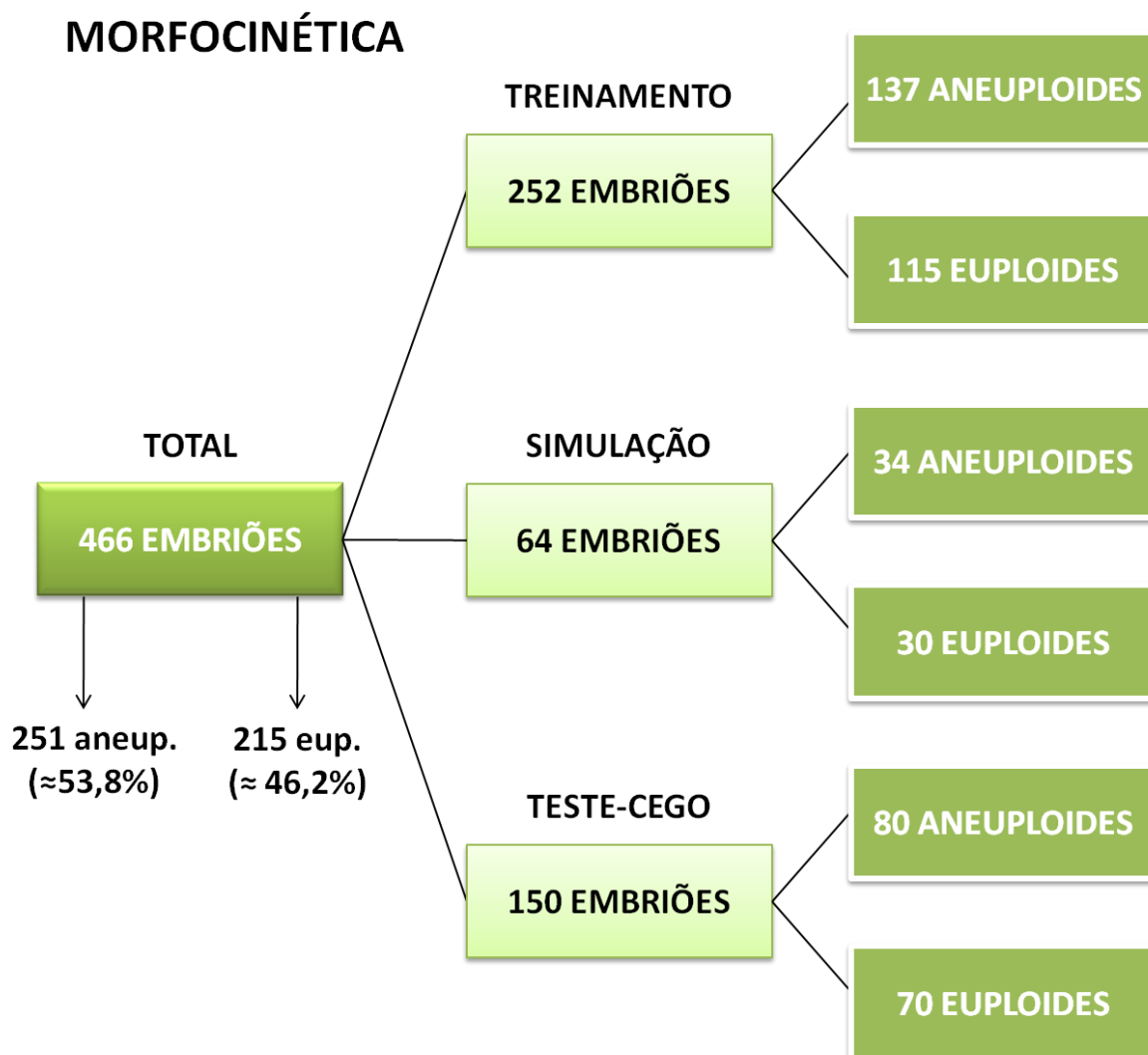
ZANINOVIC, N.; ROSENWAKS, Z. Artificial intelligence in human in vitro fertilization and embryology. **Fertility and Sterility**, v. 114, n. 5, p. 914-920, 2020.

ZHANG, W.; LIU, Y.; WANG, L.; WANG, L.; MA, M.; XU, M.; XU, X.; GAO, Z.; DUAN, J.; CRAM, D. S.; YAO, Y. Clinical application of next-generation sequencing in preimplantation genetic diagnosis cycles for Robertsonian and reciprocal translocations. **Journal of assisted reproduction and genetics**, v. 33, n. 7, p. 899-906, 2016.

**ANEXO 1.** Apresentação do número de embriões utilizados em cada conjunto de variáveis.

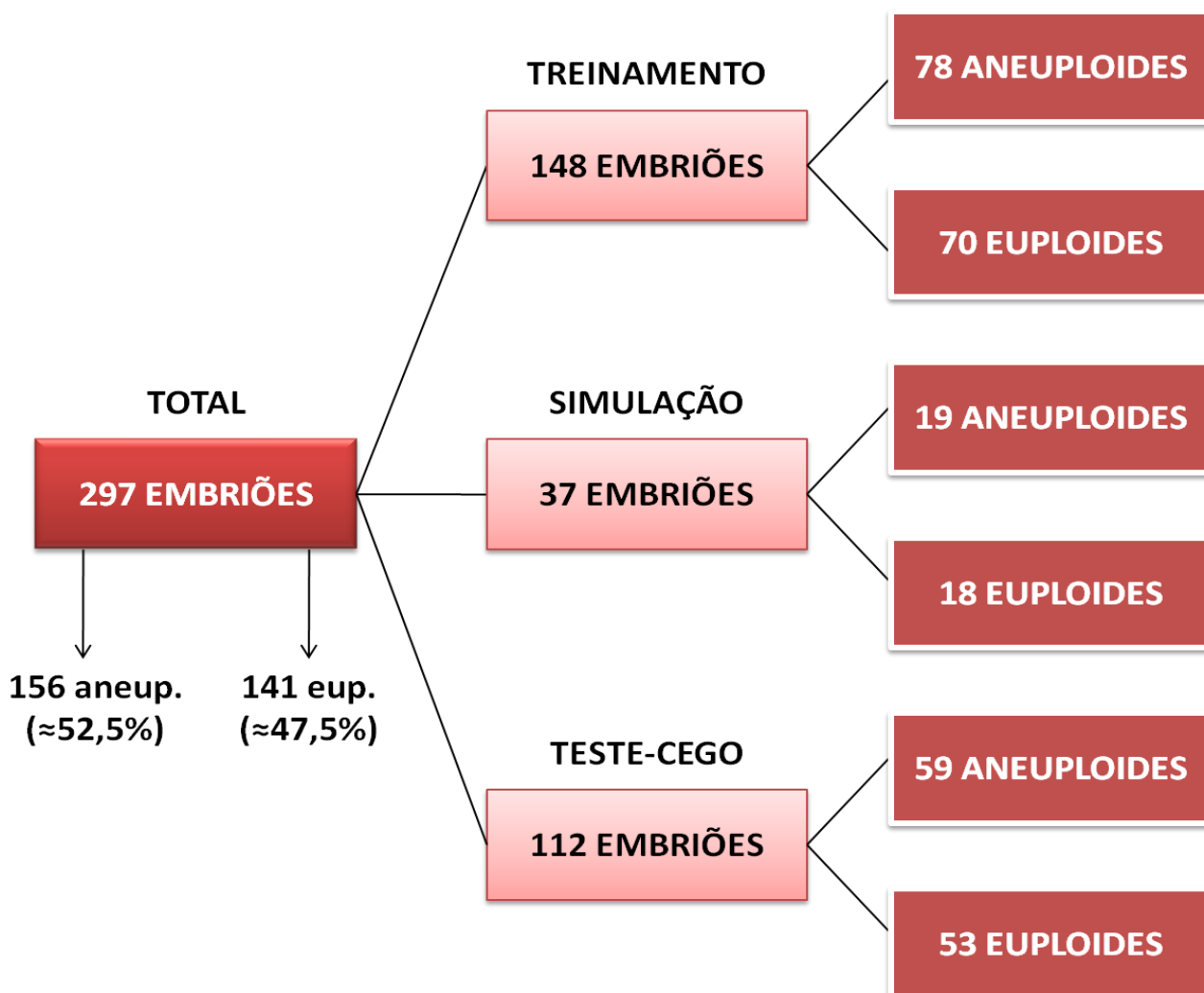


**Fluxograma 1.** Representação da quantidade de embriões utilizados para o treinamento, para a simulação e para o teste-cego, considerando as variáveis da MORFOLOGIA, apenas.



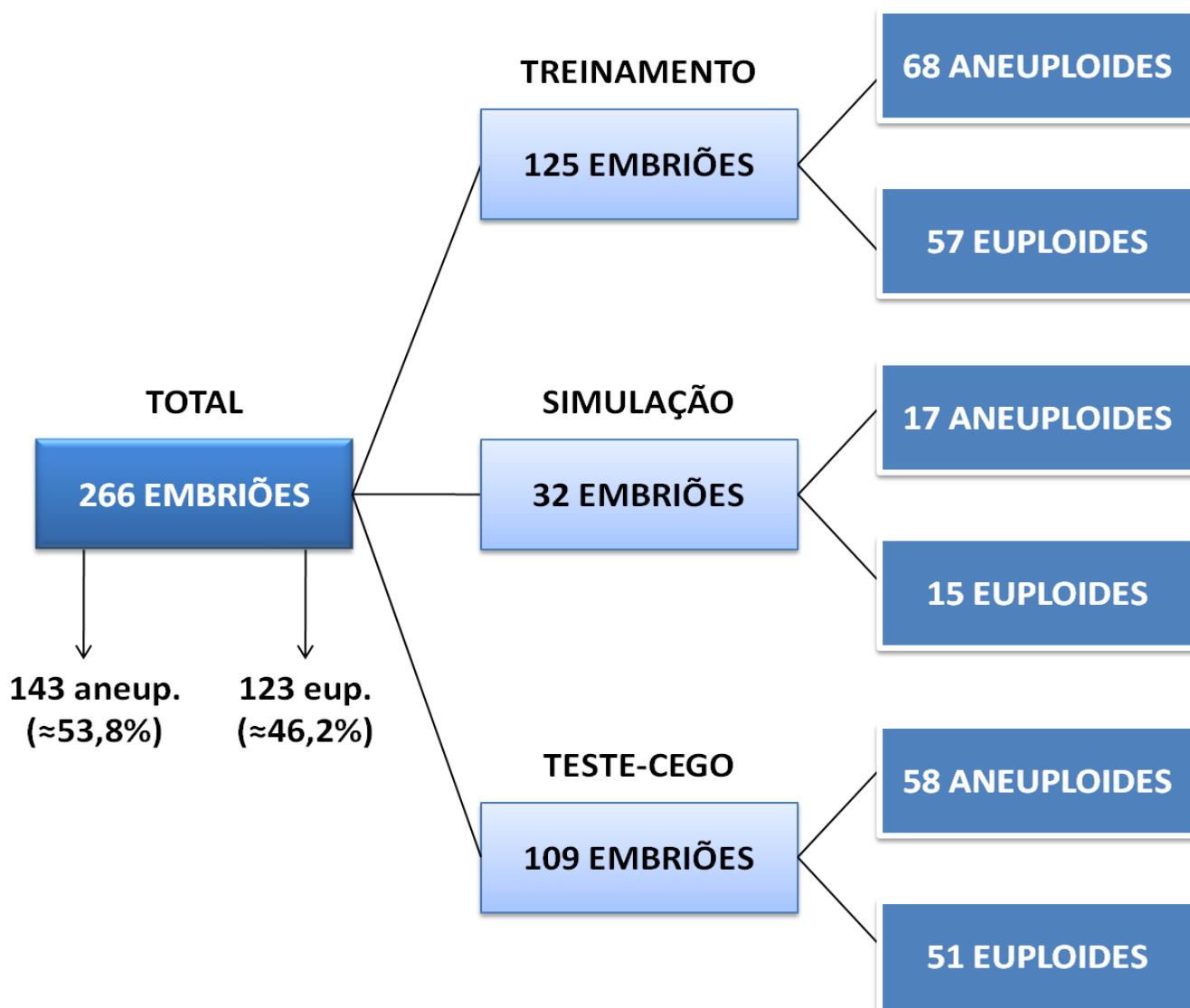
**Fluxograma 2.** Representação da quantidade de embriões utilizados para o treinamento, para a simulação e para o teste-cego, considerando as variáveis de MORFOCINÉTICA, apenas.

## PACIENTE E VARIÁVEIS CELULARES



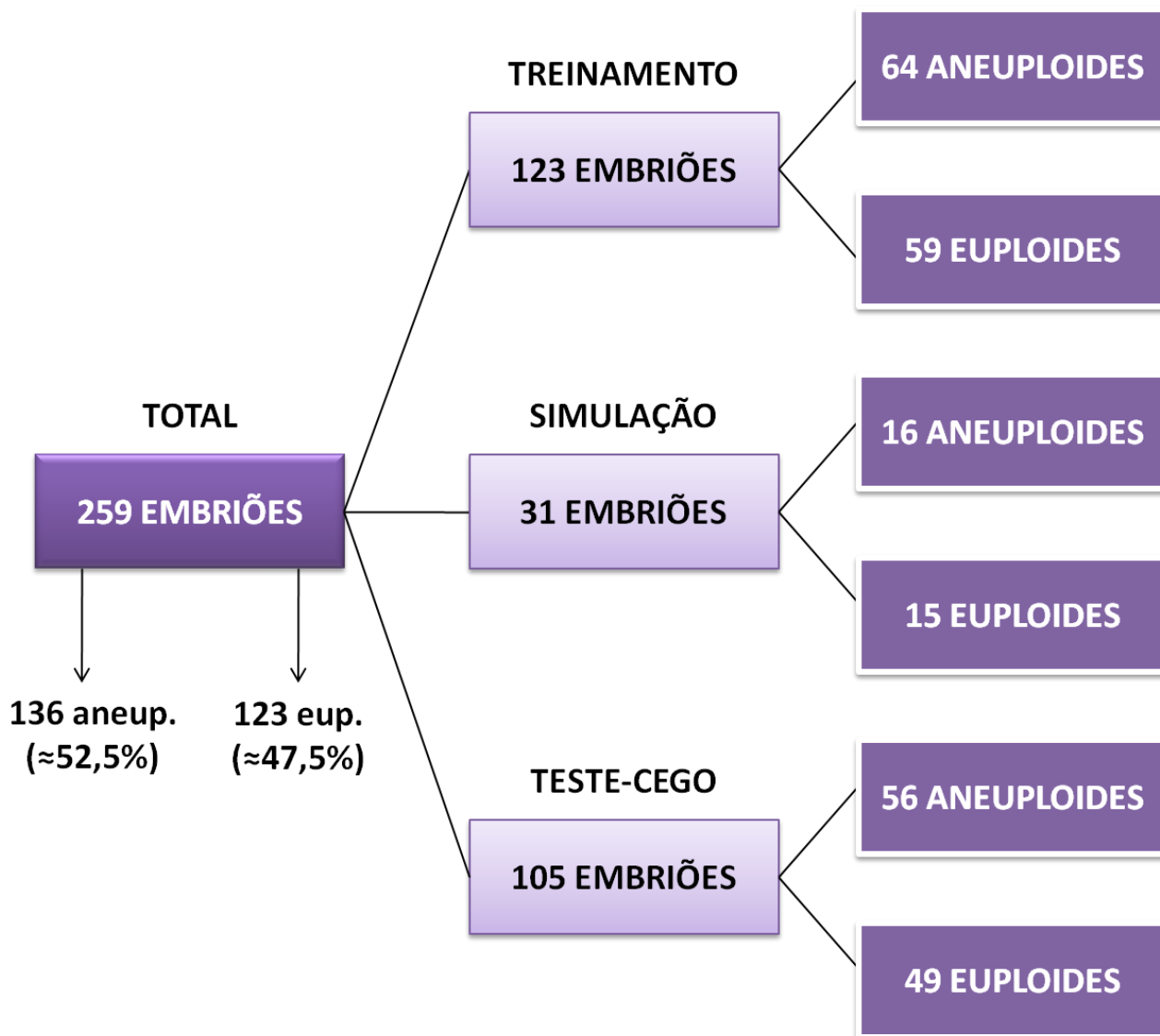
**Fluxograma 3.** Representação da quantidade de embriões utilizados para o treinamento, para a simulação e para o teste-cego, considerando as variáveis da PACIENTE e variáveis CELULARES, tanto para as análises com ou sem os diagnósticos específicos dos fatores de infertilidade.

## MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES



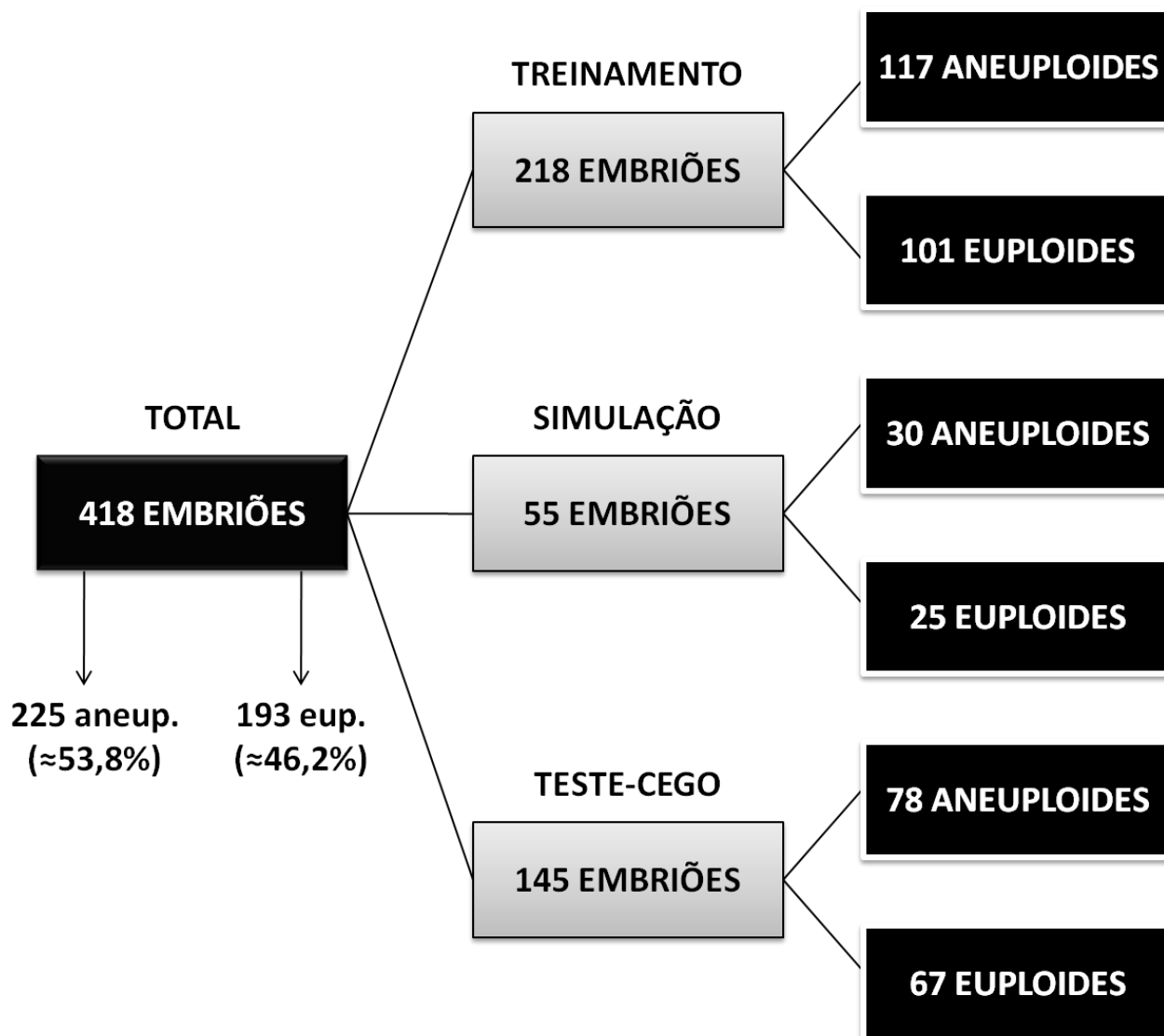
**Fluxograma 4.** Representação da quantidade de embriões utilizados para o treinamento, para a simulação e para o teste-cego, considerando as variáveis da MORFOLOGIA, da PACIENTE e as variáveis CELULARES, em conjunto, tanto para as análises com ou sem os diagnósticos específicos dos fatores de infertilidade.

## MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES



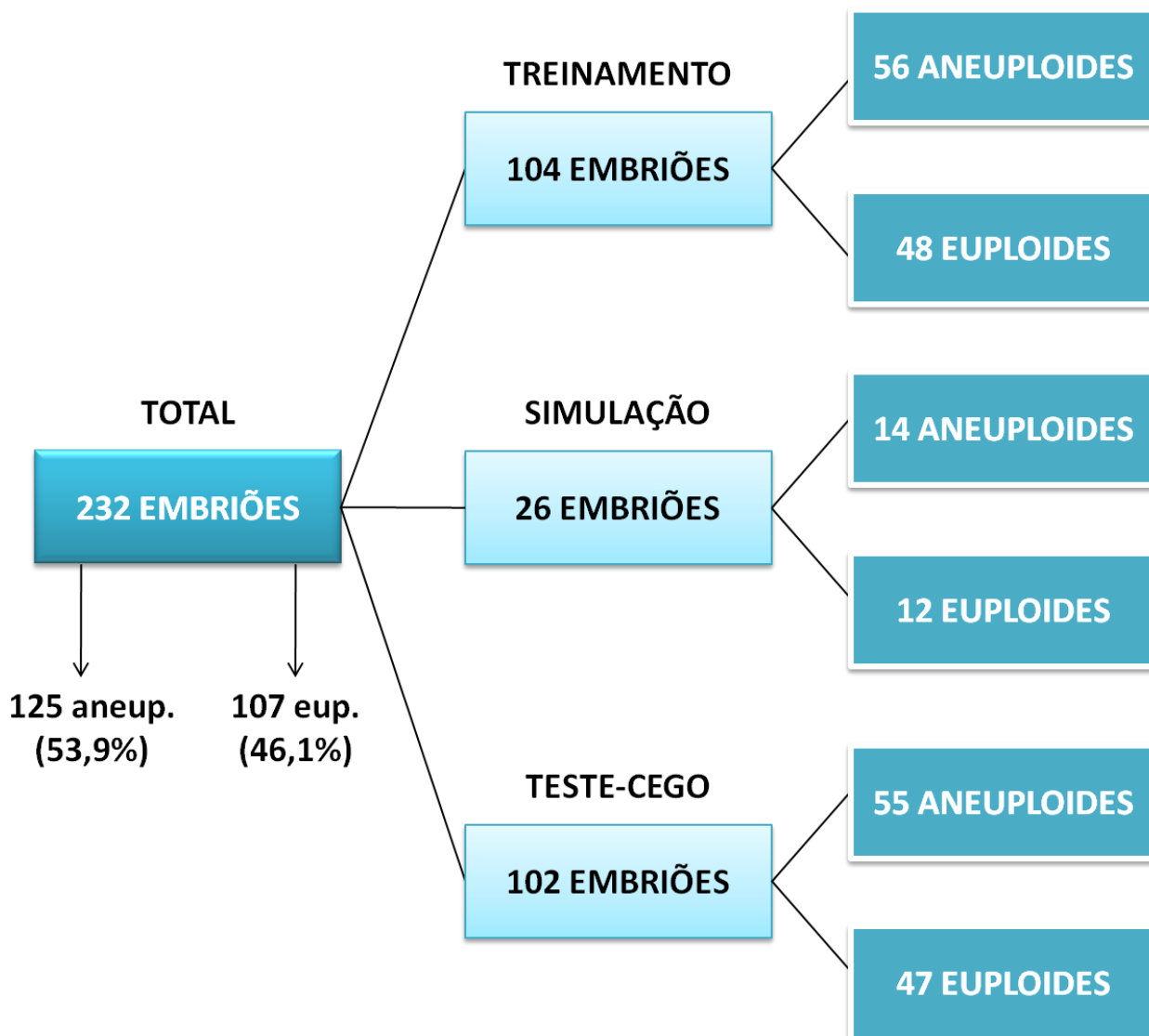
**Fluxograma 5.** Representação da quantidade de embriões utilizados para o treinamento, para a simulação e para o teste-cego, considerando as variáveis da MORFOCINÉTICA, da PACIENTE e as variáveis CELULARES, em conjunto, tanto para as análises com ou sem os diagnósticos específicos dos fatores de infertilidade.

## MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA



**Fluxograma 6.** Representação da quantidade de embriões utilizados para o treinamento, para a simulação e para o teste-cego, considerando as variáveis da MORFOLOGIA e as variáveis da MORFOCINÉTICA em conjunto.

## MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES



**Fluxograma 7.** Representação da quantidade de embriões utilizados para o treinamento, para a simulação e para o teste-cego, considerando as variáveis da MORFOLOGIA, da MORFOCINÉTICA, da PACIENTE e as variáveis CELULARES, em conjunto, tanto para as análises com ou sem os diagnósticos específicos dos fatores de infertilidade.

**ANEXO 2.** Apresentação das 33 variáveis morfológicas obtidas com a aplicação do software de processamento digital de imagens desenvolvido no LaMAp, através do Matlab®. As variáveis morfológicas são descritas abaixo, e podem ser divididas em 6 categorias de acordo com a sua natureza (ou característica).

## **1ª CATEGORIA – TEXTURA**

### **1. Variação do nível de textura na MCI e blastocele;**

Representa as diferenças de escala/nível de cinza da textura na imagem segmentada da MCI e blastocele. Reflete a nitidez da imagem e a profundidade dos sulcos na textura. Os sulcos mais profundos estão associados à maior variação e melhor nitidez.

### **2. Semelhanças de textura na MCI e blastocele;**

Representa as semelhanças de textura através da dependência linear do nível de cinza.

### **3. Uniformidade da distribuição dos níveis (ou das escalas) de cinza na MCI e blastocele;**

Representa a uniformidade da distribuição dos níveis de cinza (ou das escalas de cinza) através da soma dos elementos da matriz de co-ocorrência em nível de cinza (GLCM, do inglês *gray-level co-occurrence matrix*) ao quadrado.

### **4. Proximidade da escala de cinza com a diagonal GLCM entre a MCI e a blastocele;**

Representa a distribuição dos elementos em GLCM, de acordo com os valores diagonais de referência da matriz GLCM.

### **5. Variação do nível de textura na MCI;**

### **6. Semelhanças de textura na MCI;**

### **7. Uniformidade da distribuição dos níveis de cinza na MCI;**

### **8. Proximidade da escala de cinza com a diagonal GLCM na MCI;**

As variáveis de 5 a 8 seguem o mesmo princípio das variáveis de 1 a 4, respectivamente, porém, utilizam a imagem segmentada apenas da MCI como base de cálculo, ao invés da imagem segmentada da MCI e blastocele.

### **9. Variação do nível de textura da TE;**

### **10. Semelhanças de textura da TE;**

### **11. Uniformidade da distribuição dos níveis de cinza da TE;**

### **12. Proximidade da escala de cinza com a diagonal GLCM da TE;**

As variáveis 9 a 12 seguem o mesmo princípio das variáveis de 1 a 4, respectivamente, porém, utilizam a imagem segmentada da TE como base de cálculo, ao invés da imagem segmentada da MCI e blastocele.

### **13. Descritor de textura local da expansão do blastocisto;**

Descritor de padrão de textura, usado para descrever os padrões de textura locais de uma imagem, no caso, a imagem da expansão do blastocisto. O algoritmo extrai informações sobre a textura local estabelecendo um limite para um número “n” de vizinhos no valor do pixel central. O resultado é um número binário entre 0 e 255.

### **14. Descritor de textura local da MCI;**

### **15. Descritor de textura local da TE;**

As variáveis 14 e 15 seguem o mesmo princípio da variável 13, porém utilizam as imagens segmentadas da MCI e da TE, respectivamente, como base de cálculo, ao invés da imagem da expansão do blastocisto.

## **2ª CATEGORIA – INTENSIDADE MÉDIA DE CINZA**

### **16. Média de cinza na MCI e blastocele;**

Representa a intensidade média de cinza dos pixels na imagem segmentada da MCI e blastocele.

### **17. Média de cinza no blastocisto;**

Essa variável segue o mesmo princípio da variável anterior (variável 16), porém utiliza como base de cálculo a imagem do blastocisto, com zona pelúcida incluída.

### **18. Média cinza na TE;**

Essa variável segue o mesmo princípio da variável 16, porém, utiliza a imagem segmentada da TE como base de cálculo, ao invés da imagem segmentada da MCI e blastocele.

## **3ª CATEGORIA – DESVIO PADRÃO DA INTENSIDADE DE CINZA**

### **19. Desvio padrão cinza na MCI e blastocele;**

Representa o desvio padrão da intensidade de cinza nos pixels da imagem segmentada da MCI e blastocele.

### **20. Desvio padrão cinza na TE;**

Essa variável segue o mesmo princípio da variável anterior (variável 19), porém, utiliza a imagem segmentada da TE como base de cálculo, ao invés da imagem segmentada da MCI e blastocele.

#### **4ª CATEGORIA – VALOR MODAL**

##### **21. Valor modal na MCI e blastocele;**

Representa o valor de intensidade de luz mais frequente na imagem segmentada da MCI e blastocele.

##### **22. Valor modal na TE;**

Essa variável segue o mesmo princípio da variável anterior (variável 21), porém, utiliza a imagem segmentada da TE como base de cálculo, ao invés da imagem segmentada da MCI e blastocele.

#### **5ª CATEGORIA – RELAÇÕES MATEMÁTICAS**

##### **23. Limite da imagem, soma da imagem binária**

O limiar (ou limite) da imagem é dado pela soma da imagem binária, dividida pela área calculada com base no raio do blastocisto isolado da imagem.

##### **24. Raio do blastocisto;**

Representa o raio do blastocisto.

##### **25. Área da MCI;**

Representa a área segmentada da MCI.

##### **26. Área da blastocele;**

Representa a área da blastocele.

##### **27. Relação entre ICM e blastocele;**

Representa a expansão do blastocisto.

#### **6ª CATEGORIA – NÍVEL DE LUZ**

##### **28. Luminosidade média na MCI e blastocele;**

Todos os pixels contendo uma intensidade luminosa entre 10 pixels maior e 10 pixels menor que a intensidade média são contados, e este valor então é dividido pela área total do blastocisto. Considera-se apenas a imagem segmentada da MCI e blastocele.

##### **29. Luminosidade média na TE;**

Essa variável segue o mesmo princípio da variável anterior (variável 28), porém, utiliza a imagem segmentada da TE como base de cálculo, ao invés da imagem segmentada da MCI e blastocele.

**30. Região mais brilhante na MCI e blastocele;**

Representa a área mais brilhante da imagem segmentada da MCI e blastocele.

**31. Região mais brilhante na TE;**

Essa variável segue o mesmo princípio da variável anterior (variável 30), porém, utiliza a imagem segmentada da TE como base de cálculo, ao invés da imagem segmentada da MCI e blastocele.

**32. Região mais escura na MCI e blastocele;**

Representa a área mais escura da imagem segmentada da MCI e blastocele.

**33. Região mais escura da TE.**

Essa variável segue o mesmo princípio da variável anterior (variável 32), porém, utiliza a imagem segmentada da TE como base de cálculo, ao invés da imagem segmentada da MCI e blastocele.

**APÊNDICE 1.** Apresentação das RNAs e resultados obtidos, identificando a melhor rede encontrada para cada conjunto de variável (ou combinações de conjuntos de entradas para as RNAs: morfologia – rede 1; morfocinética – rede 2; paciente e celulares, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade – rede 3; paciente e celulares, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade – rede 4; morfologia e morfocinética – rede 5; morfologia, paciente e celulares, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade – rede 6; morfologia, paciente e celulares, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade – rede 7; morfocinética, paciente e celulares, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade – rede 8; morfocinética, paciente e celulares, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade – rede 9 – e morfologia, morfocinética, paciente e celulares, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade – rede 10). Os resultados podem ser observados por meio da matriz de confusão, da curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) e *Area Under the Curve* (AUC).

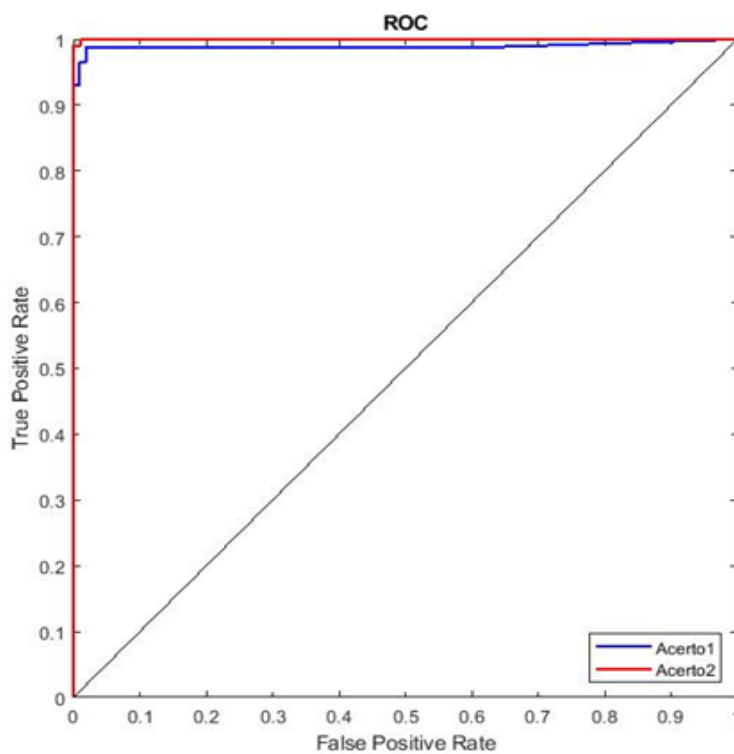
### **Rede MORFOLOGIA – REDE 1**

Com a aplicação das 33 variáveis morfológicas como entrada para a RNA, a Figura A1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento, e a Figura A2, para os dados do teste. Esta IA obteve 98,4% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 97,7% e para embriões aneuploides de 99,1%, no treinamento (matriz de confusão da Figura A1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 61,9%, sendo de 57,9% e de 65,2% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura A2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura A3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura A4 para os dados do teste-cego. A IA obteve 58,0% de acerto geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura A3), e de 57,1% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura A4).

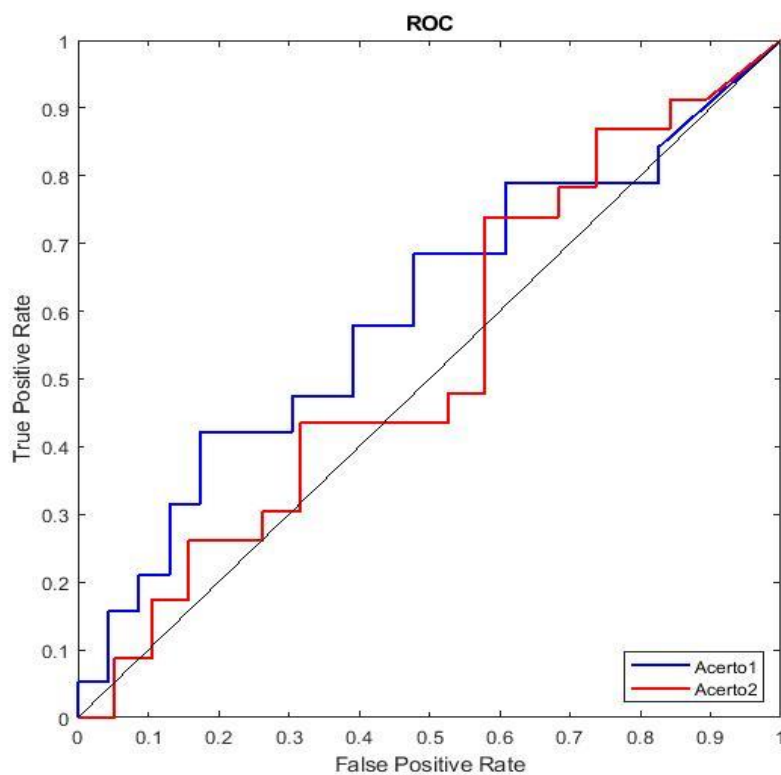
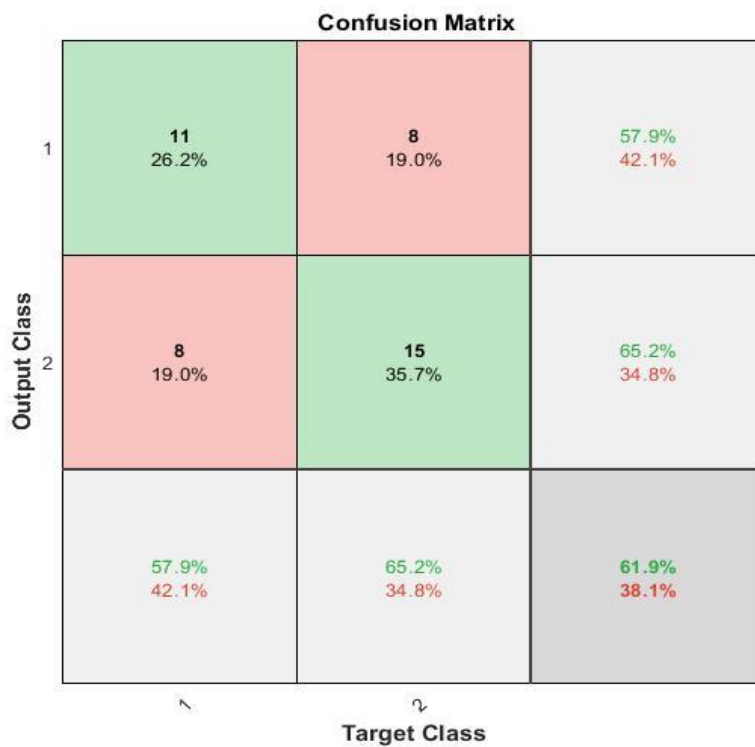
Já a Tabela A1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9898, 0,5995, 0,6171 e 0,5808, para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,9999, 0,6009, 0,6009 e 0,5480, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO - MORFOLOGIA



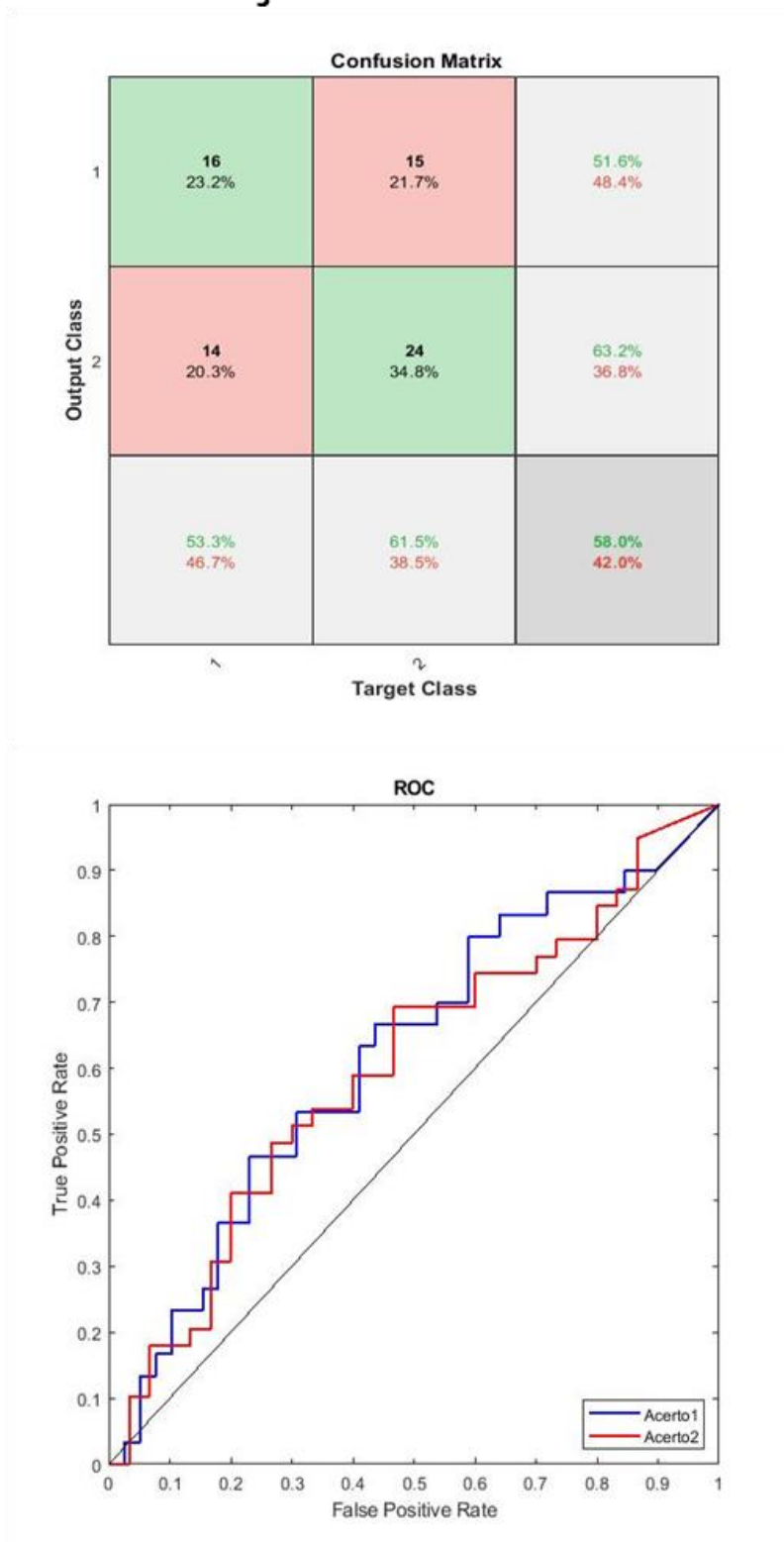
**Figura A1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de treinamento, considerando a REDE 1 (MORFOLOGIA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE - MORFOLOGIA



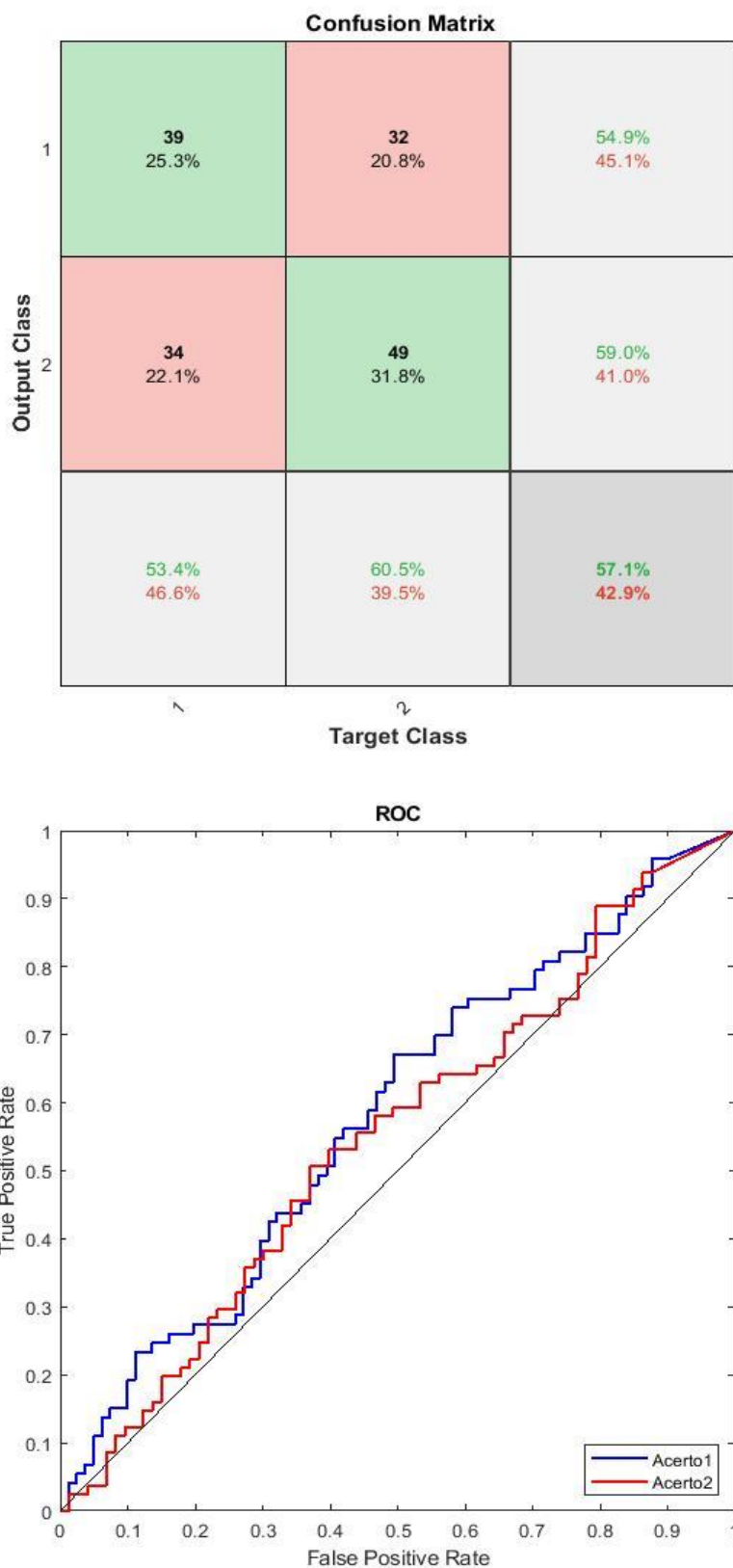
**Figura A2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste, considerando a REDE 1 (MORFOLOGIA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

# SIMULAÇÃO - MORFOLOGIA



**Figura A3.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de simulação, considerando a REDE 1 (MORFOLOGIA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE-CEGO - MORFOLOGIA



**Figura A4.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste-cego, considerando a REDE 1 (MORFOLOGIA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela A1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 1 (MORFOLOGIA).

<b>TABELA A1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 1</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9898
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9999
AUC Teste – EUPLOIDE	0,5995
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,6009
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,6171
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,6009
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,5808
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,5480

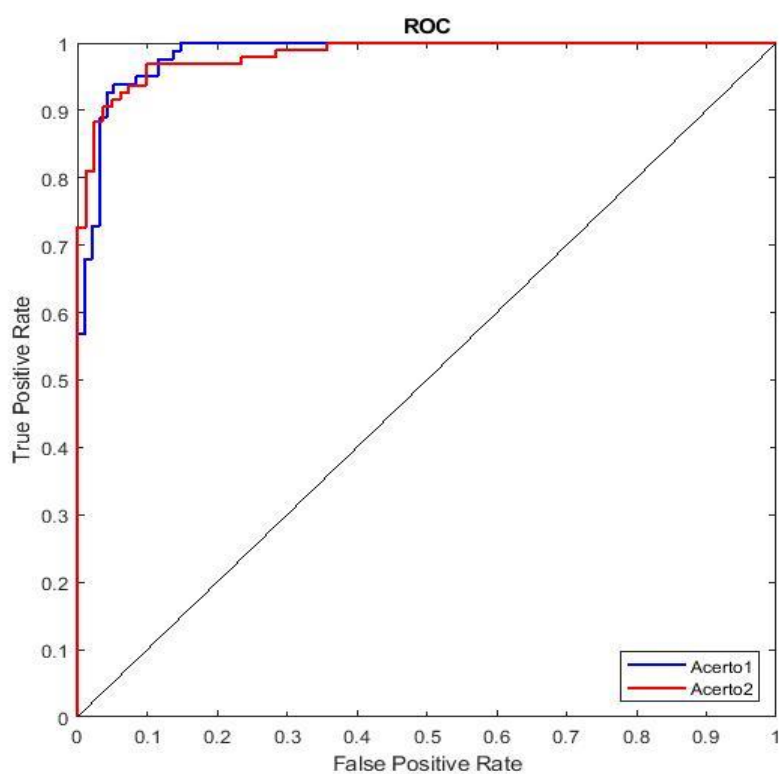
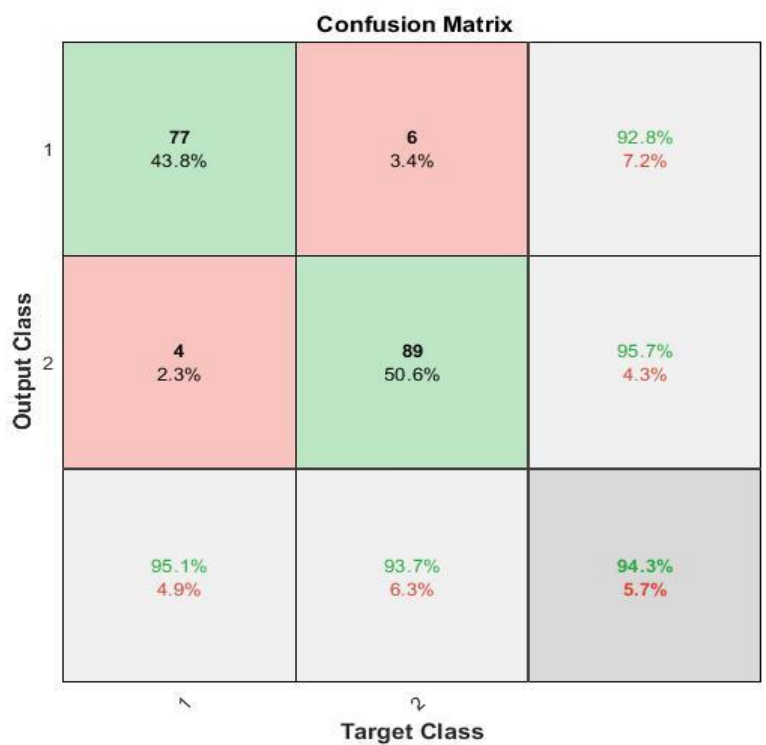
## **Rede MORFICNÉTICA - REDE 2**

Com a aplicação das 17 variáveis morfocinéticas como entrada para a RNA, a Figura B1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento e a Figura B2, para os dados do teste. Esta IA obteve 94,3% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 95,1% e para embriões aneuploides de 93,7%, no treinamento (matriz de confusão da Figura B1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 71,1%, sendo de 58,8% e de 81,0% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura B2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura B3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura B4 para os dados do teste-cego. AIA obteve 59,4% de acerto geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura B3), e de 64,0% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura B4).

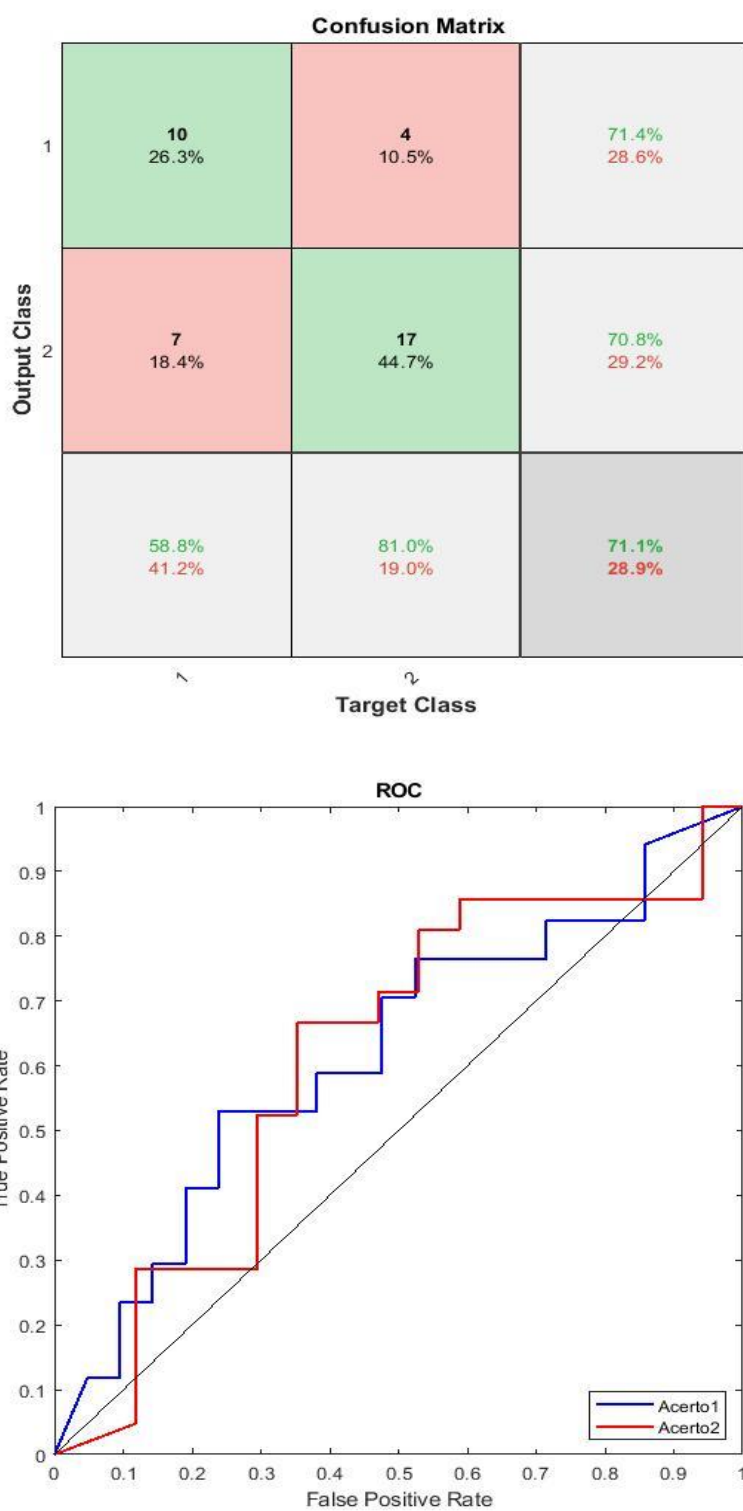
Já a Tabela B1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9831, 0,6204, 0,6627 e 0,6782, para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,9821, 0,6134, 0,6191 e 0,6734, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO - MORFOCINÉTICA



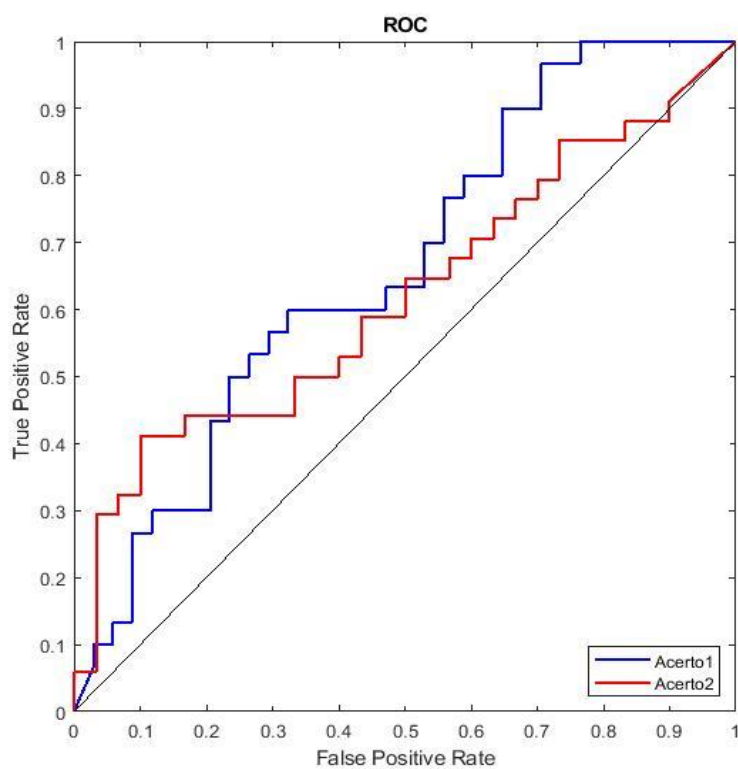
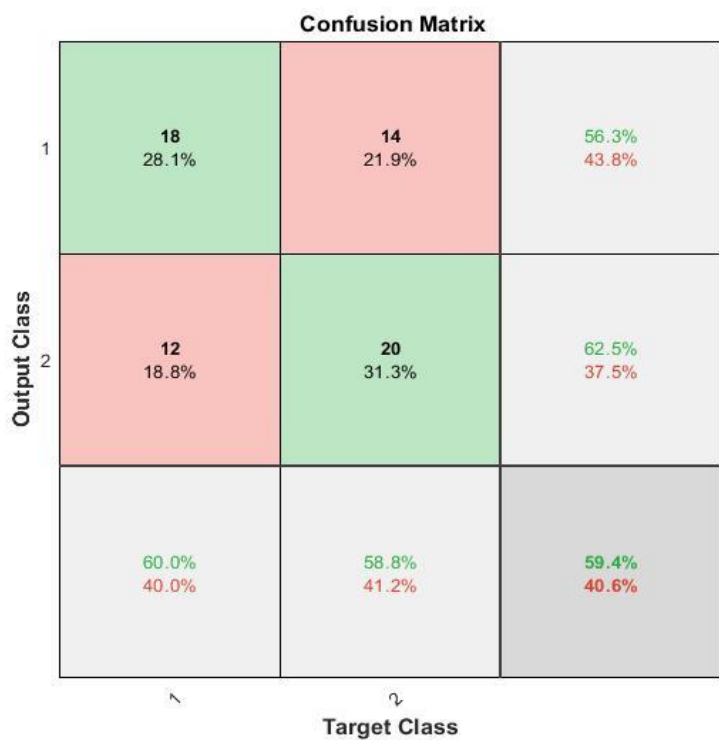
**Figura B1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de treinamento, considerando a REDE 2 (MORFOCINÉTICA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE - MORFOCINÉTICA



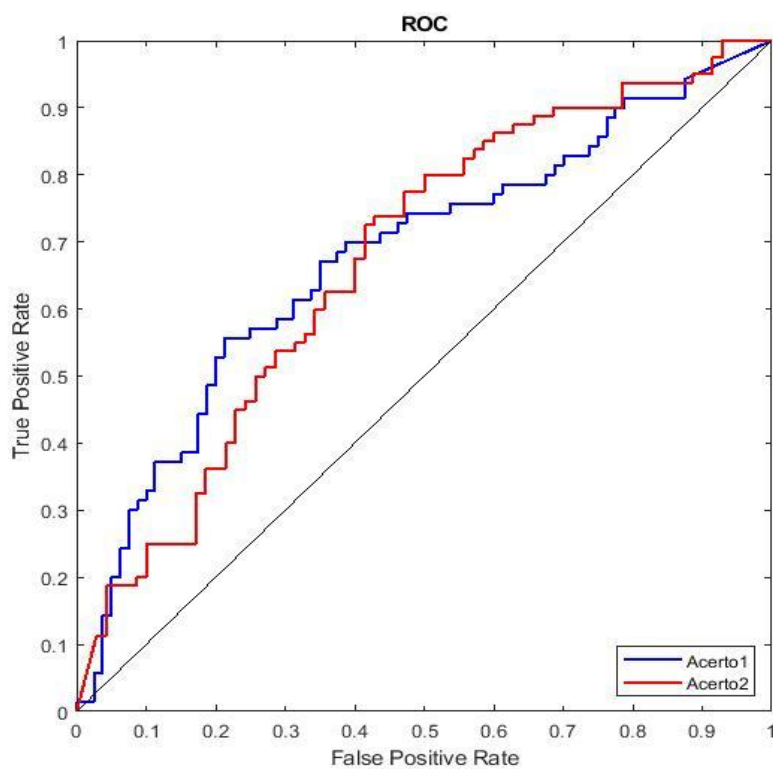
**Figura B2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste, considerando a REDE 2 (MORFOCINÉTICA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## SIMULAÇÃO - MORFOCINÉTICA



**Figura B3.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de simulação, considerando a REDE 2 (MORFOCINÉTICA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE-CEGO - MORFOCINÉTICA



**Figura B4.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste-cego, considerando a REDE 2 (MORFOCINÉTICA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela B1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 2 (MORFOCINÉTICA).

<b>TABELA B1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 2</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9831
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9821
AUC Teste – EUPLOIDE	0,6204
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,6134
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,6627
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,6191
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,6782
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,6734

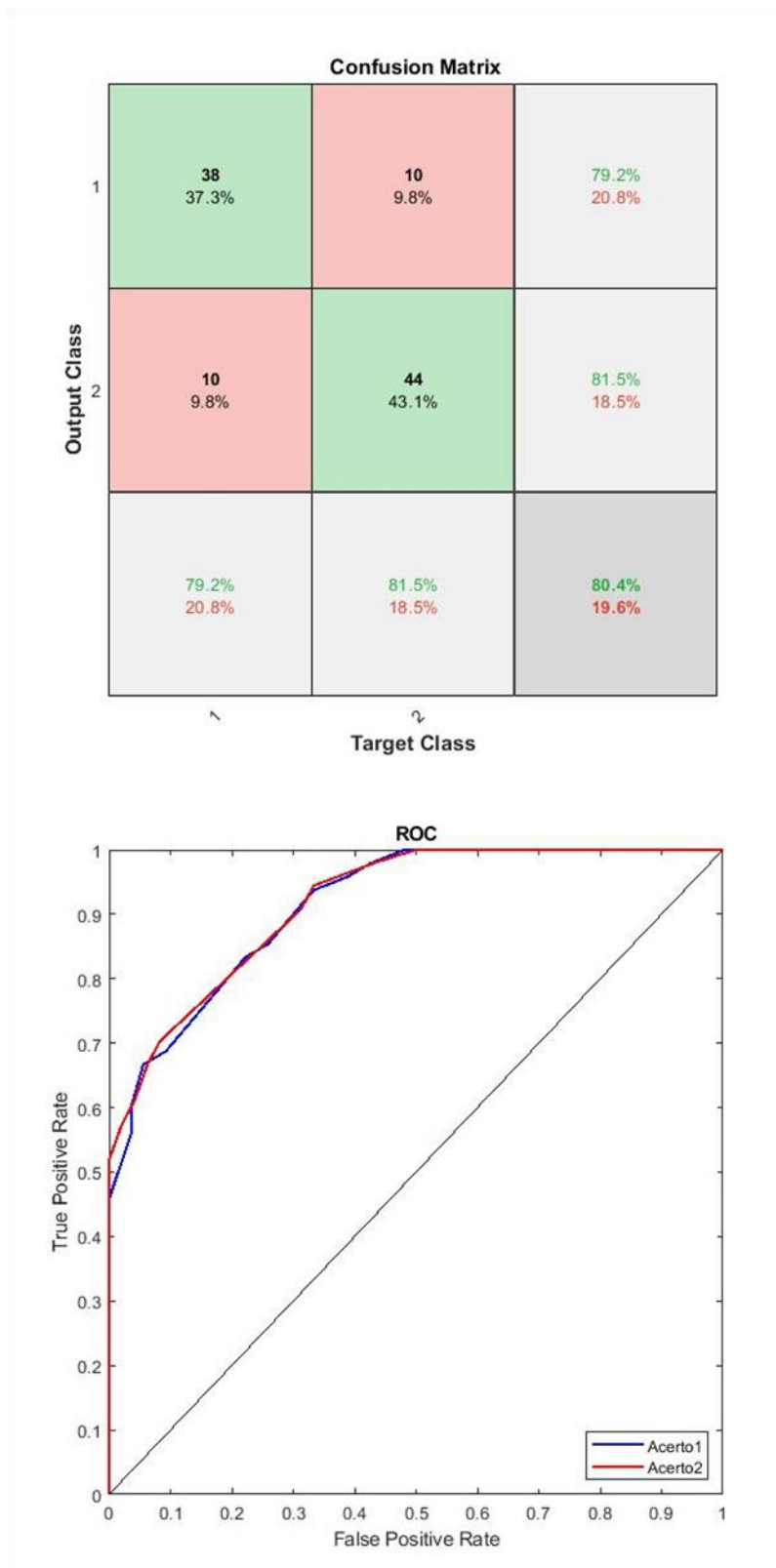
### **Rede PACIENTE-CELULARES (com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade) – REDE 3**

Com a aplicação das 8 variáveis da paciente e variáveis celulares como entrada para a RNA (com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade), a Figura C1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento e a Figura C2, para os dados do teste. Esta IA obteve 80,4% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 79,2% e para embriões aneuploides de 81,5%, no treinamento (matriz de confusão da Figura C1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 65,2%, sendo de 45,5% e de 83,3% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura C2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura C3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura C4 para os dados do teste-cego. A IA obteve 67,6% de acerto geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura C3), e de 63,4% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura C4).

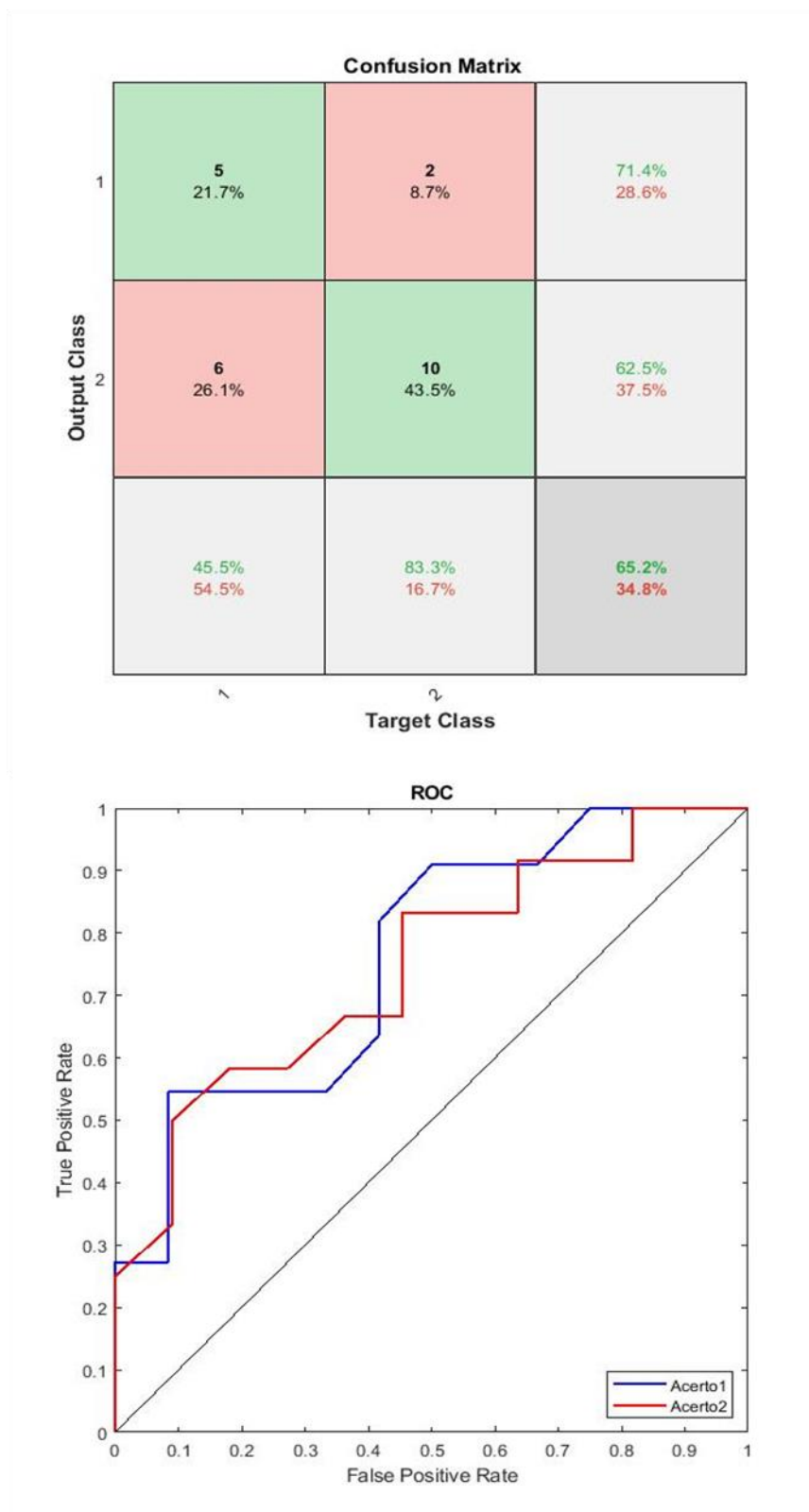
Já a Tabela C1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9140, 0,7614, 0,6988 e 0,6185, para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,9174, 0,7462, 0,7135 e 0,6457, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO – PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



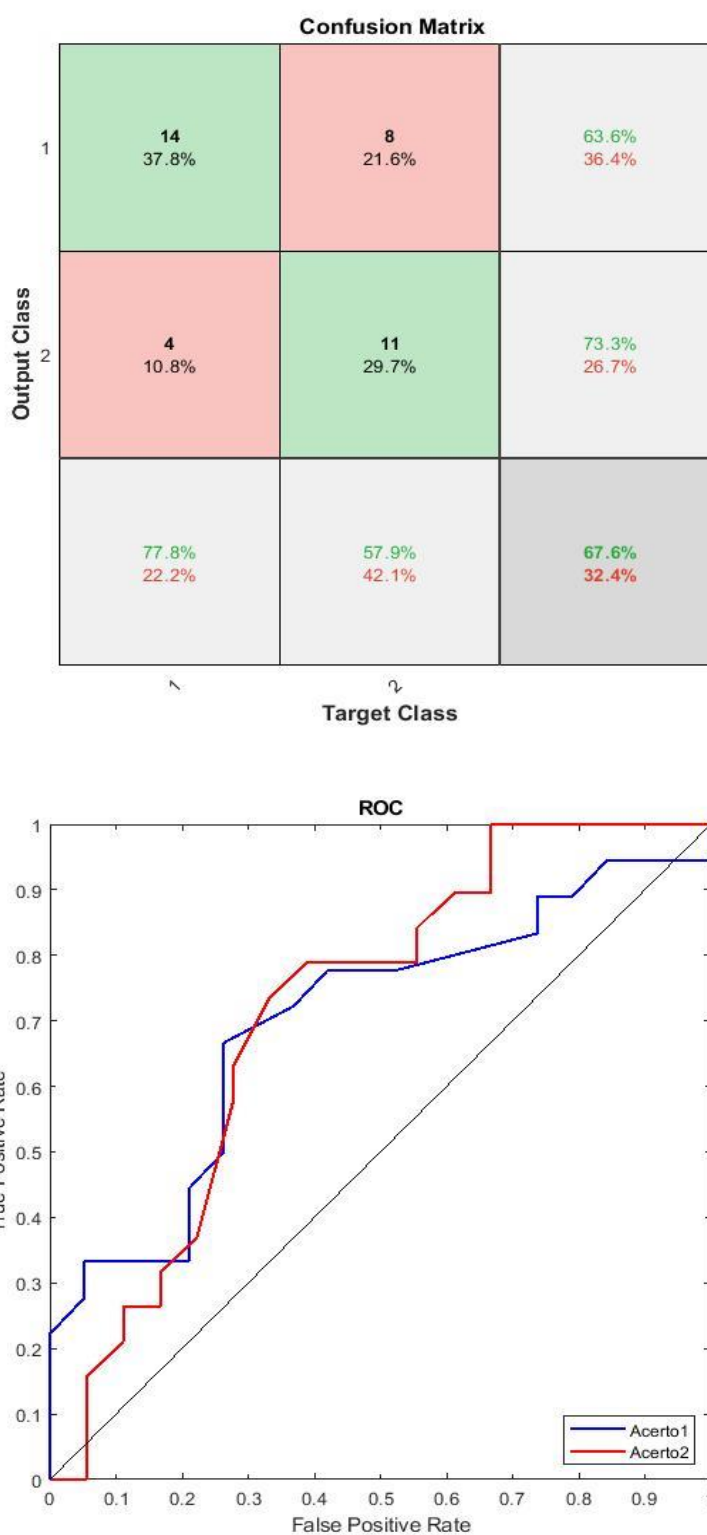
**Figura C1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do treinamento, considerando a REDE 3 (PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE – PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



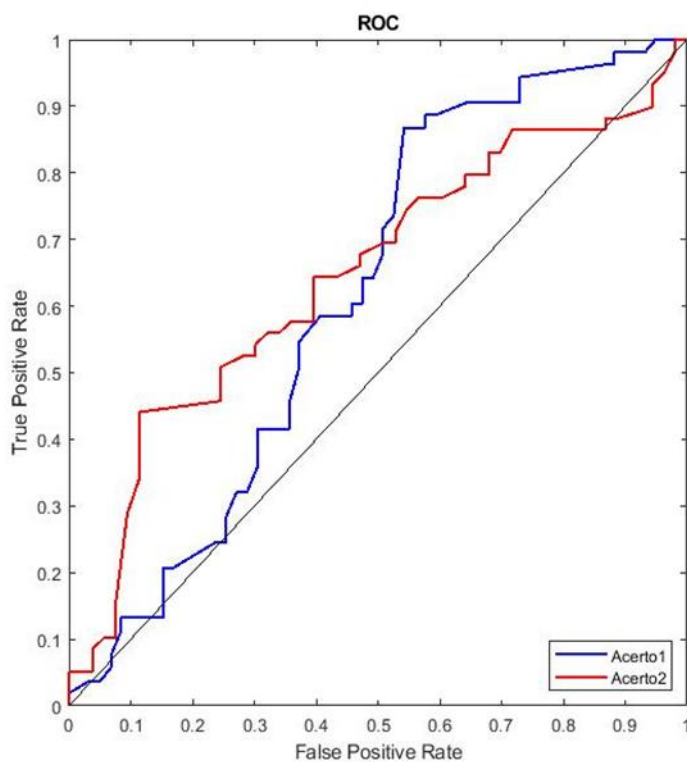
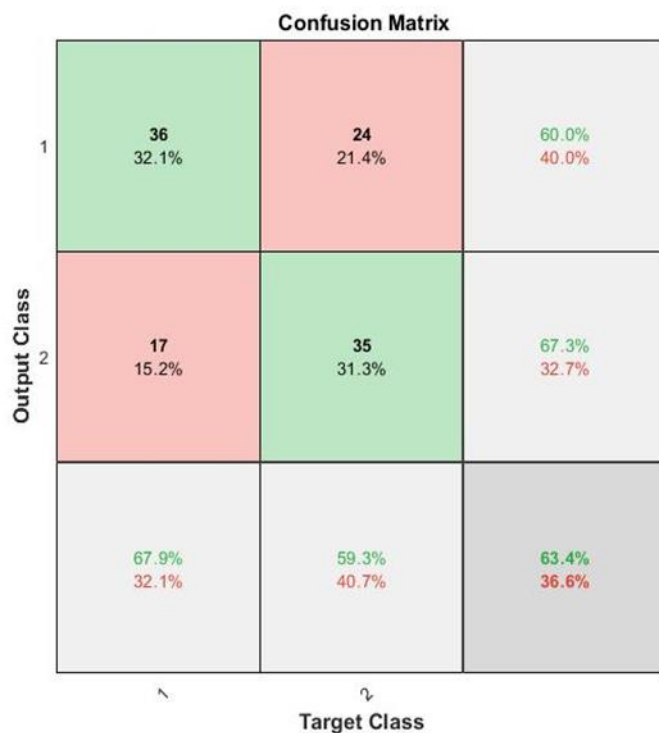
**Figura C2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste, considerando a REDE 3 (PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## SIMULAÇÃO – PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



**Figura C3.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de simulação, considerando a REDE 3 (PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

### TESTE-CEGO – PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



**Figura C4.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste-cego, considerando a REDE 3 (PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela C1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 3 (PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade).

<b>TABELA C1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 3</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9140
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9174
AUC Teste – EUPLOIDE	0,7614
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,7462
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,6988
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,7135
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,6185
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,6457

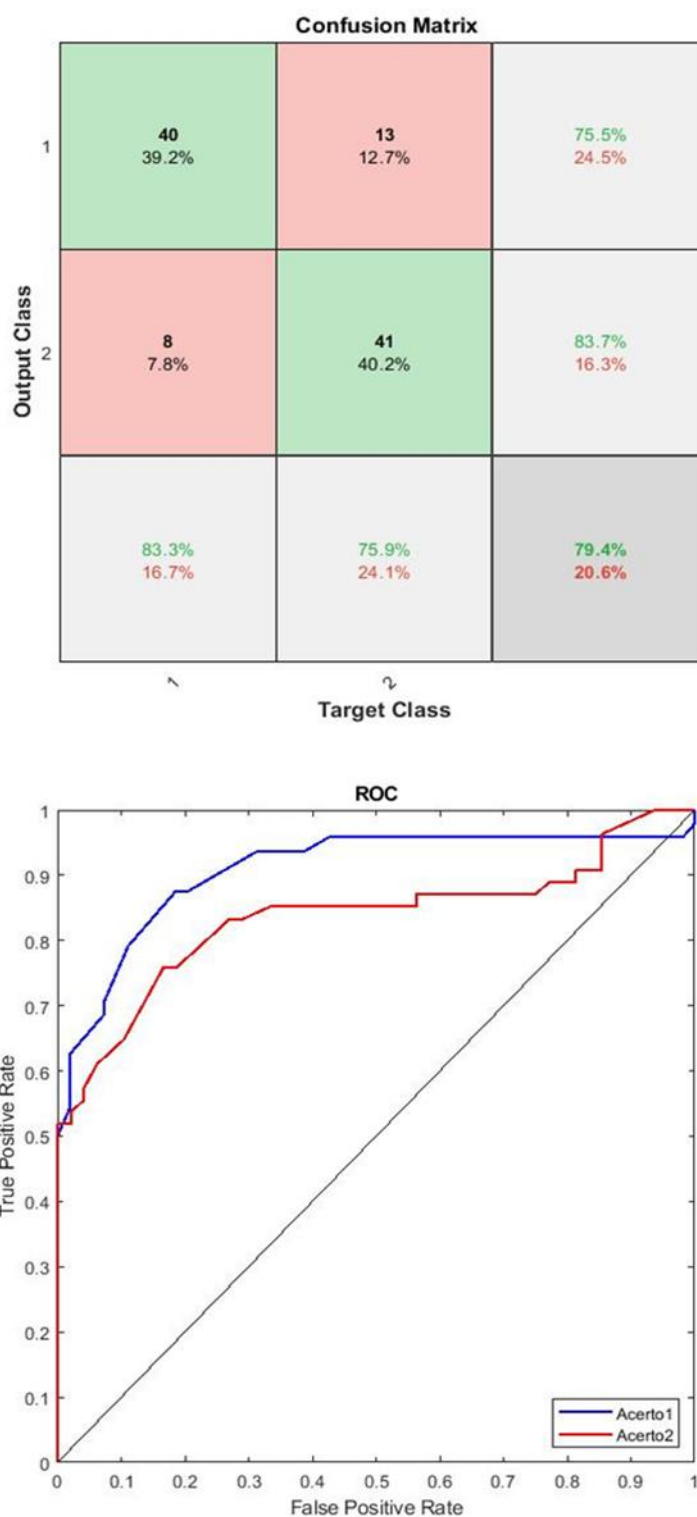
#### **Rede PACIENTE-CELULARES (com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade) – REDE 4**

Com a aplicação das 12 variáveis da paciente e variáveis celulares como entrada para a RNA (com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade), a Figura D1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento e a Figura D2, para os dados do teste. Esta IA obteve 79,4% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 83,3% e para embriões aneuploides de 75,9%, no treinamento (matriz de confusão da Figura D1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 69,6%, sendo de 72,7% e de 66,7% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura D2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura D3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura D4 para os dados do teste-cego. A IA obteve 54,1% de acerto no geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura D3), e de 59,8% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura D4).

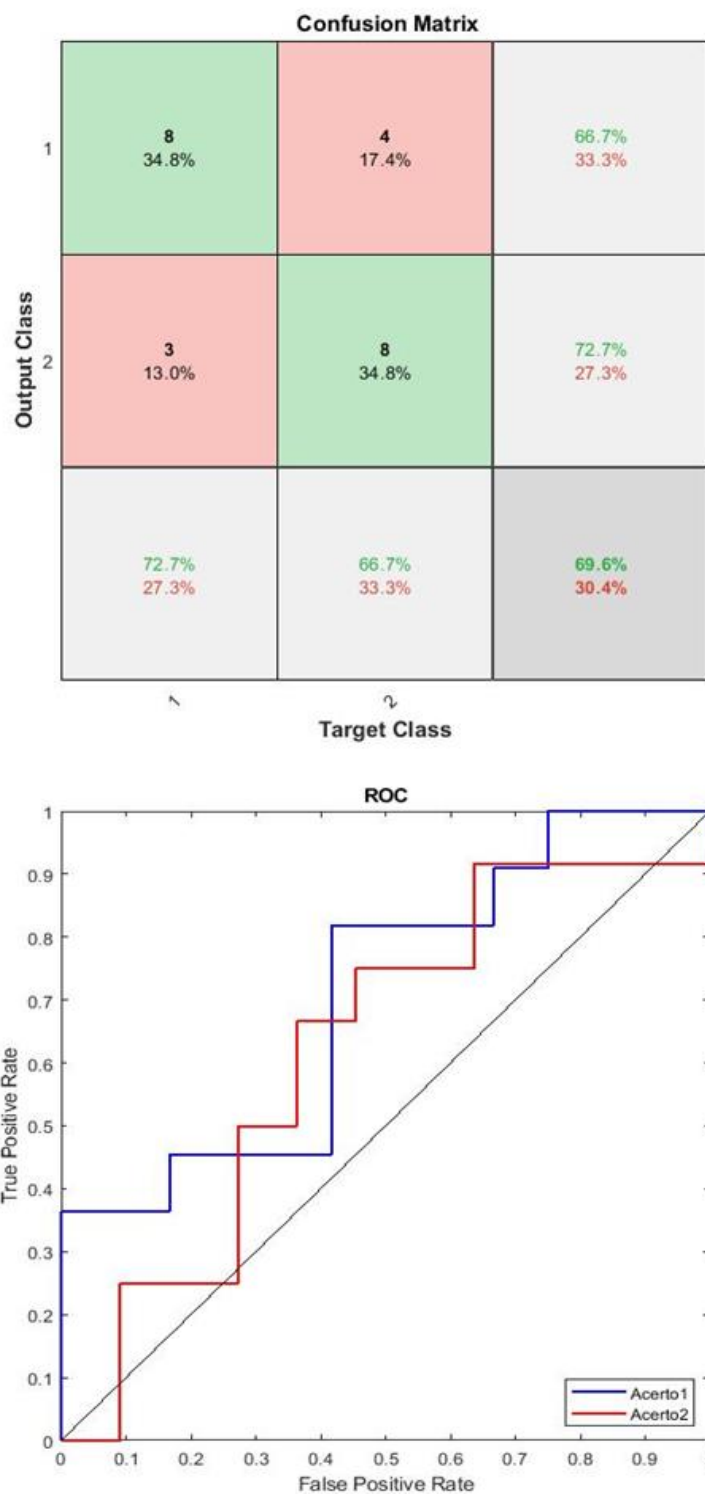
Já a Tabela D1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9074, 0,7045, 0,5980 e 0,6503 para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,8353, 0,6212, 0,5760 e 0,6075, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO – PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



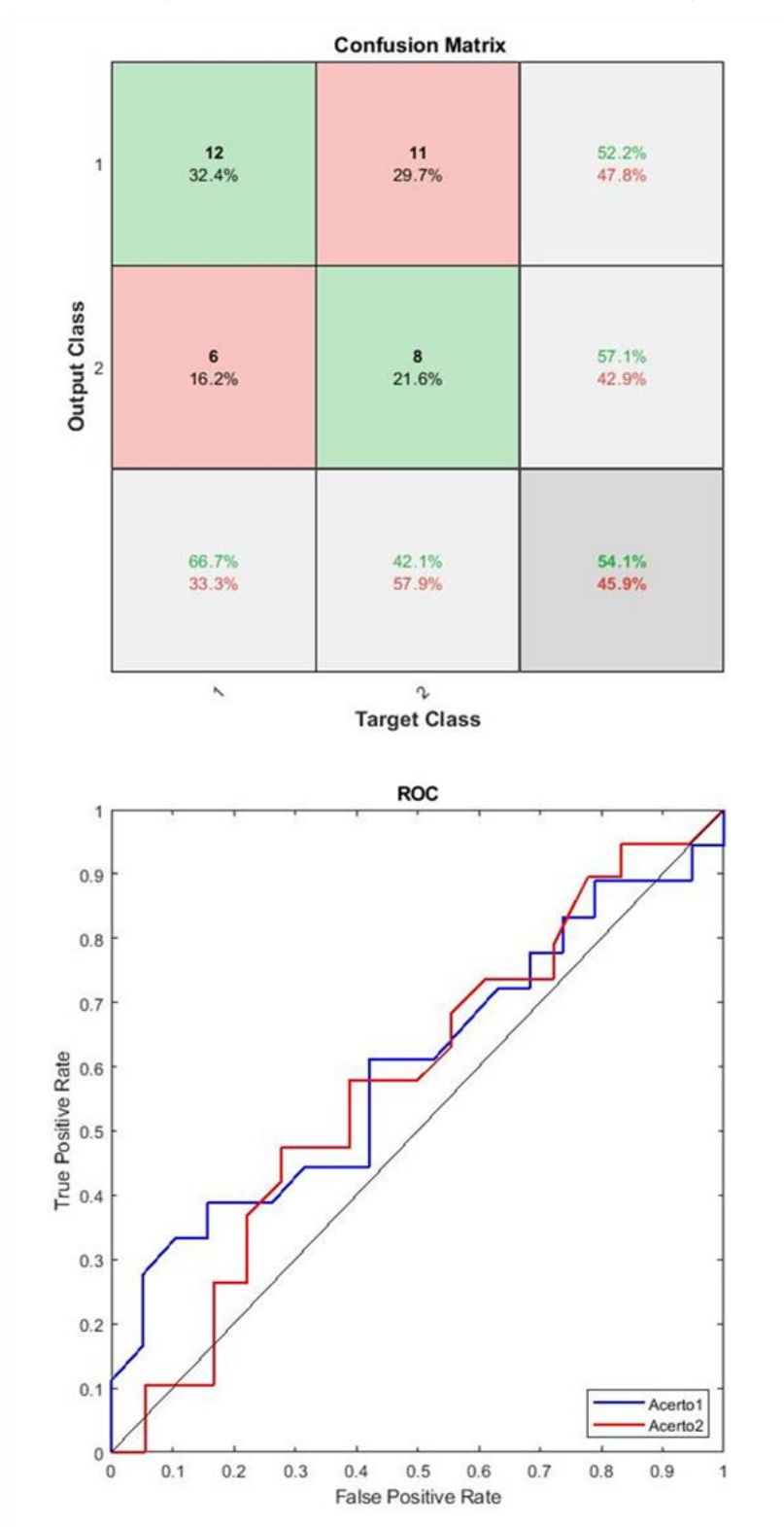
**Figura D1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de treinamento, considerando a REDE 4 (PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE – PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



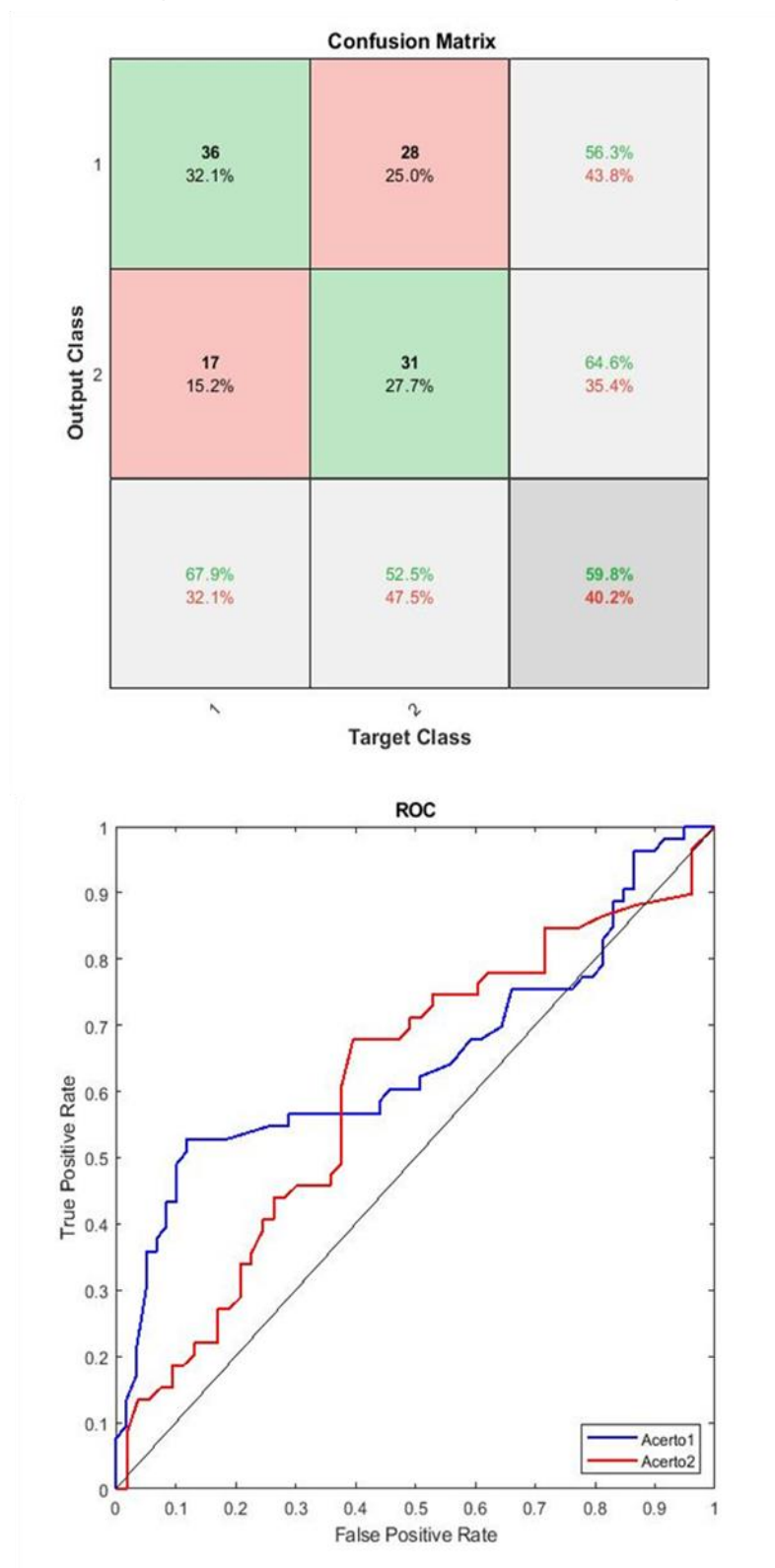
**Figura D2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste, considerando a REDE 4 (PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## SIMULAÇÃO – PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



**Figura D3.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de simulação, considerando a REDE 4 (PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE-CEGO – PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



**Figura D4.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste-cego, considerando a REDE 4 (PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela D1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 4 (PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade).

<b>TABELA D1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 4</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9074
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,8353
AUC Teste – EUPLOIDE	0,7045
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,6212
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,5980
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,5760
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,6503
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,6075

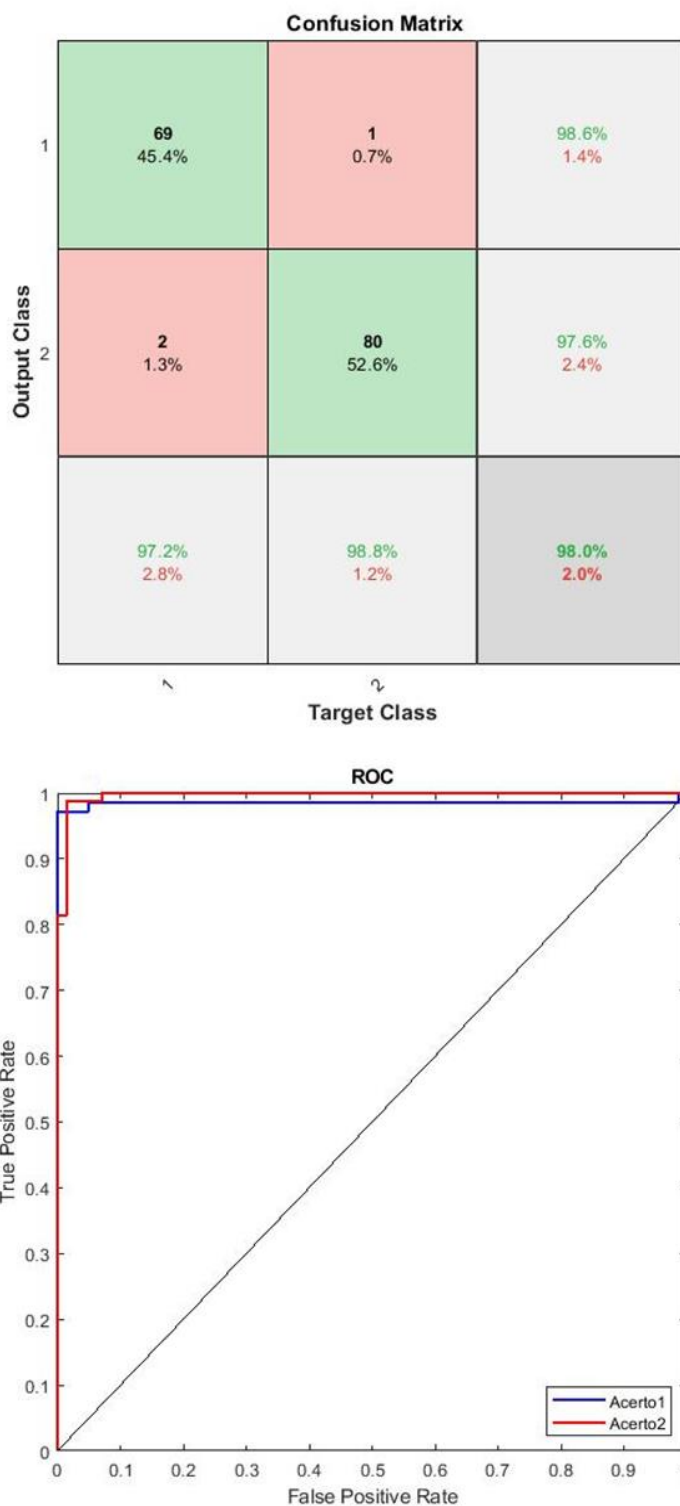
### **Rede MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA – REDE 5**

Com a aplicação das 50 variáveis da morfologia e da morfocinética como entrada para a RNA, sendo 33 da morfologia e 17 da morfocinética, a Figura E1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento e a Figura E2, para os dados do teste. Esta IA obteve 98,0% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 97,2% e para embriões aneuploides de 98,8%, no treinamento (matriz de confusão da Figura E1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 81,8%, sendo de 73,3% e de 88,9% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura E2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura E3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura E4 para os dados do teste-cego. A IA obteve 54,5% de acerto geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura E3), e de 52,4% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura E4).

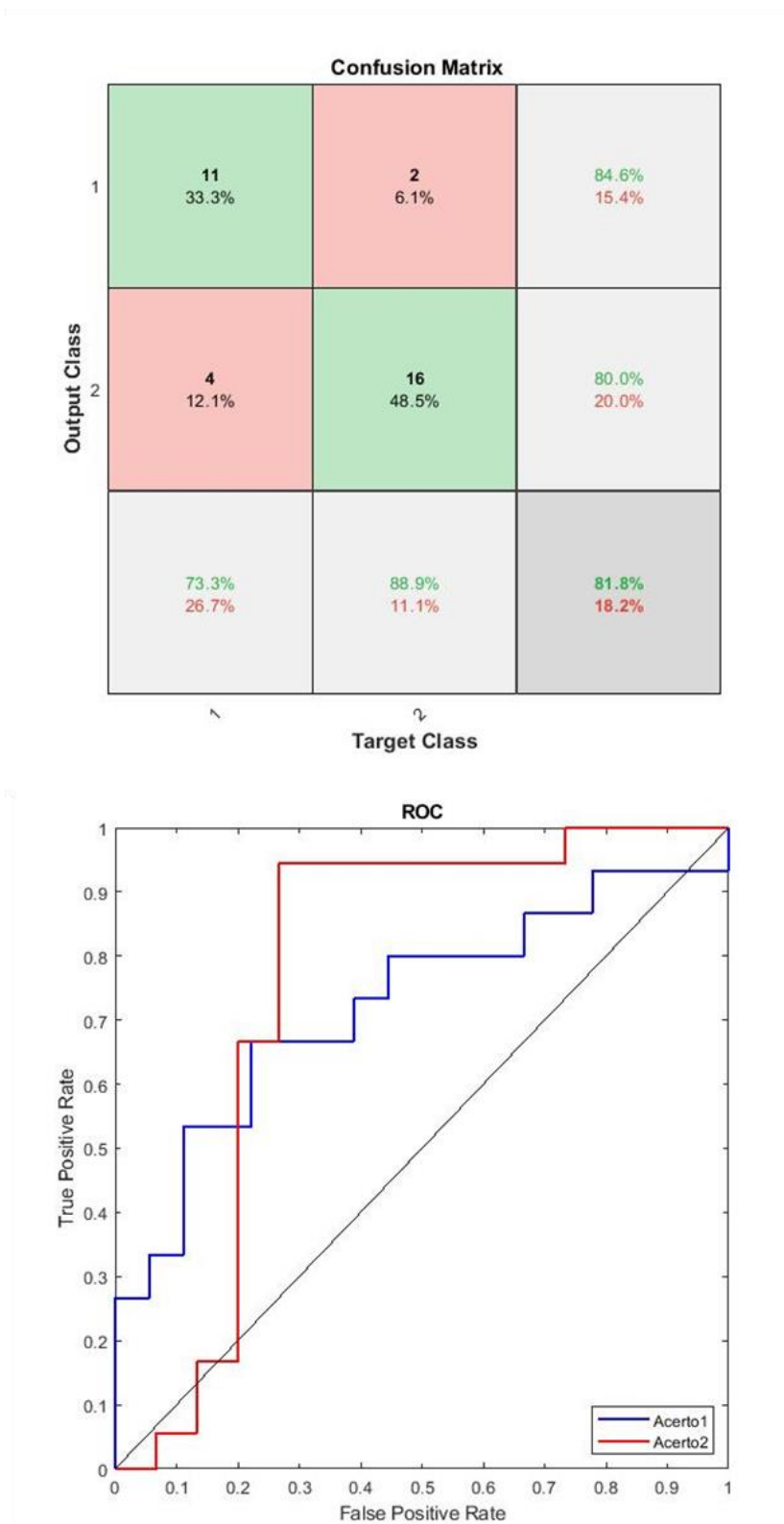
Já a Tabela E1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9854, 0,7259, 0,5067 e 0,5320 para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,9967, 0,7667, 0,6200 e 0,5687, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO – MORFOLOGIA E MORFOCINÉTICA



**Figura E1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do treinamento, considerando a REDE 5 (MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

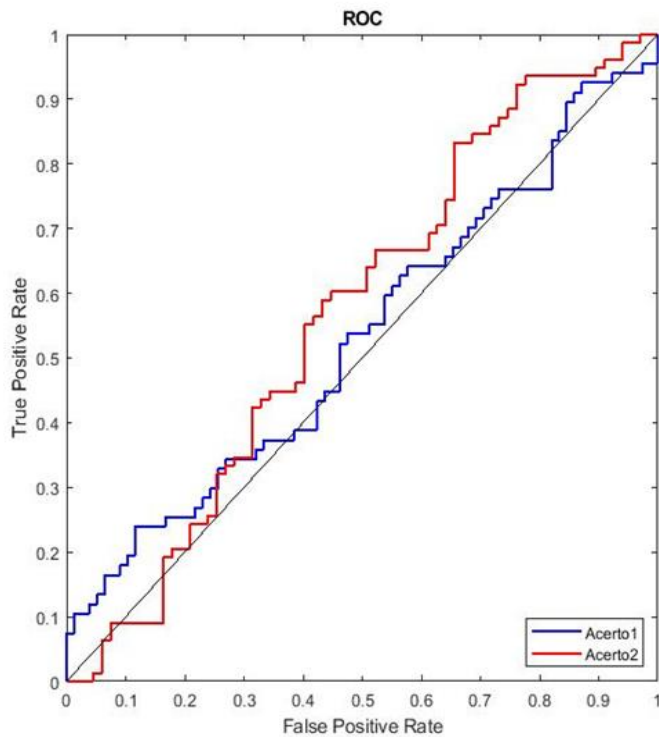
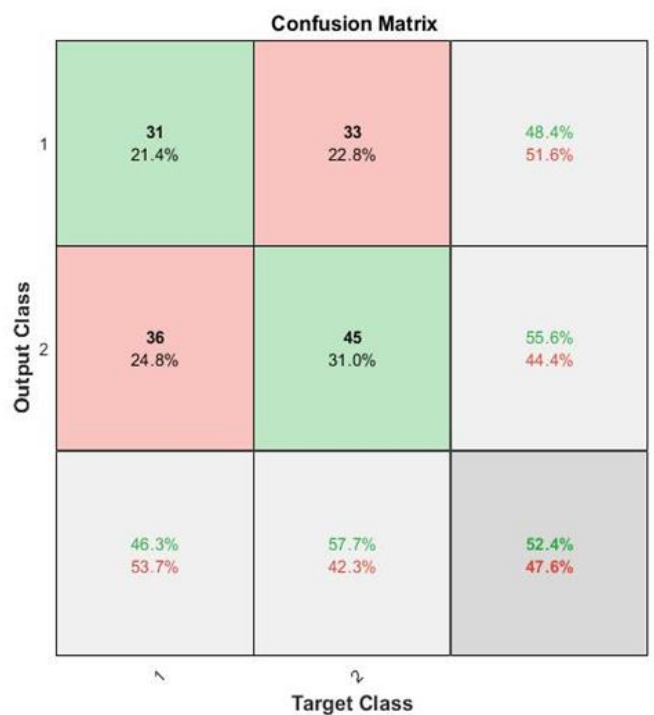
## TESTE – MORFOLOGIA E MORFOCINÉTICA



**Figura E2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste, considerando a REDE 5 (MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.



## TESTE-CEGO – MORFOLOGIA E MORFOCINÉTICA



**Figura E4.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste-cego, considerando a REDE 5 (MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela E1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 5 (MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA).

<b>TABELA E1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 5</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9854
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9967
AUC Teste – EUPLOIDE	0,7259
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,7667
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,5067
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,6200
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,5320
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,5687

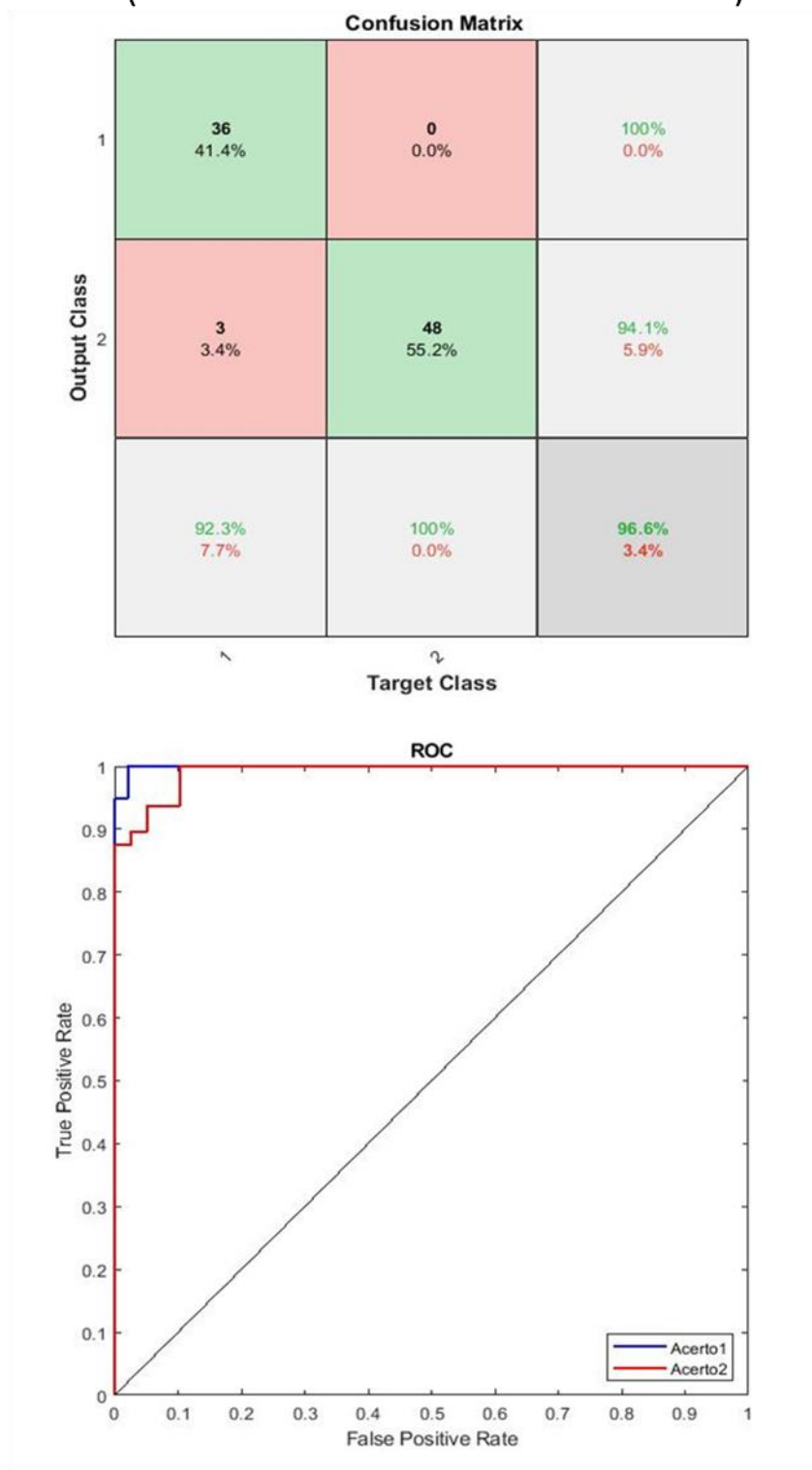
### **Rede MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES (com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade) – REDE 6**

Com a aplicação das 41 variáveis da morfologia, da paciente e variáveis celulares como entrada para a RNA, sendo 33 da morfologia e 8 da paciente e celulares – com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade –, a Figura F1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento e a Figura F2, para os dados do teste. Esta IA obteve 96,6% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 92,3% e para embriões aneuploides de 100,0%, no treinamento (matriz de confusão da Figura F1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 68,4%, sendo de 55,6% e de 80,0% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura F2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura F3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura F4 para dos dados do teste-cego. A RNA obteve 62,5% de acerto geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura F3), e de 61,5% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura F4).

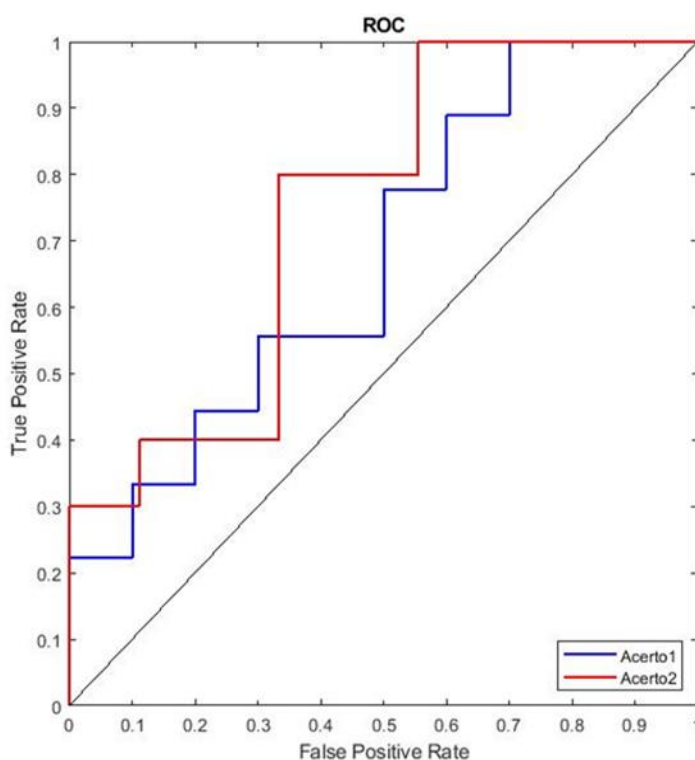
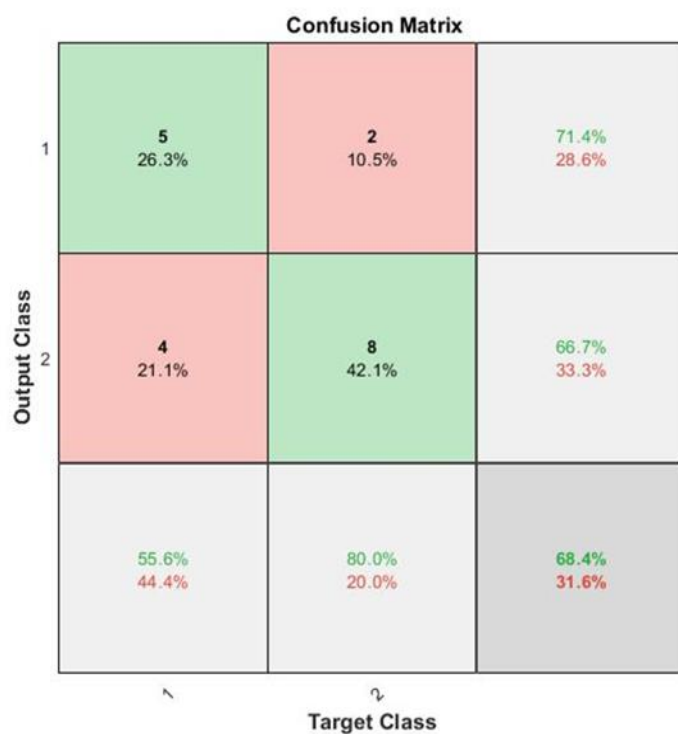
Já a Tabela F1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9989, 0,6778, 0,6706 e 0,6428 para os dados do treinamento, teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,9909, 0,7444, 0,6863 e 0,6668, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO – MORFOLOGIA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



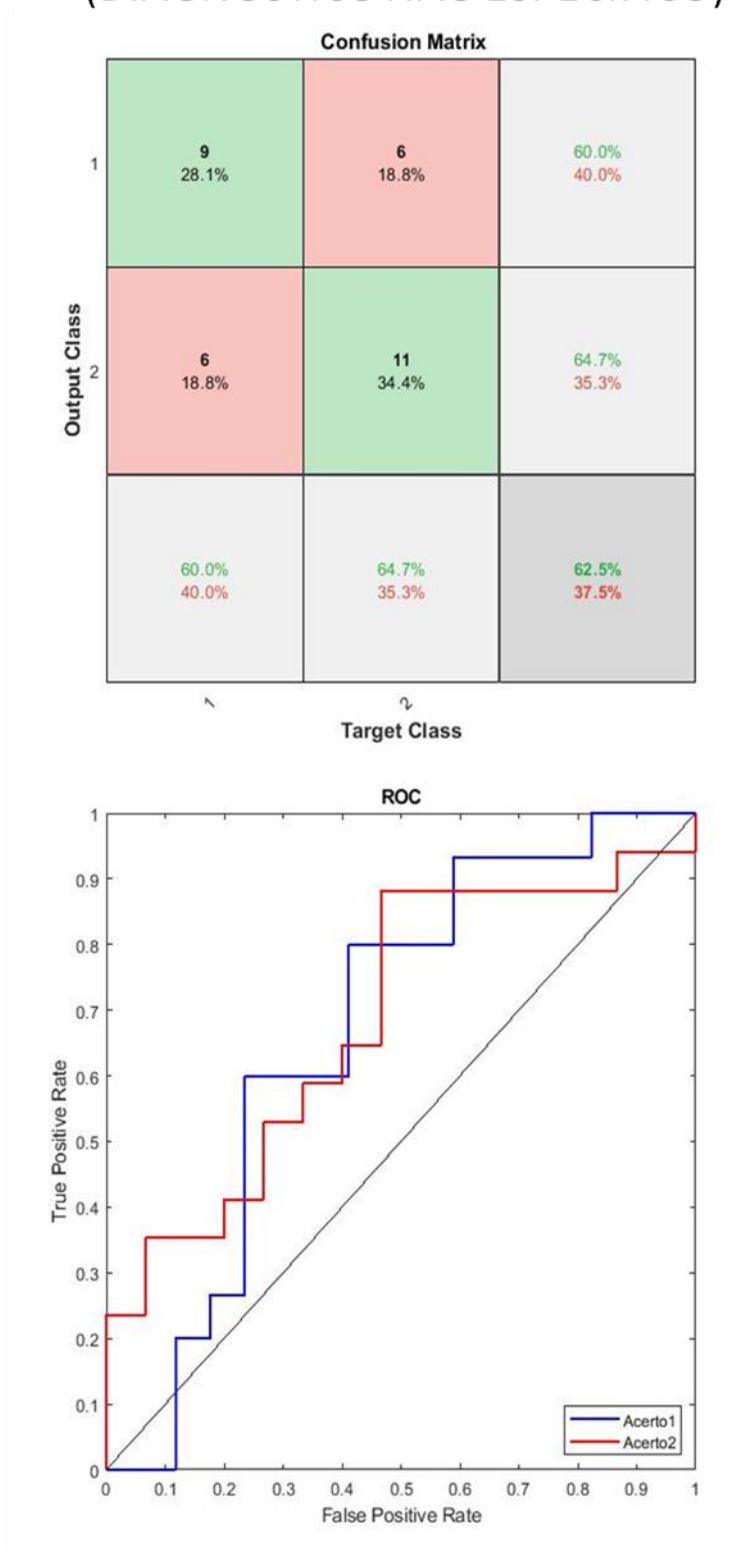
**Figura F1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de treinamento, considerando a REDE 6 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE – MORFOLOGIA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



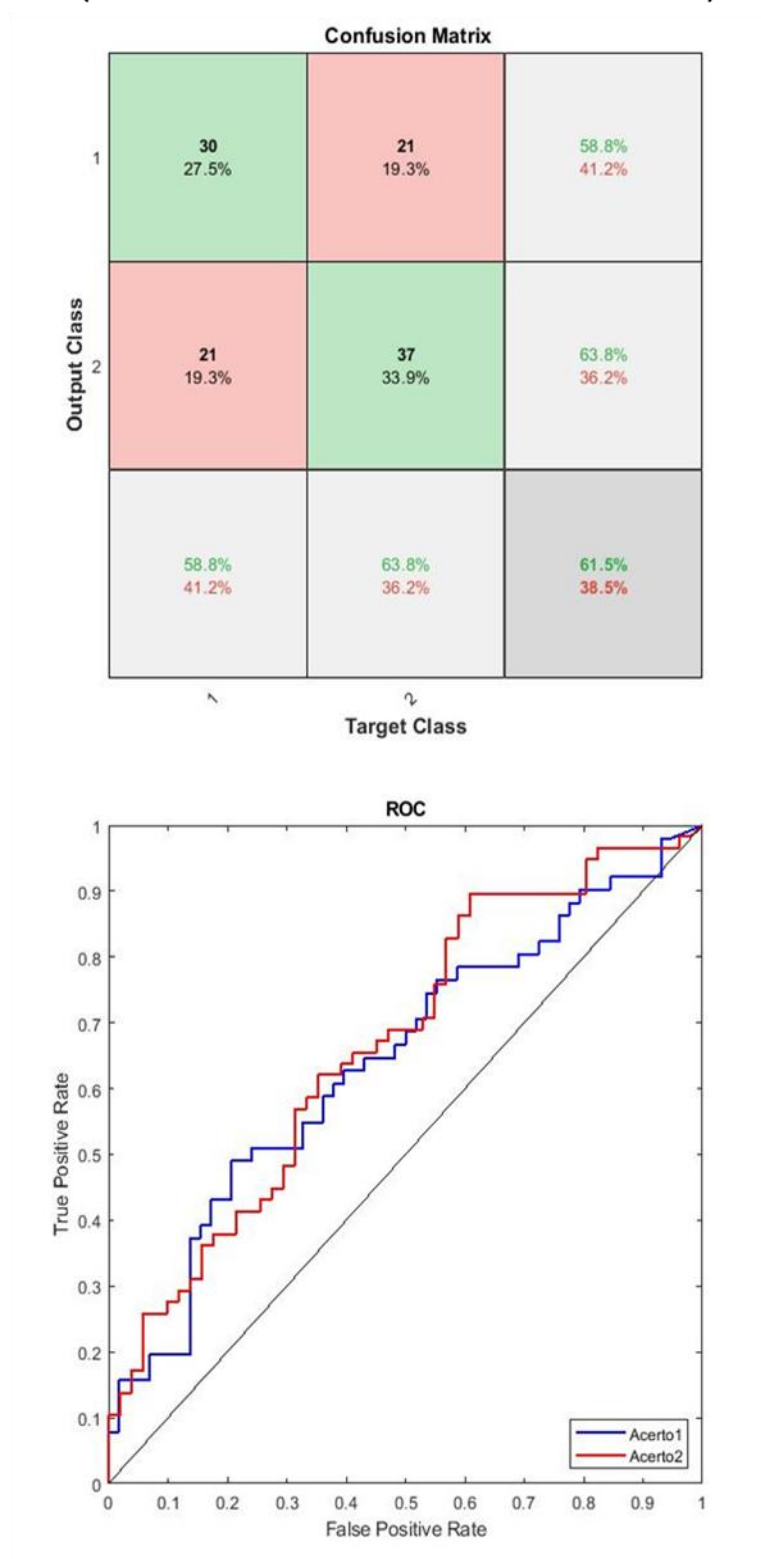
**Figura F2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste, considerando a REDE 6 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## SIMULAÇÃO – MORFOLOGIA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



**Figura F3.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de simulação, considerando a REDE 6 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE-CEGO – MORFOLOGIA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



**Figura F4.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados de teste-cego, considerando a REDE 6 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela F1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 6 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade).

<b>TABELA F1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 6</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9989
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9909
AUC Teste – EUPLOIDE	0,6778
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,7444
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,6706
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,6863
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,6428
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,6668

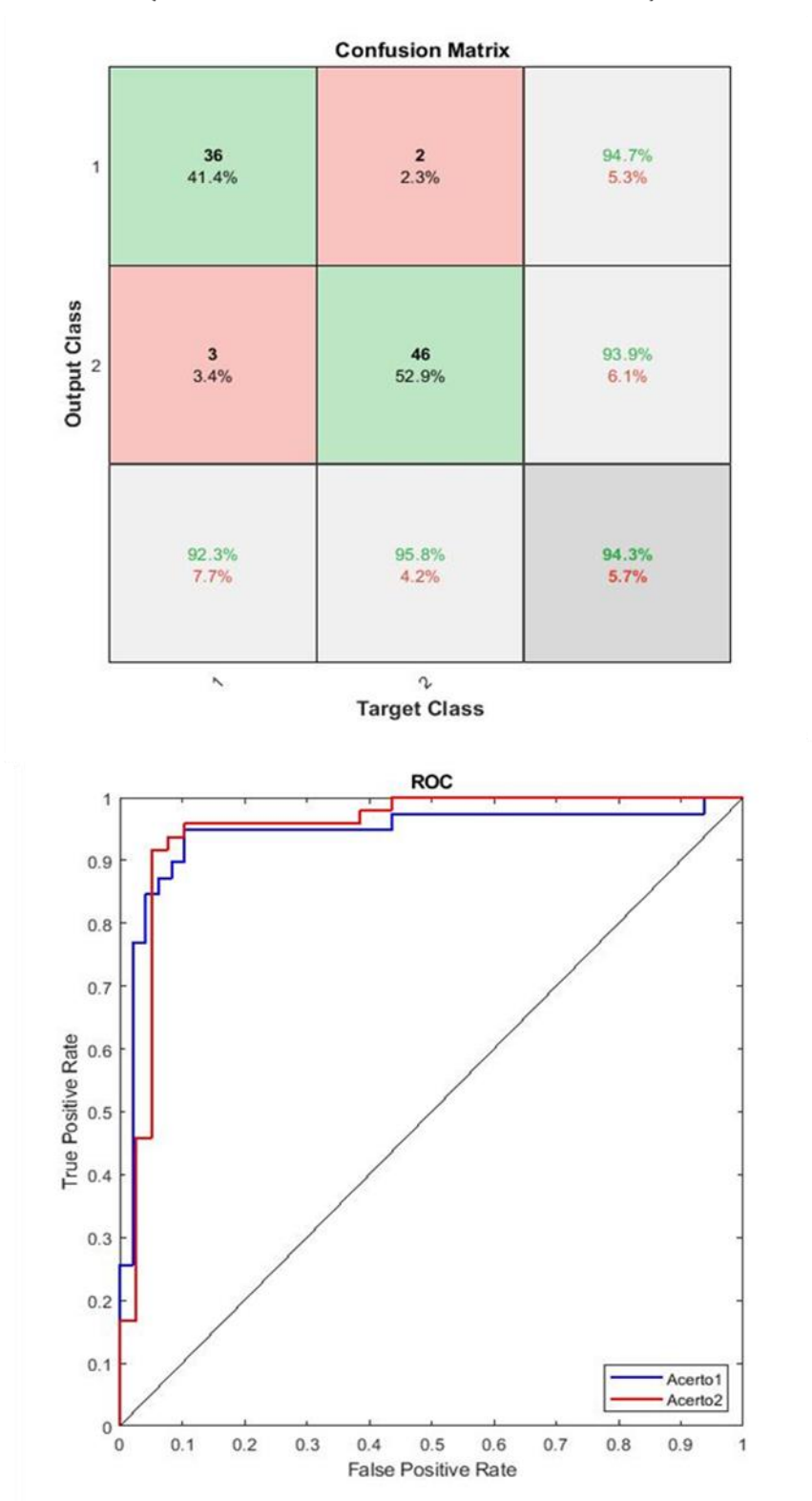
### **Rede MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES (com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade) – REDE 7**

Com a aplicação das 45 variáveis da morfologia, da paciente e variáveis celulares como entrada para a RNA, sendo 33 da morfologia e 12 da paciente e celulares – com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade –, a Figura G1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento e a Figura G2, para os dados do teste. Esta IA obteve 94,3% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 92,3% e para embriões aneuploides de 95,8%, no treinamento (matriz de confusão da Figura G1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 63,2%, sendo de 66,7% e de 60,0% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura G2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura G3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura G4 para os dados do teste-cego. A IA obteve 68,8% de acerto geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura G3), e de 59,6% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura G4).

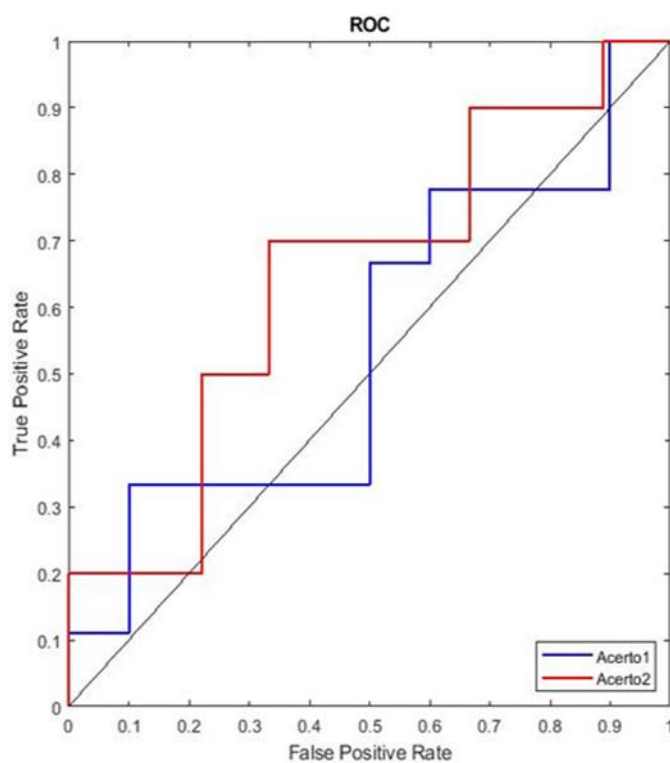
Já a Tabela G1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9418, 0,5444, 0,7490 e 0,6187 para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,9482, 0,6444, 0,6392 e 0,6596, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO – MORFOLOGIA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



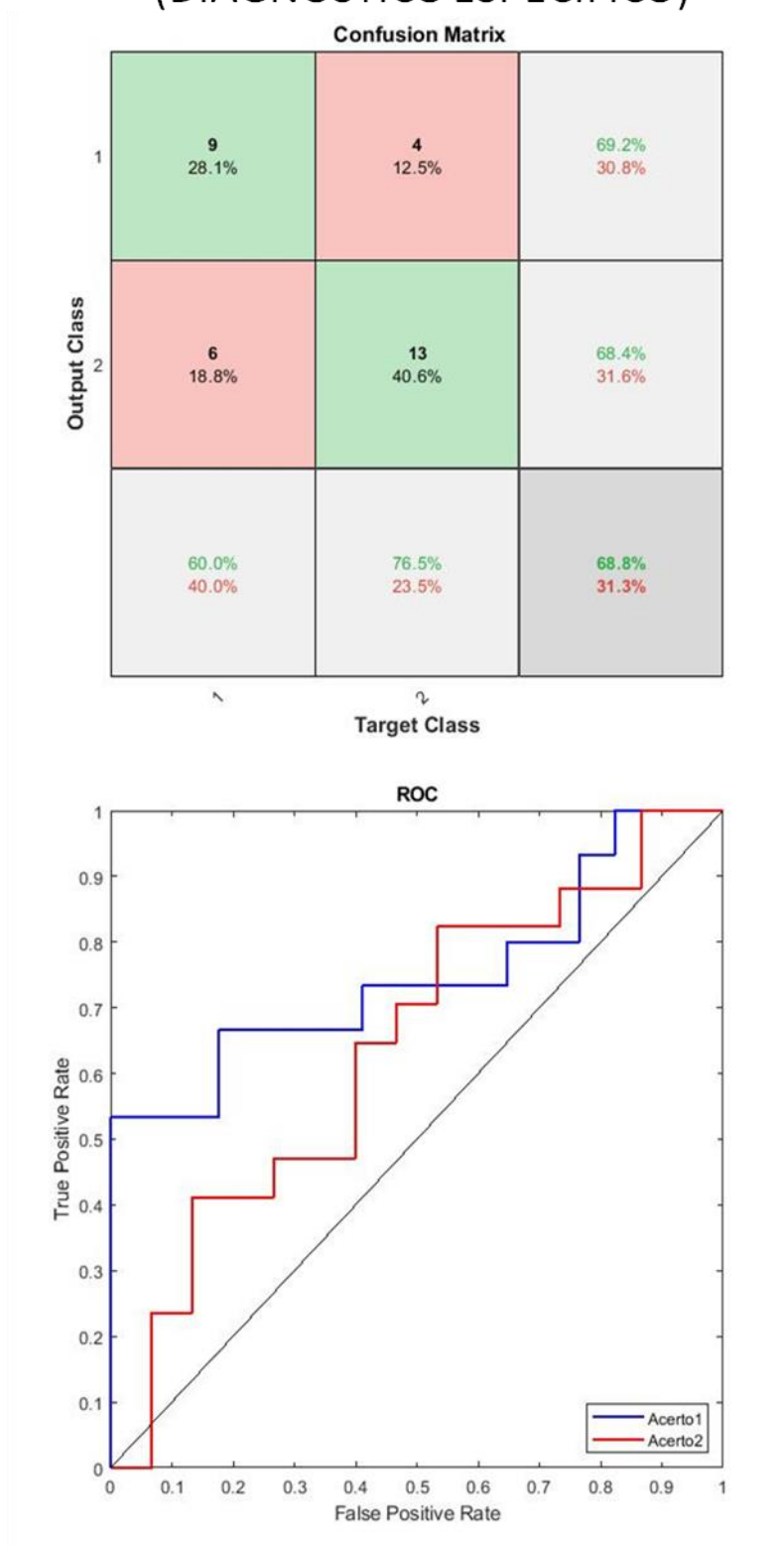
**Figura G1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do treinamento, considerando a REDE 7 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE – MORFOLOGIA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



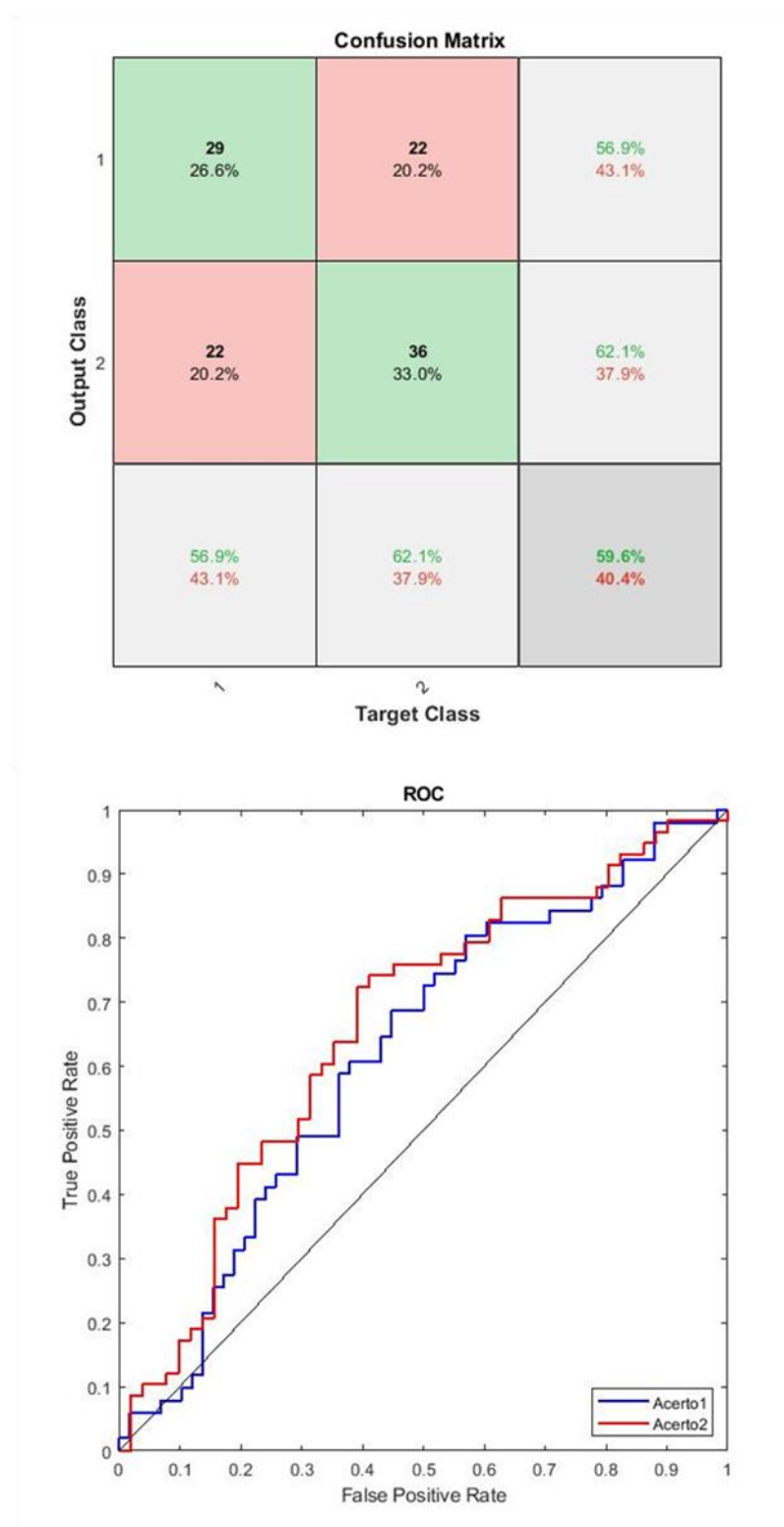
**Figura G2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste, considerando a REDE 7 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## SIMULAÇÃO – MORFOLOGIA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



**Figura G3.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados da simulação, considerando a REDE 7 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE-CEGO – MORFOLOGIA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



**Figura G4.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste-cego, considerando a REDE 7 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela G1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 7 (MORFOLOGIA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade).

<b>TABELA G1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 7</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9418
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9482
AUC Teste – EUPLOIDE	0,5444
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,6444
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,7490
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,6392
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,6187
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,6596

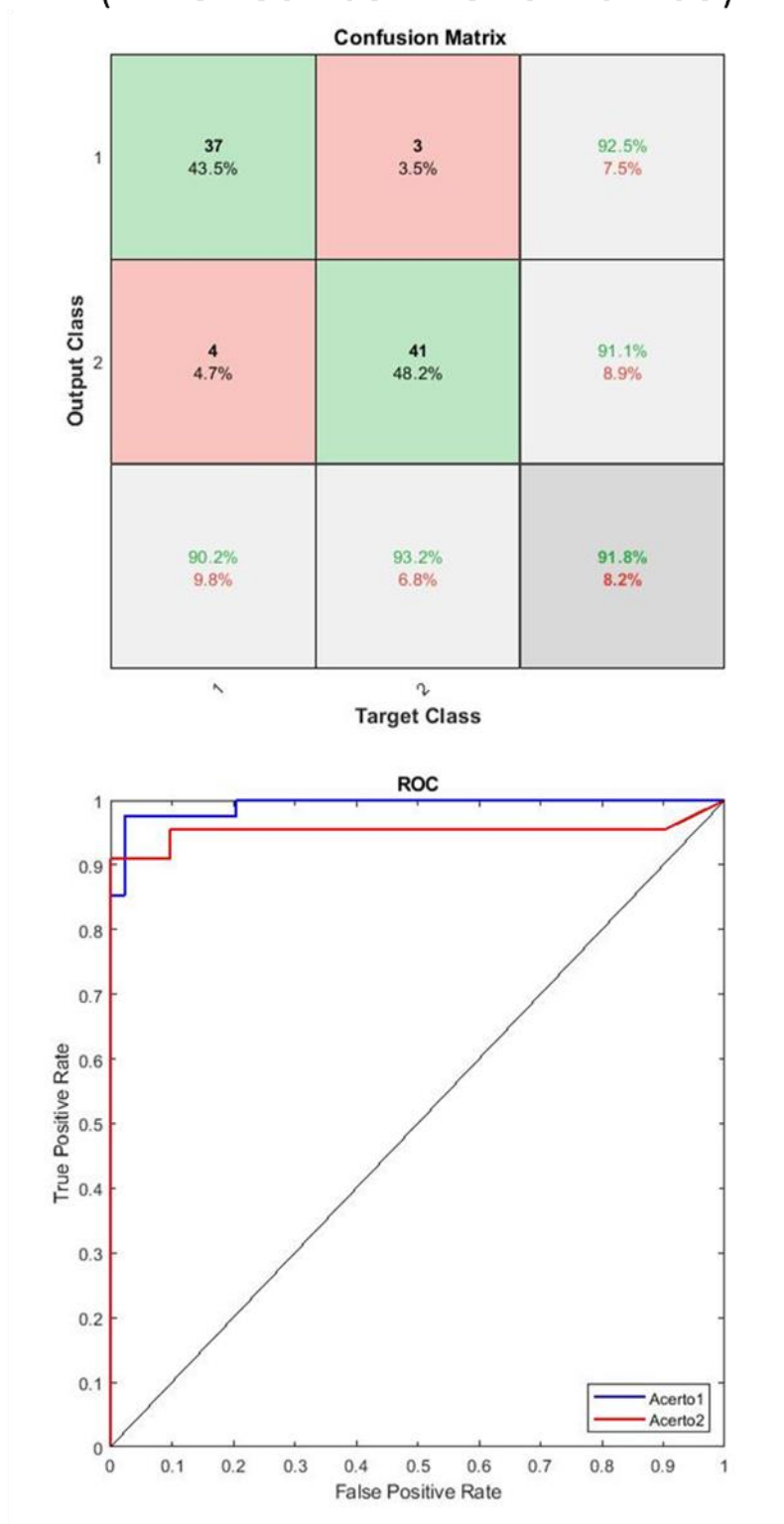
### **Rede MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES (com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade) – REDE 8**

Com a aplicação das 25 variáveis da morfocinética, da paciente e variáveis celulares como entrada para a RNA, sendo 17 da morfocinética e 8 da paciente e celulares – com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade –, a Figura H1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento e a Figura H2, para os dados do teste. Esta IA obteve 91,8% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 90,2% e para embriões aneuploides de 93,2%, no treinamento (matriz de confusão da Figura H1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 84,2%, sendo de 77,8% e de 90,0% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura H2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura H3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura H4 para os dados do teste-cego. A IA obteve 58,1% de acerto geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura H3), e de 67,6% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura H4).

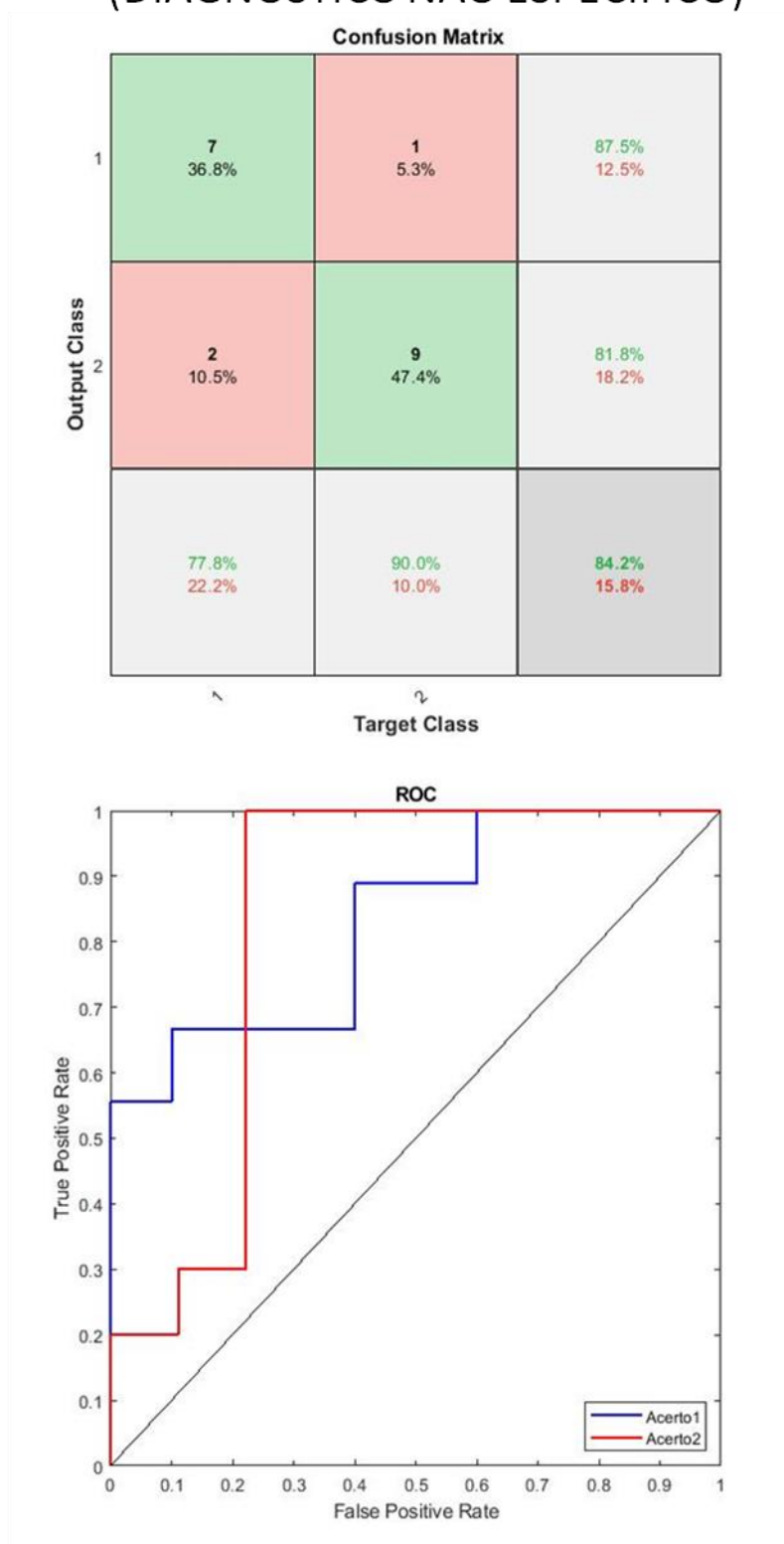
Já a Tabela H1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9922, 0,8333, 0,6771 e 0,6578 para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,9523, 0,8333, 0,7083 e 0,6137, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO – MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



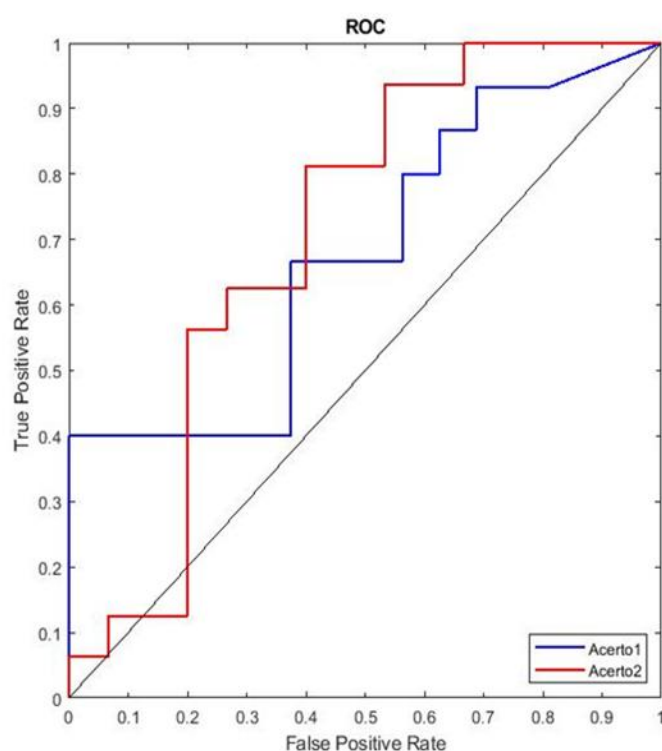
**Figura H1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do treinamento, considerando a REDE 8 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE – MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



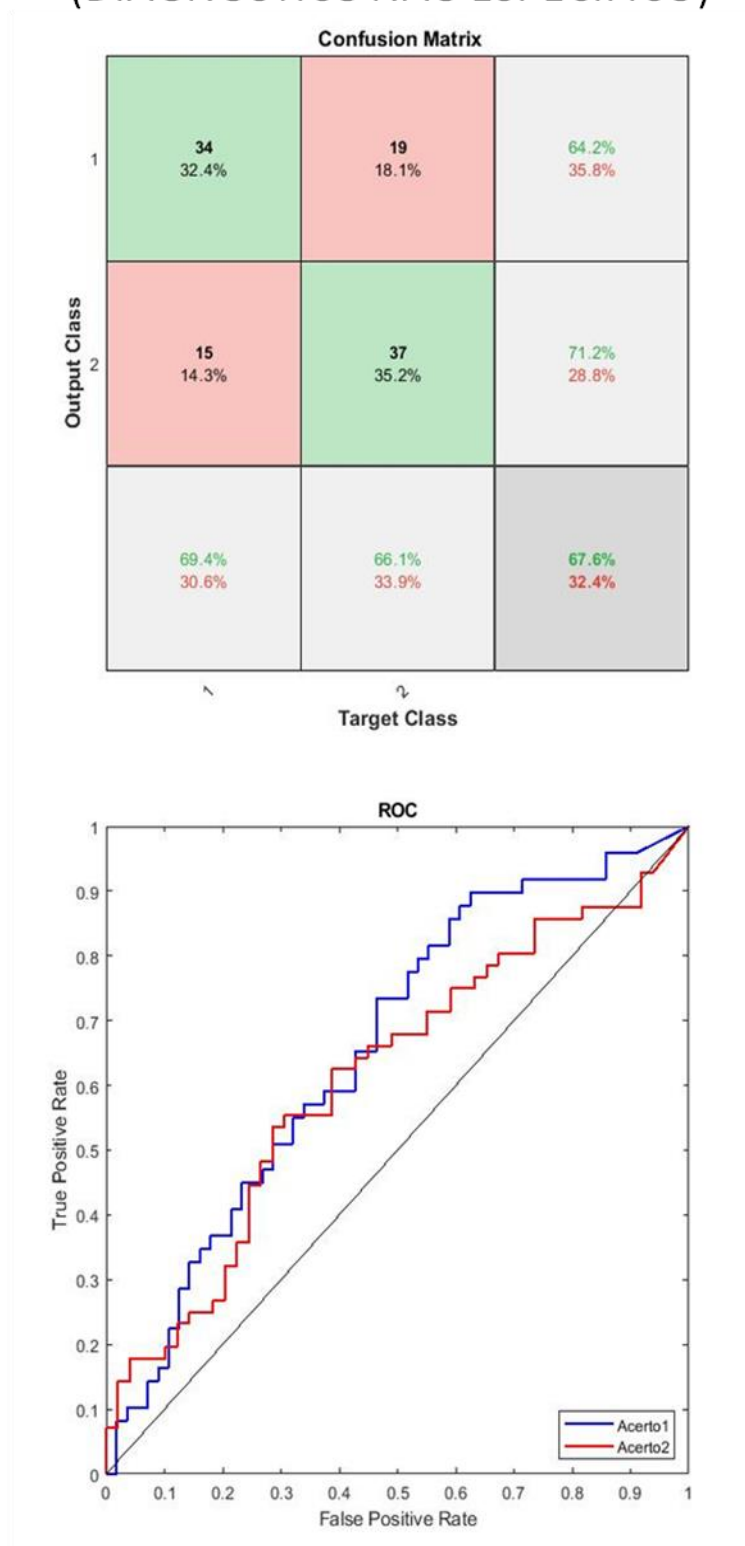
**Figura H2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste, considerando a REDE 8 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## SIMULAÇÃO – MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



**Figura H3.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados da simulação, considerando a REDE 8 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE-CEGO – MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



**Figura H4.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste-cego, considerando a REDE 8 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela H1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 8 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade).

<b>TABELA H1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 8</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9922
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9523
AUC Teste – EUPLOIDE	0,8333
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,8333
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,6771
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,7083
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,6578
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,6137

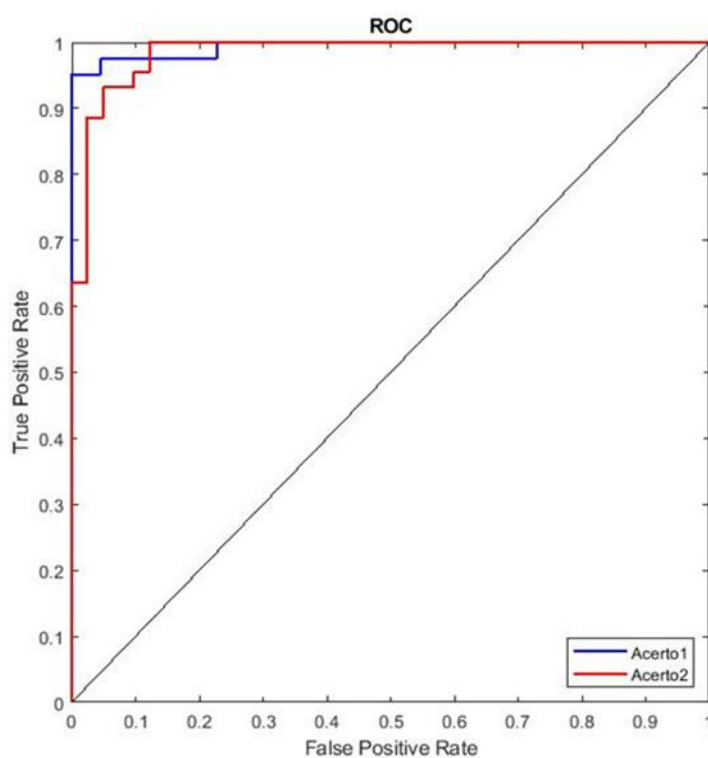
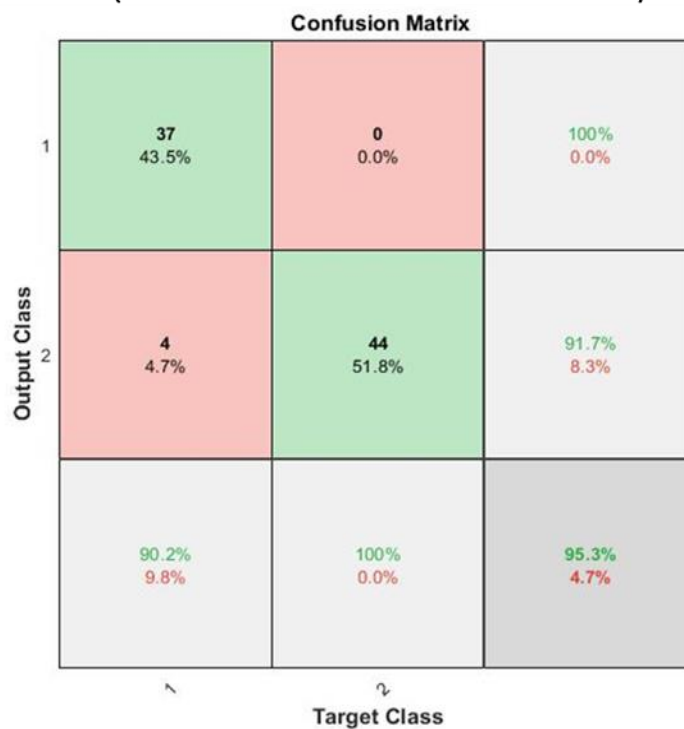
### **Rede MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES (com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade) – REDE 9**

Com a aplicação das 29 variáveis da morfocinética, da paciente e variáveis celulares como entrada para a RNA, sendo 17 da morfocinética e 12 da paciente e celulares – com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade –, a Figura I1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento e a Figura I2, para os dados do teste. Esta IA obteve 95,3% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 90,2% e para embriões aneuploides de 100,0%, no treinamento (matriz de confusão da Figura I1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 84,2%, sendo de 77,8% e de 90,0% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura I2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura I3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura I4 para os dados do teste-cego. A IA obteve 54,8% de acerto geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura I3), e de 66,7% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura I4).

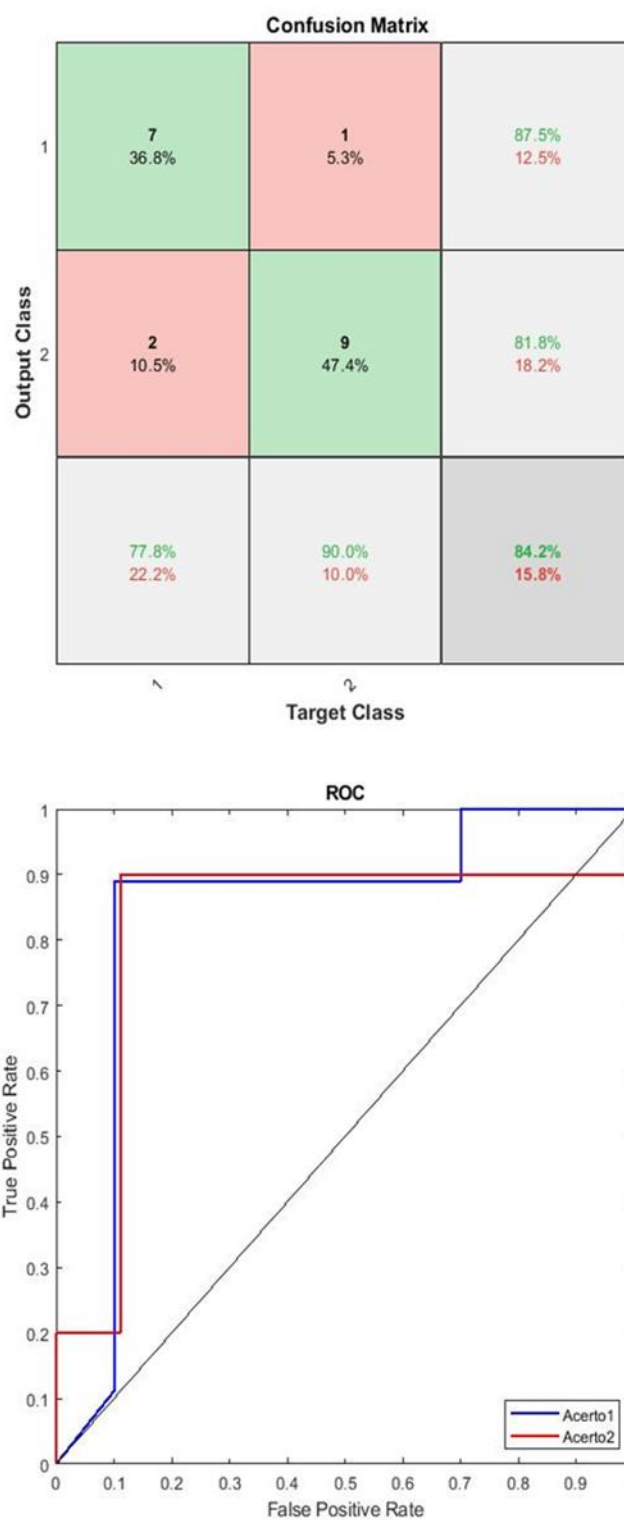
Já a Tabela I1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9933, 0,8389, 0,6438 e 0,6574 para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,9839, 0,8222, 0,6271 e 0,6826, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO – MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



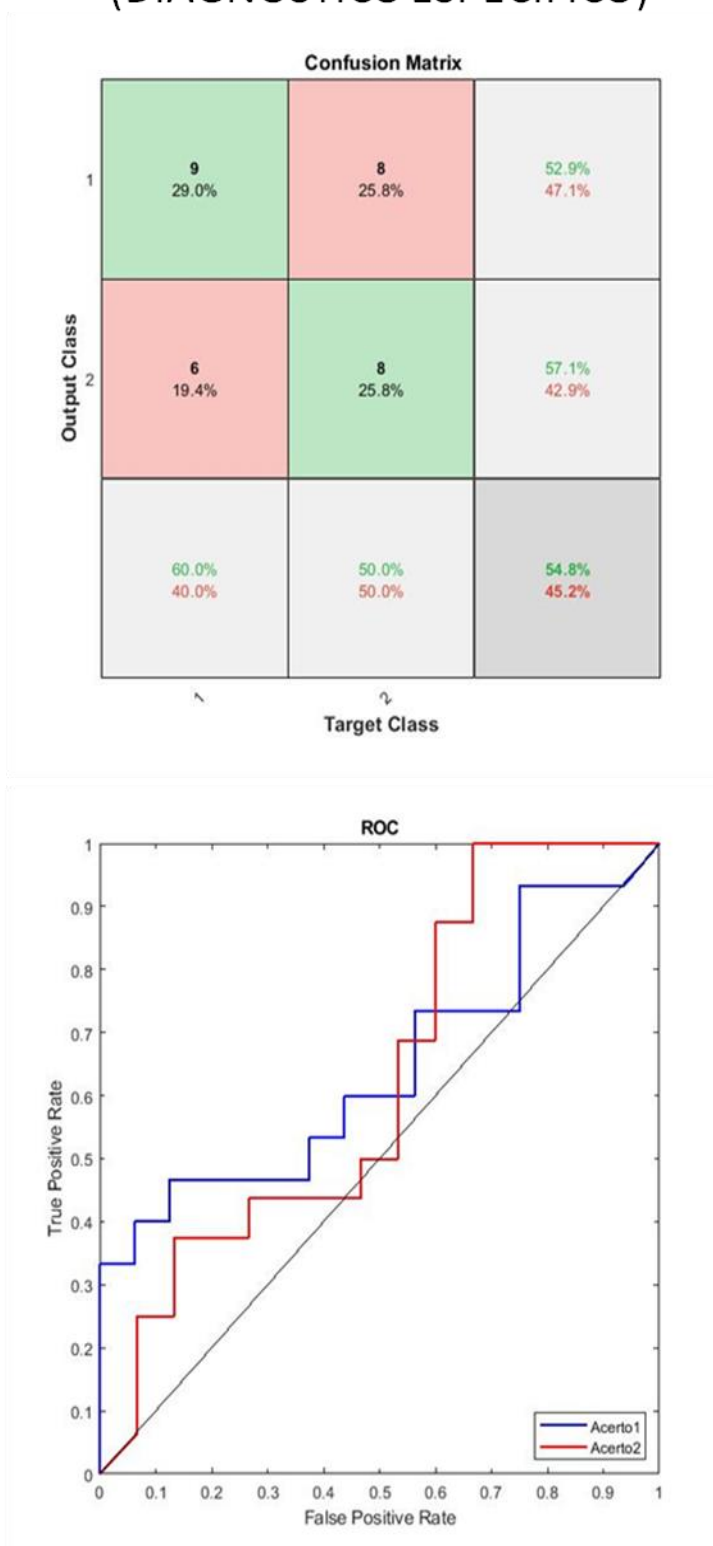
**Figura I1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do treinamento, considerando a REDE 9 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE – MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



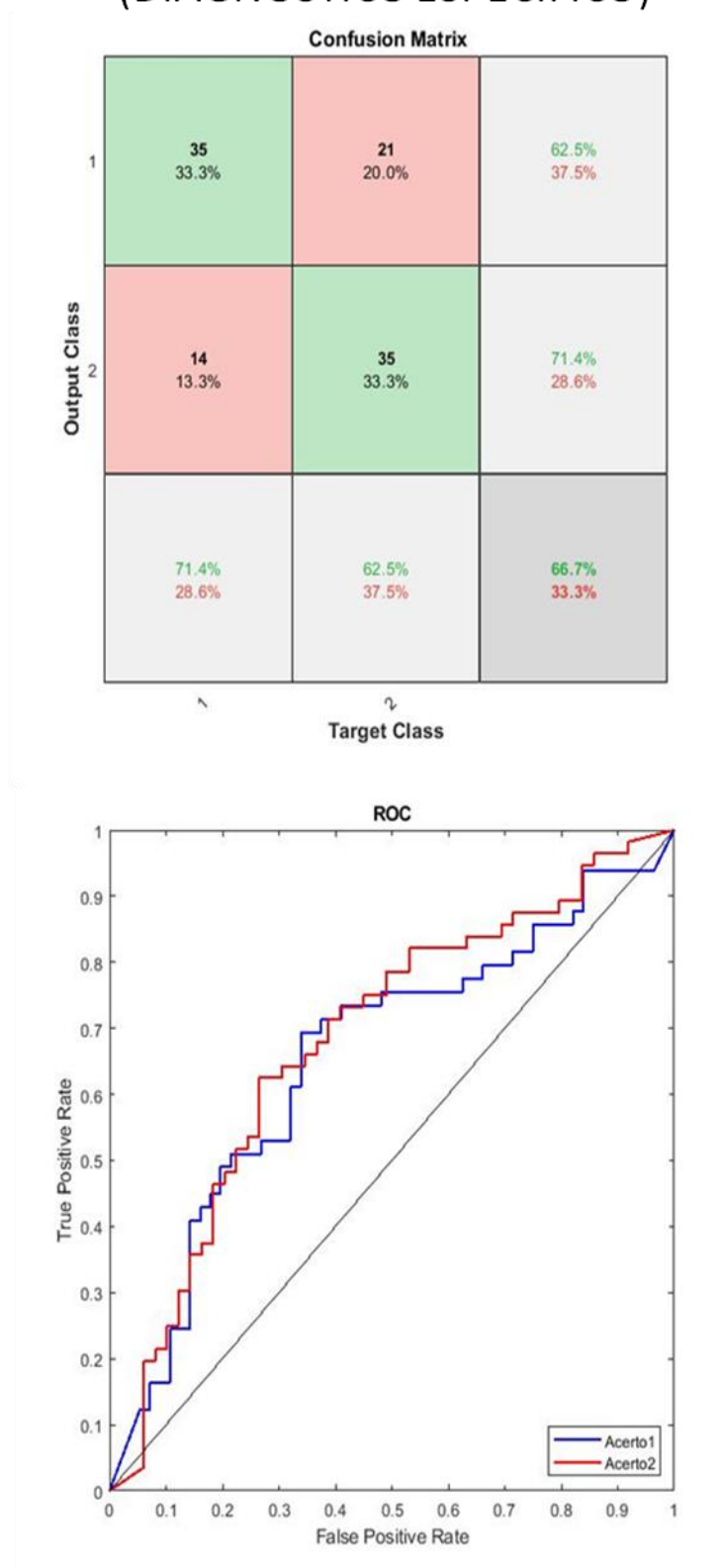
**Figura I2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste, considerando a REDE 9 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## SIMULAÇÃO – MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



**Figura I3.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados da simulação, considerando a REDE 9 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE-CEGO – MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO)



**Figura 14.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste-cego, considerando a REDE 9 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela I1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 9 (MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnósticos específicos para as causas de infertilidade).

<b>TABELA I1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 9</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9933
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9839
AUC Teste – EUPLOIDE	0,8389
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,8222
AUC Simulação – EUPLOIDE	0,6438
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,6271
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,6574
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,6826

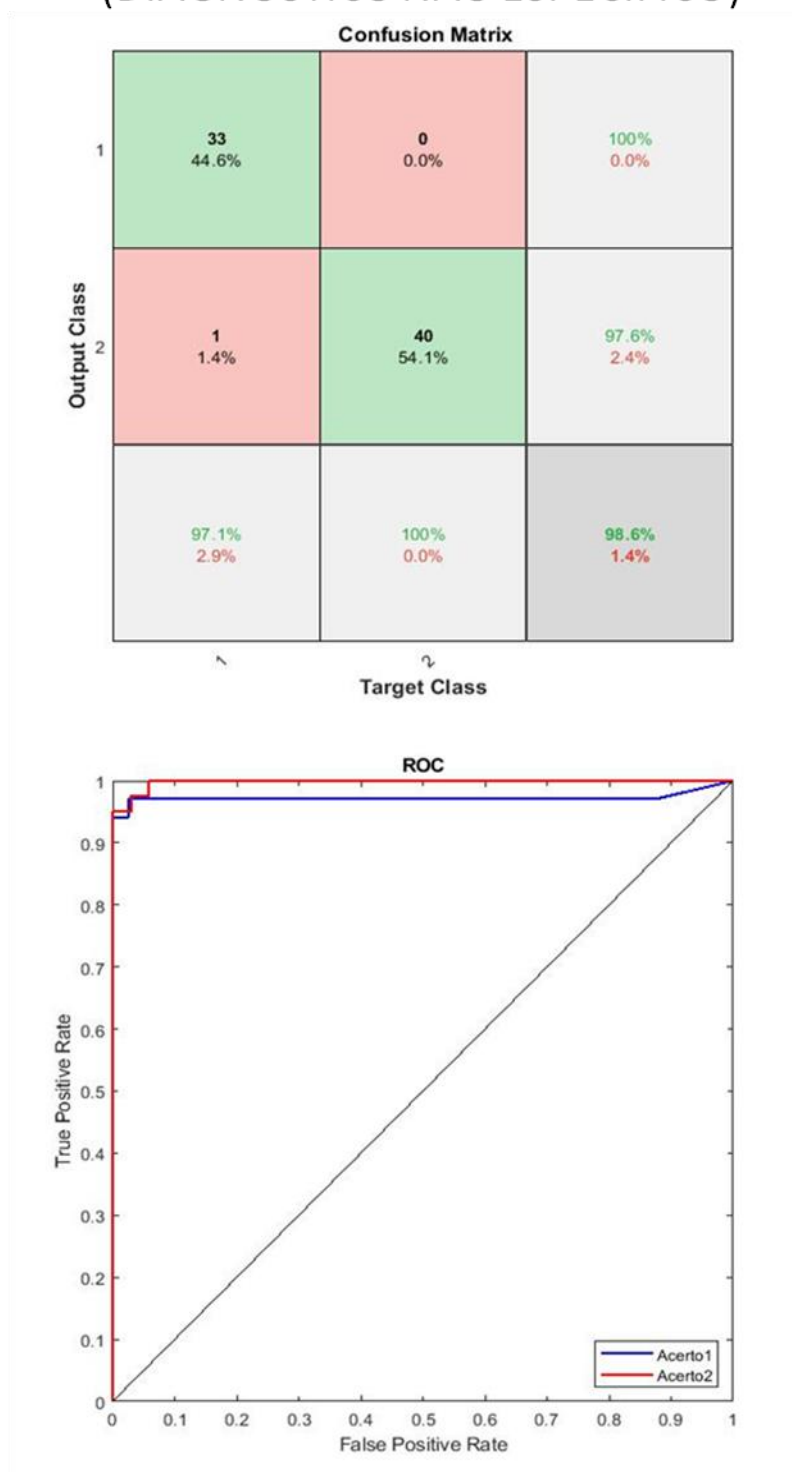
### **Rede MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES (com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade) – REDE 10**

Com a aplicação das 58 variáveis da morfologia, da morfocinética, da paciente e variáveis celulares como entrada para a RNA, sendo 33 da morfologia, 17 da morfocinética e 8 da paciente e celulares – com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade –, a Figura J1 mostra os resultados da matriz de confusão e a curva ROC para os dados do treinamento e a Figura J2, para os dados do teste. Esta IA obteve 98,6% de acerto geral, sendo que para os embriões euploides o acerto foi de 97,1% e para embriões aneuploides de 100,0%, no treinamento (matriz de confusão da Figura J1). Com relação aos dados do teste, o resultado do acerto geral foi de 66,7%, sendo de 57,1% e de 75,0% para embriões euploides e aneuploides, respectivamente (matriz de confusão da Figura J2).

Com relação aos resultados da simulação e do teste-cego, a Figura J3 representa a matriz de confusão e a curva ROC para os dados da simulação e a Figura J4 para os dados do teste-cego. A IA obteve 73,1% de acerto geral, para os dados da simulação (matriz de confusão da Figura J3), e de 61,8% no acerto geral para os dados do teste-cego (matriz de confusão da Figura J4).

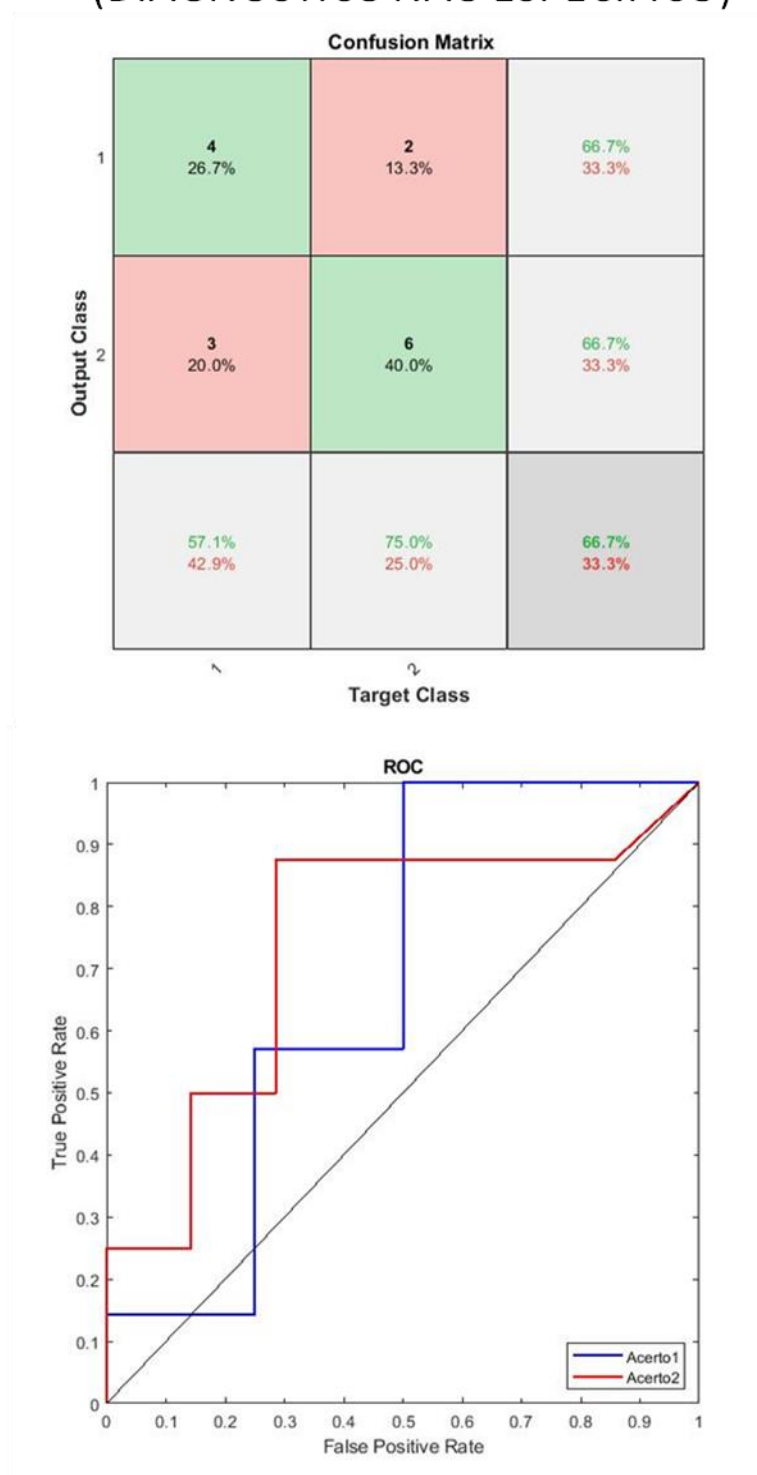
Já a Tabela J1 mostra os resultados de AUC, que foram de 0,9717, 0,6786, 0,6905 e 0,6534 para os dados do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego, nesta ordem, quando consideramos os embriões euploides, e de 0,9978, 0,7411, 0,8095 e 0,6306, quando consideramos os embriões aneuploides.

## TREINAMENTO – MORFOLOGIA, MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



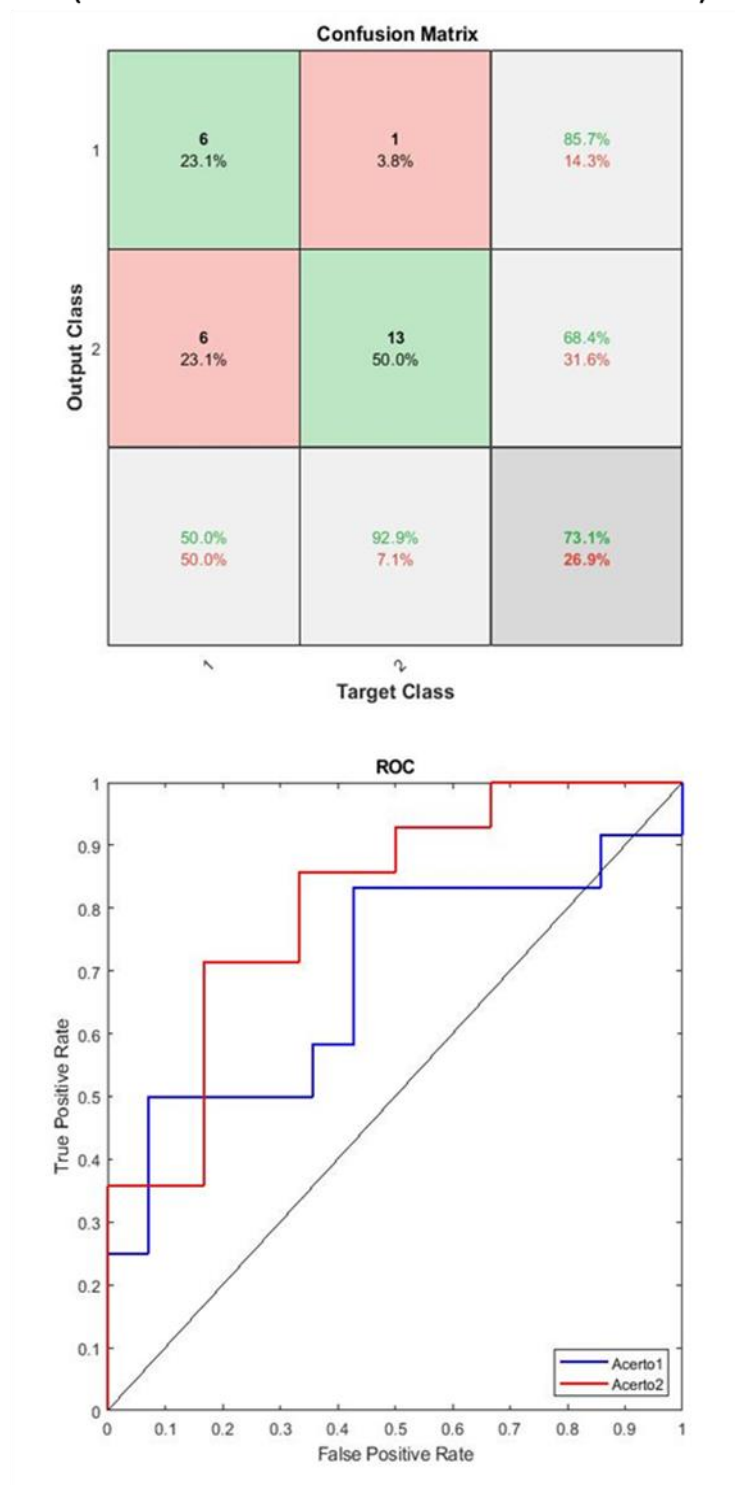
**Figura J1.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do treinamento, considerando a REDE 10 (MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE – MORFOLOGIA, MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



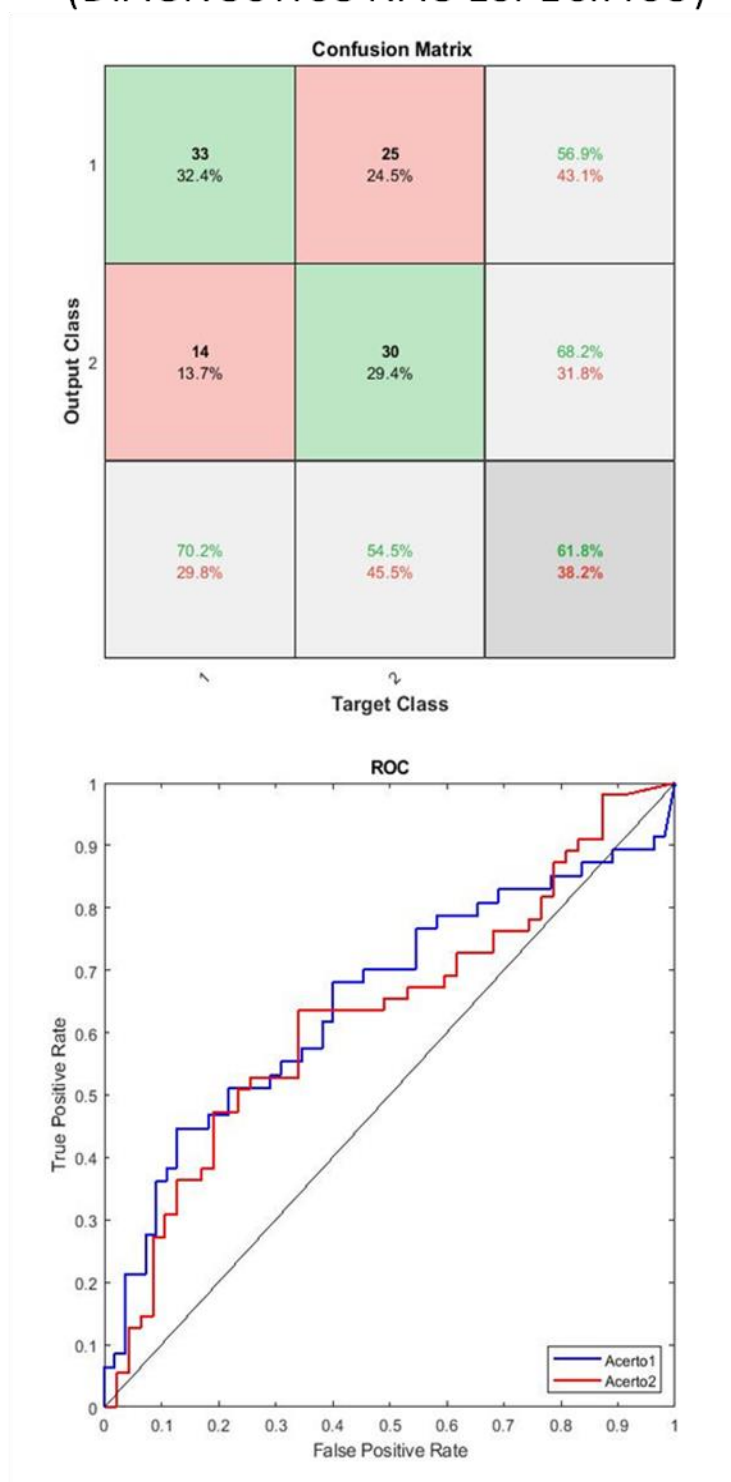
**Figura J2.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste, considerando a REDE 10 (MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## SIMULAÇÃO – MORFOLOGIA, MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



**Figura J3.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados da simulação, considerando a REDE 10 (MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

## TESTE-CEGO – MORFOLOGIA, MORFOCINÉTICA E PACIENTE-CELULARES (DIAGNÓSTICO NÃO ESPECÍFICO)



**Figura J4.** Matriz de confusão e curva ROC para os dados do teste-cego, considerando a REDE 10 (MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade). Acerto 1 – Acerto para embrião euploide; Acerto 2 – Acerto para embrião aneuploide.

**Tabela J1.** Valores de AUC do treinamento, do teste, da simulação e do teste-cego para a REDE 10 (MORFOLOGIA + MORFOCINÉTICA + PACIENTE-CELULARES, com diagnóstico não específico para as causas de infertilidade).

<b>TABELA J1</b>	
<b>VALORES DE AUC - REDE 10</b>	
AUC Treinamento – EUPLOIDE	0,9717
AUC Treinamento – ANEUPLOIDE	0,9978
AUC Teste – EUPLOIDE	0,6786
AUC Teste – ANEUPLOIDE	0,7411
UC Simulação – EUPLOIDE	0,6905
AUC Simulação – ANEUPLOIDE	0,8095
AUC Teste-cego – EUPLOIDE	0,6534
AUC Teste-cego – ANEUPLOIDE	0,6306