

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PREDIÇÃO DE BATIMENTO CARDÍACO FETAL POR MEIO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL E DE VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS, MORFOCINÉTICAS E RELACIONADAS COM A PACIENTE

Nome: Dóris Spinosa Chéles

Orientador: Marcelo Fábio Gouveia Nogueira

Programa de Farmacologia e Biotecnologia - Instituto de Biociências de
Botucatu (IBB) - Universidade Estadual Paulista (UNESP). Curso: Mestrado.

DÓRIS SPINOSA CHÉLES

**PREDIÇÃO DE BATIMENTO CARDÍACO FETAL POR MEIO DE
INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL E DE VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS,
MORFOCINÉTICAS E RELACIONADAS COM A PACIENTE**

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências de
Botucatu (IBB) - UNESP -
Universidade Estadual Paulista
para a obtenção do título de
Mestre em Farmacologia e
Biotecnologia.

Orientador: Marcelo Fábio
Gouveia Nogueira

Coorientador: José Celso Rocha

Botucatu

2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Chéles, Dóris Spinosa.

Predição de batimento cardíaco fetal por meio de inteligência artificial e de variáveis morfológicas, morfocinéticas e relacionadas com a paciente / Dóris Spinosa Chéles. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Marcelo Fábio Gouveia Nogueira

Coorientador: José Celso Rocha

Capes: 90400003

1. Reprodução humana. 2. Inteligência artificial - Aplicações médicas. 3. Embriologia. 4. Morfologia.

Palavras-chave: Embriologia; Inteligência artificial; Reprodução humana.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio à pesquisa (auxílio e bolsa - nº 2017/19323-5 e nº 2020/07634-9), bem como os recursos computacionais, instalações, equipamentos e assistência fornecidos pela Faculdade de Ciências e Letras, UNESP/Assis. Agradecemos à IVI Valencia, clínica parceira no fornecimento de dados para este trabalho. O presente trabalho também foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

1 Introdução geral	8
1.1 Introdução	8
1.2 Sistema time-lapse	9
1.3 Processamento de imagens	10
1.3.1 Transformada de Hough	11
1.3.2 Análises de textura	11
1.4 Morfocinética embrionária	11
1.5 Pacientes.....	13
1.6 Inteligência artificial	14
1.6.1 Redes neurais artificiais	15
1.6.2 Algoritmo genético	16
1.7 Análises estatísticas	16
1.7.1 Análise de colinearidade.....	17
1.7.2 Simulação.....	17
1.7.3 Matriz de confusão	17
1.7.4 Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve e Area Under the Curve (AUC)	18
2 Materiais e Métodos	19
2.1 Desenvolvimento do banco de dados	19
2.2 Morfologia embrionária	21
2.3 Morfocinética embrionária.....	29
2.4 Pacientes.....	30
2.4.1 Idade	31
2.4.2 Índice de massa corporal	31
2.4.3 Número de oócitos	32
2.4.4 Tentativas anteriores	32
2.5 Implementação das técnicas de inteligência artificial	33
2.6 Referências Bibliográficas.....	44

3 Artigo	56
3.1 Introdução	59
3.2 Materiais e Métodos.....	61
3.2.1 Desenho do estudo.....	61
3.2.2 Morfologia do blastocisto	62
3.2.3 Morfocinética embrionária.....	64
3.2.4 Parâmetros relacionados com a paciente	66
3.2.5 Implementação das técnicas de IA.....	68
3.2.6 Análises estatísticas	68
3.3 Resultados.....	69
3.4 Discussão.....	80
3.5 Referências	85
4 Conclusão	93
5 Perspectivas Futuras	95
6 Atividades Acadêmicas desenvolvidas pela Aluna	96
7 Anexo 1	98
7.1 Variáveis com colinearidade	98
7.2 Resultados gerados pelas RNAs	101
7.3 Relação do número de melhores RNAs obtidas	157
8 Anexo 2	158
Normas de publicação – Human Reproduction.....	158

RESUMO

As tecnologias de reprodução assistida vêm sendo cada vez mais utilizadas e aprimoradas com o passar do tempo. Para a transferência embrionária, a escolha do embrião de melhor qualidade é uma etapa decisiva para a ocorrência de gestação. Para isso, os embriologistas dispõem de sistemas de classificação no momento da avaliação embrionária. Entretanto, esta avaliação é dependente da experiência que os embriologistas possuem e consequentemente é influenciada pela subjetividade intrínseca, tanto entre avaliadores diferentes quanto pelo mesmo avaliador. Além disso, os conhecimentos acerca dos tempos do desenvolvimento embrionário – facilitado pela implementação do sistema time-lapse na rotina laboratorial – e acerca das características relacionadas com a paciente que passa pelo tratamento de reprodução assistida são fatores que podem auxiliar no momento da seleção embrionária, e potencialmente, melhorar a taxa de gestação obtida em clínicas. Portanto, uma forma de avaliação objetiva é necessária para melhorar o sucesso destas tecnologias. Assim, foram utilizados três conjuntos de variáveis de entrada distintas (morfologia do blastocisto, morfocinética embrionária e características relacionadas com a paciente) para a aplicação em inteligência artificial (redes neurais artificiais e algoritmo genético). Para a morfologia, foi realizado o processamento digital de imagens de blastocistos humanos para a obtenção de variáveis preditivas da qualidade do blastocisto. Para a morfocinética, foram utilizados parâmetros relacionados aos tempos do desenvolvimento embrionário. Para a paciente, foram elaboradas pontuações para cada variável de entrada com base em pesquisa bibliográfica. Estes conjuntos de variáveis foram treinados e simulados separadamente e em conjunto para prever o batimento cardíaco fetal. Além disso, os três conjuntos juntos também foram utilizados para prever o nascimento vivo. Considerando os três conjuntos juntos como entrada, a melhor rede neural artificial encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal obteve uma acurácia geral de 95,2% no treinamento e 78,4% na simulação. Já a melhor rede encontrada para a predição de nascimento vivo obteve uma acurácia geral de 98,0% no treinamento e 81,1% na simulação. Dessa forma, a aplicação de inteligência artificial apresenta potencial para auxiliar, de forma objetiva, os embriologistas durante a

escolha do embrião mais apto para a transferência, e assim, transpassar do campo *in silico* (laboratorial) em direção à prática clínica na reprodução assistida.

ABSTRACT

Assisted reproduction technologies have been increasingly used and improved over time. For embryo transfer, choosing the best quality embryo is a decisive step for the pregnancy occurrence. For this, embryologists have classification systems at the moment of embryos evaluation. However, this evaluation depends on the embryologists' experience and, consequently, is influenced by intrinsic subjectivity, both between different evaluators and by the same evaluator. In addition, knowledge about the times of embryo development - facilitated by the implementation of the time-lapse system in the laboratory routine - and about the characteristics related to the patient undergoing assisted reproduction treatment are factors that can help at the time of embryo selection, and potentially improve the pregnancy rate achieved in clinics. Therefore, an objective evaluation is necessary to improve the success of these technologies. Thus, three sets of distinct input variables (blastocyst morphology, embryo morphokinetics and patient-related characteristics) were used for application in artificial intelligence (artificial neural networks and genetic algorithm). For morphology, digital image processing of human blastocysts was performed to obtain predictive variables of blastocyst quality. For morphokinetics, parameters related to the times of embryo development were used. For the patient, scores were developed for each input variable based on a literature search. These sets of variables were trained and simulated separately and together to predict fetal heartbeat. In addition, the three sets together were also used to predict live birth. Considering the three sets together as input, the best artificial neural network found for the prediction of fetal heartbeat had an overall accuracy of 95.2% in training and 78.4% in simulation. The best artificial neural network for live birth prediction had an overall accuracy of 98.0% in training and 81.1% in simulation. Thus, the application of artificial intelligence has the potential to objectively assist embryologists during the choice of the most suitable embryo for transfer, and thus, moving from the *in silico* (laboratory) field towards clinical practice in assisted reproduction.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ART - Assisted Reproductive Technology;

IA - Inteligência Artificial;

GLCM - Gray Level Co-occurrence Matrix;

LBP - Local Binary Patterns;

RNA - Rede Neural Artificial;

AG - Algoritmo Genético;

ROC - Receiver Operating Characteristic;

AUC - Area Under the Curve;

SET - Single Embryo Transfer;

DET - Double Embryo Transfer;

TE – Trofotoderme;

MCI - Massa Celular Interna;

EX - Expansão do blastocisto.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Esta dissertação para o programa de Mestrado em Farmacologia e Biotecnologia se encontra dividida em quatro seções principais. A primeira, denominada **Introdução Geral** aborda os aspectos teóricos do trabalho e metodologias utilizadas. A seção de **Materiais e Métodos** aborda os materiais e metodologias desenvolvidos e utilizados durante o trabalho de maneira mais detalhada. A parte subsequente, **Artigo**, corresponde a uma proposta de publicação resultante do trabalho efetuado. Finalizando, as seções **Anexos 1 e 2** compreendem uma parte dos resultados obtidos e as normas de publicação do periódico escolhido, respectivamente.

1.1 Introdução

As tecnologias de reprodução assistida, do inglês, assisted reproductive technology (ART) revolucionaram a fertilidade humana por meio do oferecimento de tratamentos reprodutivos a pacientes sub/inférteis. Desde o início da utilização destas técnicas, em 1978, com o nascimento de Louise Brown (Steptoe e Edwards, 1978), foi relatado que cerca de metade dos nascimentos obtidos por meio da ART ocorreram na última década, demonstrando o seu crescente uso e progressivo aprimoramento ao longo do tempo (Ledford, 2018; Sciorio *et al.*, 2019; Pinto *et al.*, 2021).

Durante a utilização destas técnicas em clínicas de reprodução assistida, a seleção do embrião de melhor qualidade a ser transferido para a paciente é uma etapa fundamental para o sucesso da futura gestação. Para isso, são utilizados parâmetros baseados em aspectos morfológicos do embrião e observados por meio de microscopia óptica para a avaliação de sua qualidade (Balaban *et al.*, 2011; Nasiri e Eftekhari-Yazdi, 2015; Puga-Torres *et al.*, 2017).

Dentre os sistemas de avaliação existentes, o mais utilizado no Brasil é o sistema de classificação desenvolvido por Gardner e Schoolcraft (1999), no qual a qualidade morfológica é avaliada com base no estágio de blastocisto, os quais incluem os estágios de expansão e eclosão: classificados de 1 (menor grau de expansão) a 6 (totalmente eclodido); os graus de compactação da massa celular interna, classificada de A (muitas células firmemente compactadas) a C (poucas células) e da trofotoderme, classificada de A (muitas células formando epitélio

coeso) a C (células grandes e escassas) (Balaban *et al.*, 2011; Puga-Torres *et al.*, 2017; Van Den Abbeel *et al.*, 2013).

Com base nisso, a seleção embrionária depende da experiência do avaliador (embriologista) no momento da classificação e, além disso, pode ser influenciada pelo seu humor, fadiga *etc.* Portanto, a subjetividade e consequente divergências na classificação embrionária são fatores intrínsecos no momento da avaliação, tanto entre embriologistas (erro inter-observador) quanto pelo mesmo embriologista (erro intra-observador) (Sundvall *et al.*, 2013).

Assim, mesmo com os avanços obtidos ao longo do tempo e a existência de parâmetros que auxiliam na avaliação embrionária, a gestação após a ART não é garantida. A taxa de sucesso permanece baixa, em torno de 30 a 40% dos embriões produzidos *in vitro* resultam em gestação clínica, e cerca de 10 a 30% progridem para o nascimento a termo (Weitzman *et al.*, 2010; De Geyter, 2018; Vogiatzi *et al.*, 2019). Dessa maneira, uma forma de avaliação objetiva e reprodutível é necessária para o aumento do sucesso gestacional na ART.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a exequibilidade de variáveis originadas de três fontes distintas - morfologia do blastocisto, morfocinética do desenvolvimento embrionário e características relacionadas com a paciente que passa pelo tratamento de reprodução assistida - serem preditivas de gestação por meio da detecção de batimento cardíaco fetal, quando utilizadas como entradas para um software baseado em inteligência artificial (IA).

1.2 Sistema time-lapse

Nas clínicas, em geral, os embriologistas retiram os embriões das incubadoras algumas vezes para avaliar sua morfologia. Todavia, esta avaliação não permite o pleno acesso à dinâmica de todo o desenvolvimento embrionário. Além disso, retirá-los em excesso pode submeter as células ao estresse oxidativo e prejudicar o seu desenvolvimento (Kovacs, 2014; Cruz *et al.*, 2011).

Em busca do aumento da taxa de gestação, os sistemas de cultivo de embriões vêm sendo melhorados, aliados à implementação de uma cultura ininterrupta, a qual permite o acompanhamento do desenvolvimento embrionário sem a necessidade de retirá-los da incubadora (Kovacs, 2014).

O sistema time-lapse inclui uma incubadora acoplada a um microscópio e câmeras conectadas a um computador externo. As imagens capturadas são

dadas em intervalos definidos, podendo ser entre 5 a 20 minutos, e em até 11 planos focais. O agrupamento das imagens capturadas por este sistema forma um vídeo, o qual permite o acesso, de modo não-invasivo, à morfologia e à morfocinética (tempos do desenvolvimento) embrionárias (Wong *et al.*, 2010; Milewski e Ajduk, 2017; Rubio *et al.*, 2012; Kovacs, 2014; Minasi *et al.*, 2020).

Dentre os equipamentos que utilizam o sistema time-lapse estão o Primo Vision® (Vitrolife), o Geri® (Genea Biomedx) e o EmbryoScope® (Vitrolife). O investimento nestes equipamentos vêm crescendo dentro das clínicas, com o intuito de melhorar a seleção embrionária (Tejera *et al.*, 2016; Aparicio-Ruiz *et al.*, 2018). Em comparação à avaliação estática convencional, o sistema time-lapse tem possibilitado que mais de um embriologista realize várias observações do mesmo embrião, permitindo um controle não-invasivo de todo o seu desenvolvimento (Meseguer *et al.*, 2012).

1.3 Processamento de imagens

Após a obtenção de imagens mediante sistema time-lapse, é possível realizar o processamento digital de imagens, e posterior extração automatizada de variáveis preditivas da qualidade morfológica do blastocisto humano (Rocha *et al.*, 2018).

O processamento digital de imagens refere-se a técnicas computacionais utilizadas para o aprimoramento de imagens. Estas técnicas permitem a extração de características quantitativas da imagem, como aquelas relacionadas à circularidade, padrões de luminosidade, textura, entre outras (Gonzalez e Woods, 2007; Rocha *et al.*, 2016).

Técnicas de processamento digital de imagens foram realizadas anteriormente para a seleção semiautomatizada da qualidade de blastocistos de camundongos (Matos *et al.*, 2014) e para a seleção automatizada de blastocistos bovinos (Rocha *et al.*, 2017a e 2017b).

Descrições detalhadas de cada etapa podem ser encontradas na seção de **Materiais e Métodos**, sendo que, os próximos tópicos abordarão os aspectos teóricos das principais técnicas utilizadas.

1.3.1 Transformada de Hough

A Transformada de Hough pode ser considerada um dos métodos mais utilizados para a detecção de qualquer forma definida, e mais especificamente, de círculos em processamento de imagens, por meio da Circle Hough Transform. De forma resumida, esta transformada realiza um mapeamento entre o espaço da imagem e um espaço de parâmetros, considerando como base uma versão binária da imagem original, após tal imagem ter sido submetida à um procedimento de detecção de bordas (Atherton e Kerbyson, 1999; Matos, 2014).

1.3.2 Análises de textura

A textura é uma característica relevante para a identificação de regiões de interesse em uma imagem. A textura pode ser definida como padrões aleatórios regulares que se repetem por uma região, de maneira a fornecer informações sobre o arranjo estrutural da superfície em uma imagem (Haralick *et al.*, 1973; Roberti de Siqueira *et al.*, 2013; Matos, 2014).

Dentre os sistemas para a classificação de texturas, está a Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM), a qual pode ser considerada um método robusto na classificação de texturas, por meio de uma matriz de co-ocorrência, a qual descreve a distribuição espacial de valores de cinza em uma determinada área (Hu *et al.*, 2008, Matos, 2014).

O método de Local Binary Patterns (LBP) refere-se à outra técnica de classificação de texturas, a qual pode ser utilizada como operador local de textura, pela descrição de texturas locais em escala de cinza, com base na análise de variações locais e na atribuição de valores para diferentes padrões na imagem (Ojala *et al.*, 1996; Nanni *et al.*, 2010).

1.4 Morfocinética embrionária

Com a introdução do sistema time-lapse na rotina laboratorial, tornou-se possível o acompanhamento da cinética do desenvolvimento embrionário de forma contínua. A análise dos tempos das divisões celulares vêm sendo correlacionada com a viabilidade embrionária (Lundin *et al.*, 2001; Mio e Maeda, 2008; Meseguer *et al.*, 2011).

Os parâmetros morfocinéticos apresentam nomenclaturas definidas de acordo com o evento ocorrido em cada etapa do desenvolvimento embrionário (Tabela 1) e vêm sendo utilizados para auxiliar os embriologistas a identificarem os embriões de melhor qualidade. Embora a morfologia embrionária seja considerada o padrão ouro na avaliação embrionária até hoje, os parâmetros da morfocinética vêm demonstrando potencial para refinar a seleção embrionária (Storr *et al.*, 2015; ESHRE Working group on Time-lapse technology, 2020).

Tabela 1 Nomenclatura dada aos principais parâmetros derivados da morfocinética embrionária.

Adaptado de: ESHRE Working group on Time-lapse technology, 2020.

Terminologia	Descrição do evento morfocinético
tPB2	O segundo corpúsculo polar é completamente separado do oolema
tPNa	Aparecimento de pronúcleos individuais; tPN1a, tPN2a, tPN3a...
tPNf	Período de desaparecimento dos pronúcleos; tPN1f; tPN2f...
tZ	Último período antes do tPNf
tn	Primeiro frame em que um embrião atinge "n" número de blastômeros (t2, t3, t4...)
tTM	Mitose tricotômica em diferentes estágios
tSC	Primeira evidência de compactação
tM	Tempo de conclusão do processo de compactação
tSB	Início da blastulação
tB	Blastocisto em que a blastocle atinge aproximadamente metade do volume do embrião
tE ou tEB	Início da expansão
tHN	Fim da fase de expansão e início do processo de eclosão
tHD ou tHB	Blastocisto totalmente eclodido
Psyn	Tempo desde o desaparecimento do pronúcleo até a primeira citocinese
Não mencionado	Tempo entre a quebra do envelope nuclear e a divisão subsequente em duas células
s2	Tempo entre a divisão em três células e a

	divisão subsequente em quatro células
s3	Tempo entre a divisão em cinco células e a divisão subsequente em oito células
ECCI	Duração do primeiro ciclo celular (t2-tPB2)
cc2	Ciclo celular do blastômero: Duração do segundo ciclo celular
cc3	Ciclo celular do blastômero: Duração do terceiro ciclo celular
ECC2	Ciclo celular do embrião: t4-t2
ECC3	Ciclo celular do embrião: t8-t4
Contração do blastocisto	Diminuição do volume da blastocela
tRE	Tempo de início da reexpansão
tCRE	Tempo de conclusão da reexpansão

Alguns dos trabalhos que utilizaram marcadores morfocinéticos, identificaram diferentes parâmetros como preditivos de implantação: t3, cc2 e t5 (Basile *et al.*, 2015); tSB (Goodman *et al.*, 2016); s2, cc3 e t5 (Barrie *et al.*, 2017). Dessa forma, atualmente, não há um algoritmo proveniente de sistema time-lapse que origine um padrão morfocinético coeso e universalmente aceito (Kaser e Racowsky, 2014; Aparicio-Ruiz *et al.*, 2018).

1.5 Pacientes

É crescente a procura e demanda por tratamentos de reprodução assistida, em razão do aumento dos problemas relacionados à sub/infertilidade. Além disso, atualmente há a tendência, cada vez maior, da mulher postergar a maternidade, em razão de diversos fatores, como estratégias anticoncepcionais eficazes e a priorização dos objetivos de carreira profissional (Mills *et al.*, 2011; Leridon, 2004; Zahmatkeshan *et al.*, 2019; Leader *et al.*, 2018).

Nas últimas décadas, vem ocorrendo um aumento do número de mulheres que optam por uma gestação biologicamente mais tardia (igual ou acima de 35 anos). Assim, a crescente prevalência da infertilidade pode ser fortemente associada com o envelhecimento reprodutivo (Mills *et al.*, 2011;

Schmidt *et al.*, 2012; Leader *et al.*, 2018; Kahveci *et al.*, 2018; Klein e Sauer, 2001).

Além da idade materna avançada, o índice de massa corporal (IMC) da paciente influencia o sucesso gestacional e tem impacto sob a morfofocinética do desenvolvimento embrionário. A taxa de aborto foi considerada maior em mulheres abaixo do peso, comparadas com àquelas pacientes de peso normal. Já a obesidade materna foi relacionada a um desenvolvimento embrionário mais lento (Bartolacci *et al.*, 2019).

Durante o tratamento, mesmo após a estimulação ovariana, o número e a qualidade de oócitos disponíveis podem ser limitados, influenciando, também, o sucesso gestacional (Milachich *et al.*, 2016). Em relação à quantidade ideal de oócitos, não há consenso na literatura: Timeva *et al.* (2006) consideraram entre 5 e 15 oócitos; entre 11 e 15 oócitos maduros para Steward *et al.* (2014) e 15 oócitos, de acordo com Sunkara *et al.* (2011).

Além disso, há uma relação inversa entre o sucesso gestacional e a quantidade de tentativas anteriores malsucedidas de ciclos de tratamento, sendo que a primeira tentativa representa a maior chance de sucesso e após a quarta tentativa, a chance diminui drasticamente (Templeton *et al.*, 1996; Nelson e Lawlor, 2011).

1.6 Inteligência artificial

A utilização de sistemas baseados em IA constitui um dos avanços mais impactantes em diversos campos do conhecimento, incluindo a área médica. A IA refere-se a modelos preditivos capazes de identificar agrupamentos informativos dentro de um conjunto de dados. No aprendizado de máquina, por exemplo, um subcampo da IA, estes modelos tentam se aproximar da capacidade humana de reconhecer padrões, utilizando de forma objetiva, a ciência da computação (Greener *et al.*, 2022).

Dentre as técnicas que compõem a IA, duas específicas - redes neurais artificiais (RNAs) e algoritmos genéticos (AGs) - serão destacadas a seguir.

1.6.1 Redes neurais artificiais

As RNAs são baseadas na conectividade e comportamento de neurônios existentes em um cérebro biológico. Elas são formadas por neurônios artificiais organizados em camadas, as quais formam redes, sendo que a saída de uma camada também se torna a entrada para a próxima. As conexões, baseadas nas sinapses que ocorrem dentro do cérebro, possibilitam que um sinal flua da camada de entrada (inputs) para a camada de saída (outputs), por meio de camadas ocultas ou intermediárias. Esta configuração é denominada de redes neurais multicamadas (Goethals *et al.*, 2007; Haykin, 2001; Ruhoff *et al.*, 2010; Greener *et al.*, 2022).

As RNAs são exemplos de técnicas que apresentam a capacidade de aprendizado de máquina, por meio do treinamento, ou seja, a aplicação de um algoritmo de aprendizado, com o intuito de obter uma resposta que represente a informação atribuída (Kriesel, 2005).

O aprendizado pode ser denominado de supervisionado quando os dados do modelo são rotulados, isto é, mensurados experimentalmente ou atribuídos por seres humanos. Neste caso, o objetivo da RNA é encontrar uma associação entre a informação fornecida e o resultado rotulado. Já o aprendizado não supervisionado pode identificar padrões sem a necessidade de rotulá-los. Estas abordagens também podem ser combinadas de forma semi-supervisionada, quando conjuntos de dados rotulados são combinados com dados não rotulados (Greener *et al.*, 2022).

Geralmente, em um modelo de aprendizado supervisionado, um conjunto separado de validação é utilizado para monitorar o treinamento, sem influenciá-lo, com o objetivo de evitar um possível overfitting. Overfitting significa que o modelo está simplesmente memorizando as características dos dados de treinamento e perdendo a capacidade de generalização para novos dados. Os modelos que apresentam overfitting ou underfitting fornecerão previsões errôneas a partir de dados que não fazem parte do treinamento, e por isso, devem ser evitados. Uma vez treinado, o modelo pode ser testado com dados não utilizados para o treinamento (Kragh e Karstoft, 2021; Greener *et al.*, 2022).

Entre os algoritmos de aprendizado supervisionado, está o backpropagation, utilizado para ajustar os parâmetros do treinamento. Este algoritmo pode ser dividido em uma etapa de propagação, na qual ocorre o

cálculo dos sinais propagados pelos neurônios. Quando o algoritmo atinge a última camada, é realizado o cálculo do erro, quando o valor obtido é comparado com o valor esperado de saída. Em seguida, na etapa de retropropagação, os valores dos sinais são reajustados a partir da camada de saída até atingir a camada de entrada. Este processo ocorre de maneira iterativa até alcançar o critério mínimo de acurácia estabelecido (Haykin, 2001; Greener *et al.*, 2022).

1.6.2 Algoritmo genético

Os AGs constituem técnicas computacionais de otimização capazes de resolver problemas por meio de uma estratégia evolutiva. O algoritmo simula indivíduos inicialmente aleatórios, que contêm uma solução para um problema. Por meio de processos evolutivos, como crossing-over (produção de recombinação entre os indivíduos), mutação (agregação de modificações) e migração (uma parte dos indivíduos é trocada por indivíduos aleatórios), as melhores soluções são selecionadas para gerar seus sucessores e, da mesma forma, os melhores sucessores são escolhidos para se propagarem até que o limite de iterações determinado seja atingido por meio do critério de parada, o qual indica ao AG quando concluir as operações (Eiben e Smith, 2003; Carr, 2014).

Estas variações evolutivas possibilitam que o AG possa selecionar os indivíduos mais bem sucedidos a cada iteração do algoritmo, isto é, as RNAs com as melhores acurácias (Eiben e Smith, 2003; Pozo *et al.*, 2011).

1.7 Análises estatísticas

Geralmente, na reprodução assistida, o número de resultados negativos pode exceder o número de resultados positivos. O desequilíbrio de classes não é necessariamente indesejado, uma vez que o objetivo do modelo desenvolvido é estimar a chance real de gestação. Dessa forma, o modelo deve ser aplicado em dados de embriões e pacientes semelhantes à realidade, isto é, aprender sobre uma probabilidade enviesada de gestação (Kragh e Karstoft, 2021).

Neste caso, os conjuntos de dados não devem ser balanceados. Os conjuntos devem representar a distribuição realista do que ocorre em uma clínica, na qual o modelo se destina a ser usado (Kragh e Karstoft, 2021).

As métricas independentes de desequilíbrio de classe, como sensibilidade (taxa de verdadeiros positivos), especificidade (taxa de falsos positivos) e área abaixo da curva de característica de operação do receptor são técnicas estatísticas recomendadas para a interpretação do modelo (Kragh e Karstoft, 2021).

Aspectos teóricos de cada técnica estatística utilizada para a interpretação dos dados obtidos serão demonstrados a seguir.

1.7.1 Análise de colinearidade

A análise de colinearidade em variáveis utilizadas como entrada para RNAs é uma prática comum e recomendada (Walcza e Cerpa, 1999). Através desta análise é possível eliminar variáveis correlacionadas entre si, as quais apresentam o mesmo mérito preditivo para a constituição do programa e podem ser reduzidas para apenas uma delas (que seja representativa das demais) (Matos, 2014).

1.7.2 Simulação

A simulação, ou blind test, pode ser definida como um teste de acurácia em que o modelo de predição, já treinado, passa a ser testado com novos dados (European Avm Alliance, 2012). Após a seleção das RNAs de melhores acurácias, elas foram testadas com dados que não foram utilizados anteriormente para o treinamento da RNA. Dessa forma, o resultado obtido pela RNA foi comparado às saídas desejadas. Este teste permite uma análise de acurácia significativa e demonstra a robustez do programa utilizado.

1.7.3 Matriz de confusão

Uma forma de análise dos resultados obtidos por RNAs é por meio da Matriz de Confusão. Esta matriz permite observar o cruzamento entre os dados fornecidos pelas RNAs e o gabarito original, isto é, as observações reais (gestação ou não) com valores previstos (binários). Dessa maneira, é possível obter a acurácia geral do sistema, assim como a acurácia de cada classe

(Machart e Ralaivola, 2012). A acurácia corresponde a uma medida de desempenho mais intuitiva e é amplamente utilizada (Kragh e Karstoft, 2021).

1.7.4 Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve e Area Under the Curve (AUC)

Outra forma de análise é por meio de uma curva de Característica de Operação do Receptor ou curva ROC (do inglês Receiver Operating Characteristic). A curva ROC é obtida por meio de um gráfico com um diagrama de valores que representam a sensibilidade em função da especificidade. Ao contrário da acurácia, estas métricas são independentes da prevalência (Watson e Petrie, 2010; Kragh e Karstoft, 2021).

A área abaixo da curva ROC ou AUC (do inglês Area Under the Curve, também denominada de AUROC) é utilizada para comparar a acurácia geral de diferentes testes para a mesma condição e opera em valores preditivos contínuos, agregando desempenho em todos os limites de predição possíveis (Watson e Petrie, 2010; Kragh e Karstoft, 2021). Uma AUC próxima de 1,0 seria a acurácia perfeita (100%), enquanto os valores de 0,5 indicariam um acerto ao acaso e de 0,0 o acerto 100% errado.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção, serão detalhadas as etapas metodológicas desenvolvidas durante o trabalho. Na seção **Artigo**, estas metodologias serão novamente apresentadas de maneira mais resumida.

2.1 Desenvolvimento do banco de dados

Os dados utilizados neste trabalho foram fornecidos por meio de um convênio científico firmado entre os Profs. Drs. Marcelo F. G. Nogueira e José Celso Rocha (UNESP, Faculdade de Ciências e Letras, FCL, Assis/SP) e o Prof. Dr. Marcos Meseguer (Instituto Valenciano de Infertilidad, IVI-RMA, Valencia, Espanha). Os dados referem-se ao período de 2017 a 2019.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Matemática Aplicada, localizado na FCL, UNESP, Câmpus de Assis, sob a responsabilidade do Prof. José Celso Rocha e conta com 30 computadores.

O conjunto de dados está contido em uma planilha, a qual contém 369 dados relacionados aos embriões cultivados na clínica IVI e suas respectivas pacientes (sem identificação). Destes 369 dados, 354 imagens foram recebidas da clínica.

Com base na planilha fornecida, há disponível a informação sobre a transferência embrionária, a qual pode ser descrita como transferência única de embrião (single embryo transfer - SET), transferência dupla de embriões (double embryo transfer - DET) ou ainda apresentar célula vazia na planilha (sem informações sobre SET ou DET). Considerando que pode ser duvidoso saber qual embrião resultou em gestação quando a transferência é dupla ou quando a informação não está disponível (célula vazia) e que esta informação é mandatória para o modelo desenvolvido neste trabalho, somente os dados correspondentes à SET foram considerados para as análises. Assim, dos 369 dados da planilha, foram utilizados 272 dados correspondentes à SET.

Os vídeos dos embriões e seus respectivos tempos de desenvolvimento são provenientes de uma incubadora que utiliza tecnologia time-lapse, o equipamento EmbryoScope+®, da Vitrolife (Figura 1). Para fragmentar os vídeos em imagens, foi utilizado o software “Free Video to JPG Converter” (Figura 2), o

qual gerou aproximadamente entre 500 e 700 imagens de cada embrião, dependendo do tamanho de cada vídeo. Destas imagens fragmentadas, foram selecionadas aquelas em que o embrião se encontra em estágio de blastocisto ou o mais próximo possível deste estágio. Além disso, os vídeos foram recebidos em apenas um plano focal, por isso, a imagem selecionada de cada vídeo foi aquela considerada a de melhor foco (em que foi possível visualizar todas as partes do blastocisto), dentre as que estavam disponíveis.



Figura 1 Incubadora EmbryoScope+® (Vitrolife) que utiliza tecnologia de time-lapse.

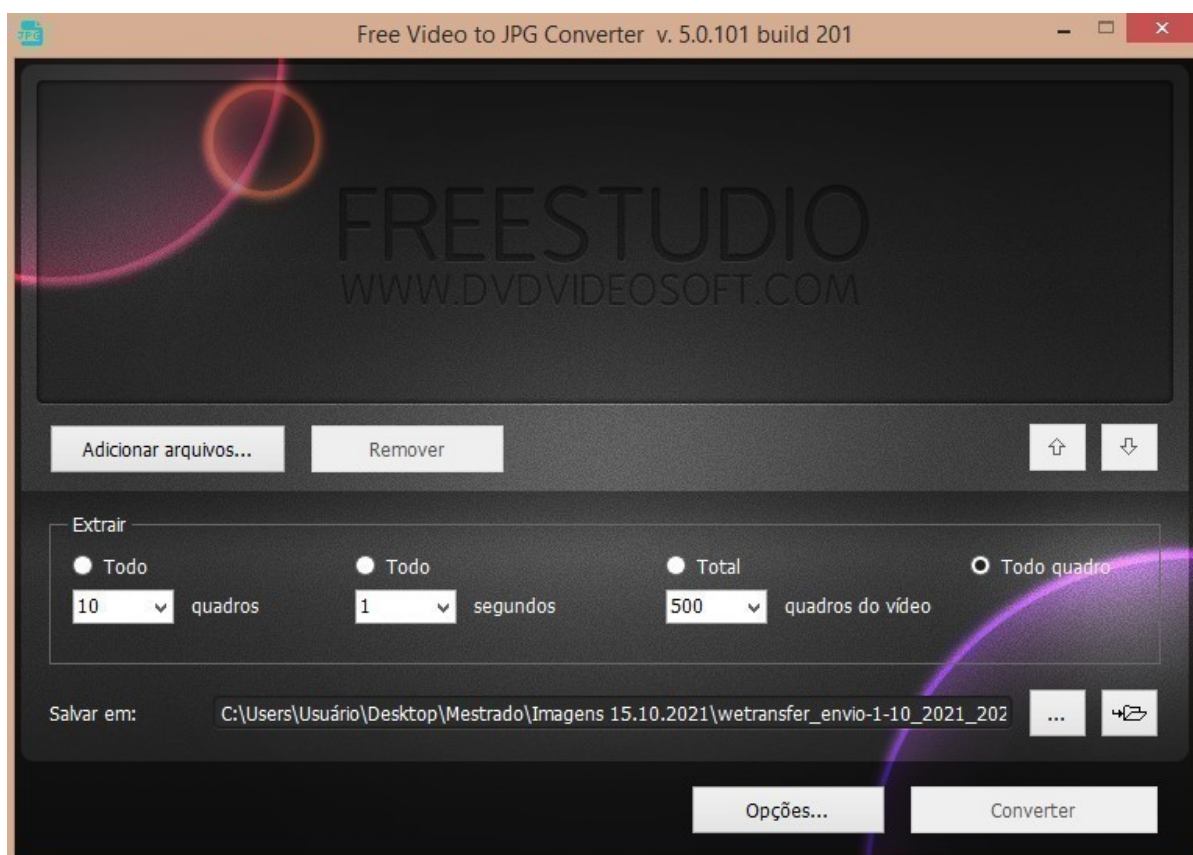


Figura 2 Software “Free Video to JPG Converter” utilizado para fragmentar os vídeos dos embriões obtidos por time-lapse. Os parâmetros utilizados foram: “10 quadros”; “1 segundo”, “500 quadros do vídeo” e “Todo quadro”. O software converte o vídeo em imagens no formato JPG.

2.2 Morfologia embrionária

Para a morfologia embrionária, o estágio de blastocisto é mandatório para o modelo desenvolvido. O software de processamento de imagens inicialmente desenvolvido para a espécie murina (Matos *et al.*, 2014) e bovina (Rocha *et al.*, 2017b) foi adaptado para a espécie humana (Rocha *et al.*, 2018; Zaninovic *et al.*, 2018) considerando este estágio do desenvolvimento.

Para a morfologia do blastocisto, dos 272 dados de SET, 259 correspondem às imagens recebidas. De acordo com os seguintes critérios de exclusão, 24 imagens foram excluídas devido à visualização incompleta de todo o blastocisto ($n = 1$), à luminosidade insuficiente para reconhecer regiões individuais ($n = 1$), ao blastocisto estar fora de foco ($n = 11$) e à exibição de um embrião fora do estágio de blastocisto ($n = 11$) (Figura 3).

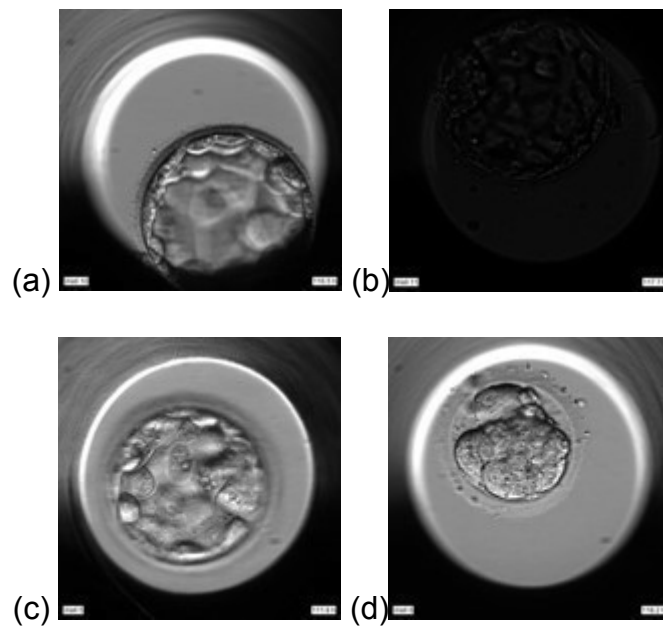


Figura 3 Exemplos de imagens excluídas pelos seguintes critérios de exclusão: (a) visualização incompleta de todo o blastocisto; (b) luminosidade insuficiente para reconhecer regiões individuais; (c) blastocisto fora de foco e (d) exibição de um embrião fora do estágio de blastocisto.

Após a exclusão destas 24 imagens, 235 imagens foram utilizadas para o processamento digital e extração automatizada de variáveis preditivas da morfologia do blastocisto. Todos os filtros e técnicas utilizadas para o processamento estão descritos detalhadamente no trabalho de Chéles *et al.* (2022). Todos os procedimentos foram realizados na plataforma MatLab®.

As etapas relacionadas à segmentação da imagem foram: conversão da imagem para escala de cinza; detecção de borda utilizando o filtro de Canny; isolamento parcial do blastocisto por meio da Transformada de Hough; ajuste de histograma, para melhorar a resolução da imagem; extração do gradiente de magnitude por meio de detecção de bordas pelo método de Prewitt; conversão de uma imagem binária para o isolamento total do blastocisto (o isolamento total possibilita a obtenção de imagens do blastocisto isolado, trofotoderme (TE) isolada e massa celular interna (MCI) + blastocelo isoladas); ajuste de limite por meio da intensificação dos tons de cinza e isolamento da MCI por meio do filtro de Gabor (Chéles *et al.*, 2022). As etapas e a extração de variáveis associada a cada etapa podem ser visualizadas na Tabela 2 e um fluxograma ilustrando a

segmentação de blastocistos a partir de uma imagem fornecida pela incubadora EmbryoScope® pode ser observado na Figura 4.

Tabela 2 Etapas da segmentação de imagens provenientes do equipamento EmbryoScope® e o tipo de variável extraída nestas etapas. Trofotoderme - TE; Massa Celular Interna - MCI; Local Binary Patterns - LBP; Gray Level Co-occurrence Matrix - GLCM. Adaptado de: Chéles *et al.* (2022).

Ordem das etapas	Etapas	Extração de variáveis
1	Conversão da imagem de entrada para escala de cinza	-
2	Deteção de borda utilizando o filtro de Canny	-
3	Isolamento parcial do blastocisto	-
4	Ajuste de histograma	-
5	Método de Prewitt	-
6	Conversão binária	-
7	Isolamento total do blastocisto	Medição da área e raio do blastocisto por equações usando o Matlab® Image Processing Toolbox™
8	Isolamento da TE e MCI + blastocele	Variáveis que descrevem a TE e a MCI + blastocele usando o Matlab® Image Processing Toolbox™, algoritmos (GLCM e LBP)
9	Intensificação da escala de cinza	-
10	Isolamento da MCI	Variáveis que descrevem a MCI usando o Matlab® Image Processing Toolbox™, algoritmos (GLCM e LBP)

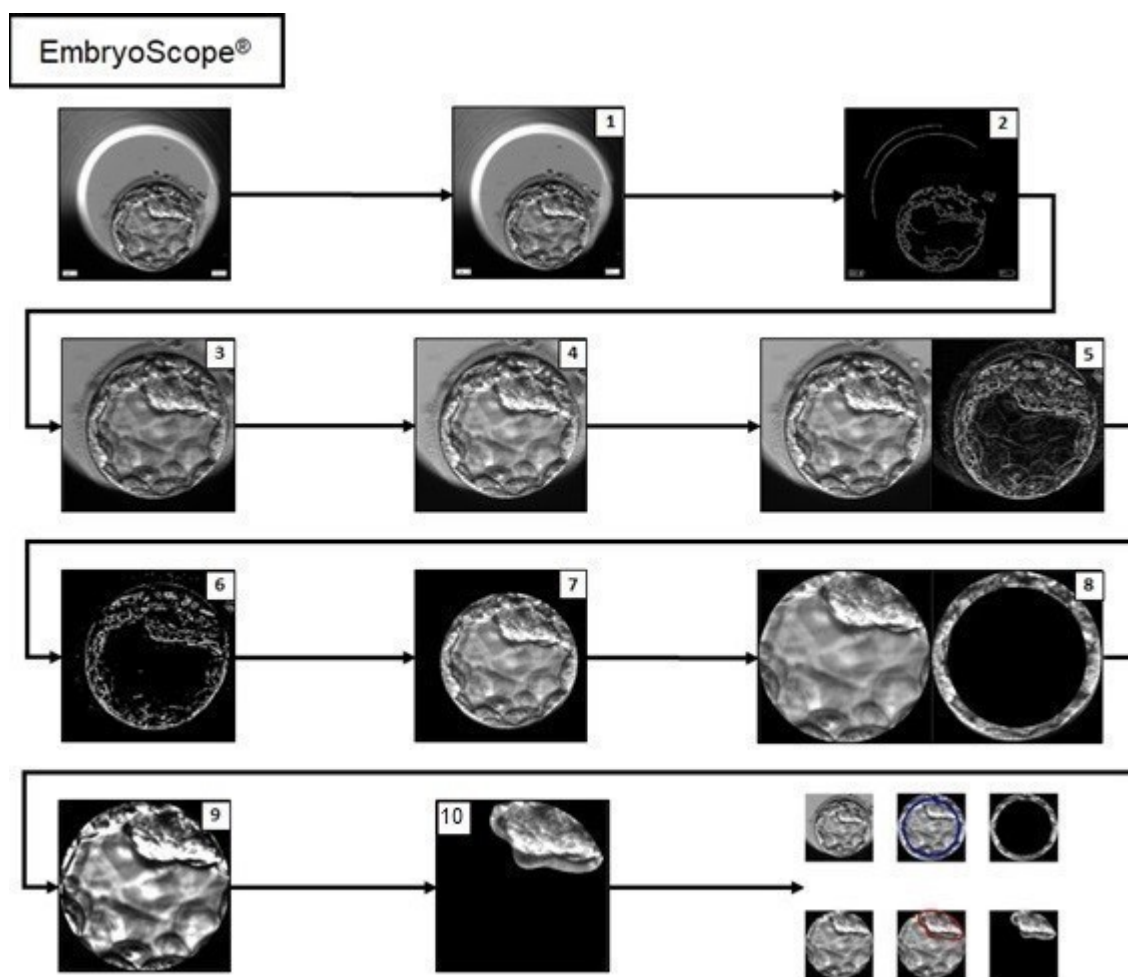


Figura 4 Fluxograma de segmentação de blastocistos a partir de uma imagem fornecida pela incubadora EmbryoScope®. A primeira imagem (sem numeração) corresponde à imagem original da incubadora e a última imagem (sem numeração e formada por 6 imagens menores) apresenta cada parte do blastocisto segmentada pelo software. As imagens intermediárias são identificadas pelos respectivos números das etapas apresentadas na Tabela 2. Adaptado de: Chéles *et al.* (2022).

As etapas do processamento digital de imagens resumidas na Tabela 2 e na Figura 4 geraram automaticamente um total de 33 variáveis, cada uma representando um aspecto diferente da expansão do blastocisto (EX) ou uma sub-região (TE, MCI + blastocelo ou MCI). De acordo com Chéles *et al.* (2022), as definições de cada variável podem ser descritas de acordo com a propriedade que apresentam: textura, média de nível de cinza, desvio padrão do nível de cinza, valor modal (valor de pixel mais frequente), relações e nível de luz. Segue a descrição de cada uma delas:

Textura

1. Variação de textura na MCI e blastocele

Representa as diferenças de nível de cinza de textura na MCI e na blastocele. Reflete a nitidez da imagem e a profundidade dos sulcos. Sulcos mais profundos estão relacionados a maior variação e nitidez.

2. Similaridades de textura na MCI e blastocele

Representa a dependência linear dos níveis de cinza.

3. Uniformidade da distribuição de níveis de cinza na MCI e blastocele

Representa a uniformidade da distribuição dos níveis de cinza através da soma dos elementos da GLCM ao quadrado.

4. Proximidade da escala de cinza com a diagonal da GLCM na MCI e blastocele

Representa a distribuição dos elementos da GLCM de acordo com os valores de referência da sua diagonal.

5. Variação de textura na MCI; 6. Similaridades de textura na MCI; 7. Uniformidade da distribuição dos níveis de cinza na MCI; 8. Proximidade da escala de cinza com a diagonal da GLCM na MCI

Estas variáveis correspondem às variáveis 1, 2, 3 e 4, respectivamente, embora sejam calculadas a partir da imagem segmentada da MCI.

9. Variação de textura na TE; 10. Similaridades de textura na TE; 11. Uniformidade da distribuição dos níveis de cinza na TE; 12. Proximidade da escala de cinza com a diagonal da GLCM na TE

Estas variáveis correspondem às variáveis 1, 2, 3 e 4, respectivamente, embora sejam calculadas a partir da imagem segmentada da TE.

13. Descritor local de textura na EX

Descritor de padrão de textura usado para descrever os padrões de textura local de uma imagem. O algoritmo extrai informações sobre a textura local

estabelecendo um limiar para “n” vizinhos em relação ao valor do pixel central. O resultado é um número binário entre 0 e 255.

14. Descritor local de textura na MCI; 15. Descritor local de textura na TE

Estas variáveis correspondem à variável 13, embora sejam calculadas a partir de imagens segmentadas da MCI e TE, respectivamente.

Média do nível de cinza

16. Média do nível de cinza na MCI e blastocele

Representa a intensidade média do pixel (valor do nível de cinza) na imagem segmentada da MCI e blastocele.

17. Média do nível de cinza na TE

Representa a intensidade média do pixel (valor do nível de cinza) na imagem segmentada da TE.

18. Média do nível de cinza no blastocisto

Representa a intensidade média do pixel (valor do nível de cinza) para o blastocisto todo com a inclusão da zona pelúcida.

Desvio padrão do nível de cinza

19. Desvio padrão do nível de cinza na MCI e blastocele

Representa o desvio padrão da intensidade do pixel na imagem segmentada da MCI e blastocele.

20. Desvio padrão do nível de cinza na TE

Representa o desvio padrão da intensidade do pixel na imagem segmentada da TE.

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

Representa o valor de intensidade de luz mais frequente na imagem segmentada da TE.

Relações

23. Soma da imagem binária do blastocisto

O limiar da imagem é dado pela soma da imagem binária dividida pela área do blastocisto isolado calculada a partir do raio.

24. Raio do blastocisto

Representa o raio do blastocisto.

25. Área da MCI

Área da imagem segmentada da MCI.

26. Área da blastocele

Área da imagem segmentada da blastocele.

27. Relação entre MCI e blastocele

Representa a expansão do blastocisto.

Nível de luz

28. Luminosidade média na MCI e blastocele

Todos os pixels com intensidade luminosa maior que 10 e menor que 10 da intensidade média são contados, e esse valor é então dividido pela área total do blastocisto.

29. Luminosidade média na TE

Esta variável corresponde à variável 28, embora calculada usando valores da imagem segmentada da TE.

30. Região mais clara na MCI e blastocelo

Área da região mais clara na imagem segmentada da MCI e blastocelo.

31. Região mais clara na TE

Área da região mais clara na imagem segmentada da TE.

32. Região mais escura na MCI e blastocelo

Área mais escura na imagem segmentada da MCI e blastocelo.

33. Região mais escura na TE

Área mais escura na imagem segmentada da TE.

Após o processamento, em 20 imagens, o software não foi eficaz em segmentar corretamente a imagem (Figura 5), principalmente devido à baixa qualidade da imagem original. Dessa forma, 215 imagens foram efetivamente utilizadas para aplicação das técnicas de IA. As 33 variáveis automaticamente obtidas foram utilizadas como entradas para as RNAs para o conjunto de morfologia do blastocisto. Estas variáveis buscam representar numericamente para o software de IA todas as características biologicamente relevantes do blastocisto.

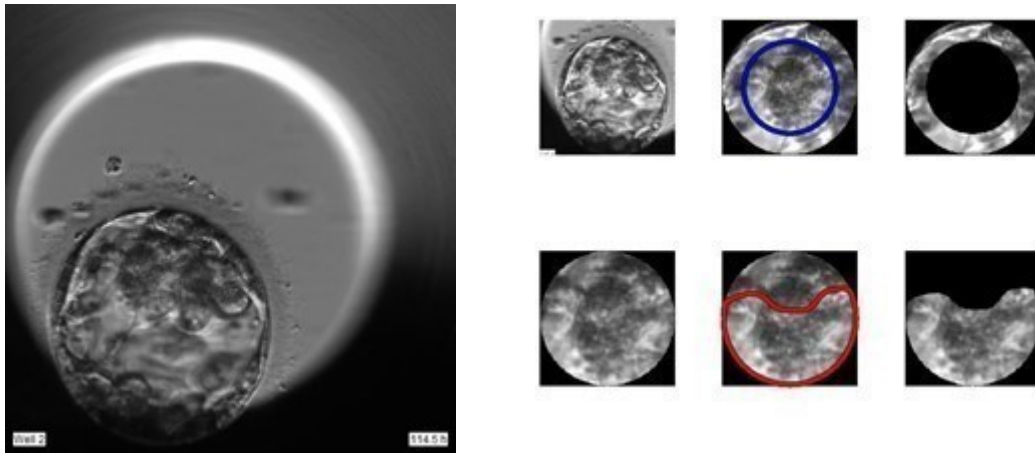


Figura 5 Exemplo de uma imagem excluída em que o software de processamento digital não gerou corretamente as seis versões (à direita) da imagem original (à esquerda).

O software de processamento digital de imagens gerou automaticamente valores numéricos para imagens sem e com colinearidade na plataforma MatLab®. Após a análise de colinearidade, 20 variáveis foram mantidas (Item 7.1, Anexo 1), as quais também foram utilizadas como entradas para a morfologia embrionária para a aplicação das técnicas de IA.

2.3 Morfocinética embrionária

As variáveis da morfocinética foram selecionadas com base na disponibilidade das mesmas na planilha recebida e por meio de um levantamento bibliográfico. Durante o desenvolvimento embrionário, os tempos de divisões das células, a sincronia em que estas ocorrem e os tempos dos ciclos celulares são relevantes biologicamente como variáveis relacionadas à morfocinética (Chawla *et al.*, 2014). Dessa maneira, os tempos t_2 , t_3 , t_4 , t_5 , t_6 , t_7 e t_8 (tempos de clivagem para um embrião de duas, três, quatro, cinco, seis, sete e oito células, respectivamente) foram considerados como base para a escolha de outras variáveis derivadas da morfocinética.

A sincronia das divisões pode ser determinada pela diferença entre a quarta e a terceira divisão celular, representada pela variável s_2 ($t_4 - t_3$) (Ciray *et al.*, 2014). O ciclo celular pode ser mensurado pelas variáveis cc_2 (diferença entre a terceira e a segunda divisão embrionária) e cc_3 (diferença entre a quinta

e a terceira divisão embrionária). Além destas, a variável $relcc2$ ($[(t3-t2)/(t5-t2)]*100$), que descreve a regularidade em que as clivagens ocorrem e a variável score global (relação entre $t2$, $cc2$, $cc3$ e $relcc2$) também foram utilizadas (Desai *et al.*, 2014; Fishel *et al.*, 2017; Campbell, 2014).

Variáveis relacionadas especificamente ao estágio de blastocisto foram selecionadas: tSB (tempo de início de blastulação), tB (tempo em que a blastocela atinge aproximadamente metade do volume do blastocisto) e as relações $tSB-t8$ (diferença entre o tempo de início de blastulação e a oitava divisão embrionária) e $tB-tSB$ (diferença entre o tempo em que a blastocela atinge aproximadamente metade do volume do blastocisto e do início de blastulação).

A totalidade de 16 variáveis ($t2$, $t3$, $t4$, $t5$, $t6$, $t7$, $t8$, $s2$, $cc2$, $cc3$, $relcc2$, score global, tSB , tB , $tSB-t8$ e $tB-tSB$) buscou representar de maneira fidedigna, embora aproximada, a cinética do desenvolvimento embrionário.

Dos 272 dados de SET disponíveis, 49 dados foram excluídos devido à ausência de informações de tempo do desenvolvimento. Assim, um total de 223 dados foram utilizados para a aplicação das técnicas de IA.

2.4 Pacientes

As variáveis relacionadas com a paciente foram selecionadas de acordo com a relevância para o sucesso do tratamento por reprodução assistida, isto é, por meio de um levantamento bibliográfico. As variáveis consideradas são relacionadas às características demográficas, físicas e clínicas das pacientes. Estas variáveis estão na planilha fornecida pela clínica: idade, IMC, número de oócitos e tentativas anteriores.

Com o objetivo de avaliar tais variáveis e seu impacto no sucesso gestacional, foram elaboradas pontuações para cada uma delas. As RNAs receberam como entradas as pontuações elaboradas, na tentativa de otimizar o treinamento das mesmas, e consequentemente, facilitar o seu aprendizado. Os intervalos foram definidos da seguinte maneira: entre 1 e 10, sendo que, quanto mais próximo de 1 a pontuação, menos favorável a variável para a ocorrência de gestação e quanto mais próximo de 10 a pontuação, mais favorável para a gestação.

2.4.1 Idade

O aumento da idade materna está diretamente associado ao declínio da fertilidade. Após os 30 anos, inicia-se um declínio considerável da fertilidade, mas após os 40 anos, há uma diminuição crítica na chance de gestação (Tan *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2018; Liao *et al.*, 2019; Wolff *et al.*, 2019; Delbaere *et al.*, 2020). Dessa forma, a relação dos intervalos definidos e as respectivas pontuações para a variável idade podem ser visualizadas na Tabela 3. A pontuação diminui com o aumento da idade da paciente.

Tabela 3 Pontuação atribuída à idade das pacientes.

Idade (anos)	Pontuação
≤ 30	10
31 – 36	8
37 - 42	6
> 42	2

2.4.2 Índice de massa corporal

O IMC é uma medida amplamente utilizada para mensurar a altura e o peso dos indivíduos e categorizá-los em grupos (Nuttall, 2015). A Organização Mundial da Saúde divide a população em 4 grupos, com base no cálculo do IMC - peso (kg)/altura(m)²: indivíduos com IMC inferior a 18,5 kg/m², são considerados de baixo peso; indivíduos com IMC entre 18,5 e 25 kg/m², peso normal; indivíduos com IMC entre 25 e 30 kg/m², sobrepeso e indivíduos com IMC superior a 30 kg/m², obesos. (Frankenthal *et al.*, 2019).

Estudos apontam que a taxa de gestação em mulheres com baixo peso e com sobrepeso é consideravelmente menor em comparação com mulheres com peso normal (Na *et al.*, 2018; D'Souza *et al.*, 2019; Frankenthal *et al.*, 2019; Purewal *et al.*, 2019; Qiu *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2020).

Dessa forma, pacientes com IMC menor ou igual a 18,5 kg/m² e maior ou igual a 30 kg/m² receberam as pontuações mais baixas. Pacientes com IMC variando de 18,6 a 20 kg/m² e 25 a 29,9 kg/m² receberam pontuações intermediárias, e pacientes com IMC variando de 20,1 a 24,9 kg/m² receberam a pontuação mais alta (Tabela 4).

Tabela 4 Pontuação atribuída ao índice de massa corporal (IMC) das pacientes.

IMC (kg/m ²)	Pontuação
≤ 18,5	1
18,6 - 20	7
20,1 – 24,9	10
25 – 29,9	7
≥ 30	1

2.4.3 Número de oócitos

O número ideal de oócitos para o tratamento de reprodução assistida varia entre os estudos, sendo 15 de acordo com o estudo de Milachich e Shterev (2016) e entre 9 e 16 para Liao *et al.* (2019). Um número reduzido de oócitos devido ao avanço da idade materna e/ou baixa resposta à estimulação ovariana resulta em menor taxa de gestação clínica. Além disso, quando há uma alta contagem de oócitos, muitos deles podem estar imaturos, podendo levar a uma menor taxa de fertilização (Milachich e Shterev, 2016; Hsu *et al.*, 2016).

Com base nestes estudos, ao intervalo entre 8 e 20 oócitos foi atribuída a maior pontuação, seguido pelo intervalo de 21 a 29; seguido pelo maior número de oócitos (maior ou igual a 30) e, por fim, os números menores que 8 receberam a menor pontuação (Tabela 5).

Tabela 5 Pontuação atribuída ao número de oócitos das pacientes.

Número de oócitos	Pontuação
0-7	2
8-20	10
21-29	7
≥ 30	5

2.4.4 Tentativas anteriores

Esta variável representa a quantidade de ciclos de tratamento anteriores sem sucesso. Quanto maior o número de tentativas anteriores, menor a chance de alcançar uma gestação (Vaegter *et al.*, 2017; Supramanian *et al.*, 2020). Com base nos estudos de Nelson e Lawlor (2011), Vaegter *et al.* (2017) e Supramanian *et al.* (2020), que demonstraram

que a chance de engravidar cai drasticamente após 4 tentativas anteriores sem sucesso, as pontuações foram elaborados conforme mostra a Tabela 6.

Tabela 6 Pontuação atribuída ao número de tentativas anteriores da paciente.

Tentativas anteriores	Pontuação
0	10
1 – 4	8
≥ 5	4

Com base nos 272 dados de SET, 3 deles foram excluídos por não apresentarem informação sobre os dados das pacientes. Por isso, foram efetivamente utilizados 269 dados para a aplicação das técnicas de IA.

2.5 Implementação das técnicas de Inteligência artificial

Neste trabalho, foi utilizado o software de RNAs e AGs já desenvolvido na plataforma MatLab® para a espécie humana (Rocha *et al.*, 2018; Zaninovic *et al.*, 2018).

As RNAs foram treinadas separadamente para cada conjunto de entrada (morfologia, morfocinética e paciente), em duplas (morfologia e morfocinética, morfologia e paciente, morfocinética e paciente) e em trio (morfologia, morfocinética e paciente). Considerando que as variáveis da morfologia podem ser sem ou com colinearidade, o número de variáveis de entrada variou para cada conjunto:

- **Morfologia:** 33 (sem colinearidade) e 20 (com colinearidade) variáveis como entradas;
- **Morfocinética:** 16 variáveis;
- **Paciente:** 4 variáveis;
- **Morfologia e morfocinética:** 49 (sem colinearidade) e 36 (com colinearidade) variáveis;

- **Morfologia e paciente:** 37 (sem colinearidade) e 24 variáveis (com colinearidade);
- **Morfocinética e paciente:** 20 variáveis;
- **Morfologia, morfocinética e paciente:** 53 (sem colinearidade) e 40 (com colinearidade) variáveis.

O objetivo em realizar todas as combinações foi avaliar a performance das RNAs frente a diferentes fontes de variáveis de entrada para prever o sucesso gestacional por detecção de batimento cardíaco fetal. Os resultados obtidos das melhores RNAs treinadas separadamente e em duplas para a predição de batimento cardíaco fetal encontram-se no item 7.2 do Anexo 1.

No item **Resultados** da Seção **Artigo**, serão apresentados os resultados referentes à melhor RNA encontrada para os três conjuntos de variáveis de entrada (morfologia, morfocinética e paciente) para a predição de batimento cardíaco fetal (objetivo principal deste trabalho). Adicionalmente, para a predição de nascimento vivo, somente foram treinadas RNAs considerando os três conjuntos de variáveis juntos como entrada. Os resultados obtidos pela melhor RNA para a predição de nascimento vivo também se encontram na mesmo item.

Os dados totais para cada conjunto de entrada foram divididos em dois grupos: um grupo de treinamento, para o aprendizado das RNAs (80% do total) e um grupo de simulação, para testar o desempenho do modelo após o treinamento (20% do total). Para auxiliar no treinamento das RNAs, foram definidos conjuntos de validação e teste do modelo. Para o aprendizado das RNAs, os dados de treinamento (80% do total) foram distribuídos de acordo com 70%, 15% e 15% para treinamento, validação e teste, respectivamente (Chakrabarty eDubey, 2015; Matos, 2014; Kalpana *et al.*, 2015). Esta divisão pode ser considerada padrão na utilização de técnicas de IA (Nogueira *et al.*, 2018; Kulp e Strauss, 2018; Shaik *et al.*, 2020).

Para a divisão do banco de dados em treinamento e simulação de cada conjunto isolado e juntos, foram seguidos critérios de inclusão/exclusão, filtrando a planilha com as informações presentes, de acordo com os dados disponíveis e ausentes. Os fluxogramas a seguir (Figuras 6 a 13) ilustram como foram realizadas as divisões para cada conjunto de entrada:

- **Morfologia**

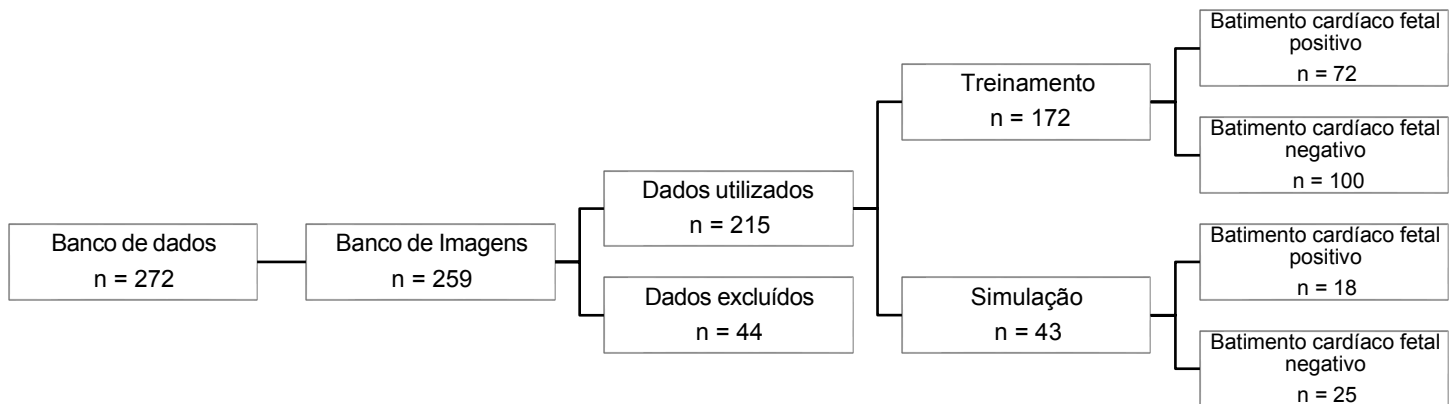


Figura 6 Fluxograma da divisão do banco de dados para as variáveis da morfologia. Dos 272 dados de SET, 259 imagens foram recebidas pela clínica. Destes 259 dados, 44 foram excluídos de acordo com os critérios de exclusão (visualização incompleta de todo o blastocisto, luminosidade insuficiente para reconhecer regiões individuais, blastocisto fora de foco, exibição de um embrião fora do estágio de blastocisto e ineficácia do software em segmentar corretamente a imagem). Dos 215 dados utilizados, 80% foram utilizados para o treinamento (172 dados) e 20% para a simulação (43 dados). A proporção aproximada 20% maior de batimentos cardíacos fetais negativos em relação aos positivos foi mantida para ambos os conjuntos.

- Morfocinética

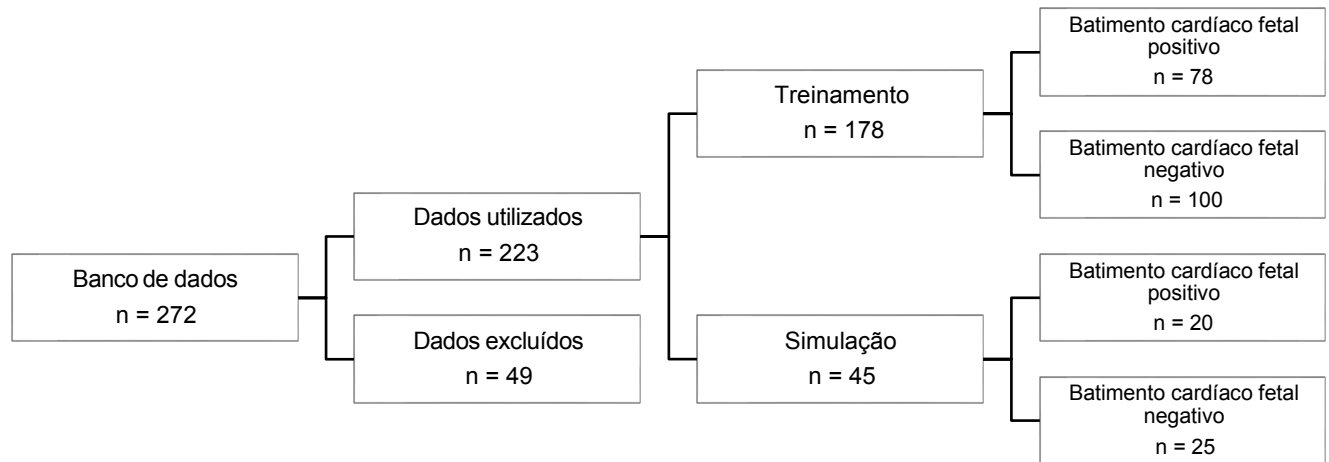


Figura 7 Fluxograma da divisão do banco de dados para as variáveis da morfocinética. Dos 272 dados de SET, 49 foram excluídos por não apresentarem a informação sobre o tempo das divisões celulares. Dos 223 dados utilizados, 80% foram utilizados para o treinamento (178 dados) e 20% para a simulação (45 dados). A proporção aproximada 20% maior de batimentos cardíacos fetais negativos em relação aos positivos foi mantida para ambos os conjuntos.

- Paciente

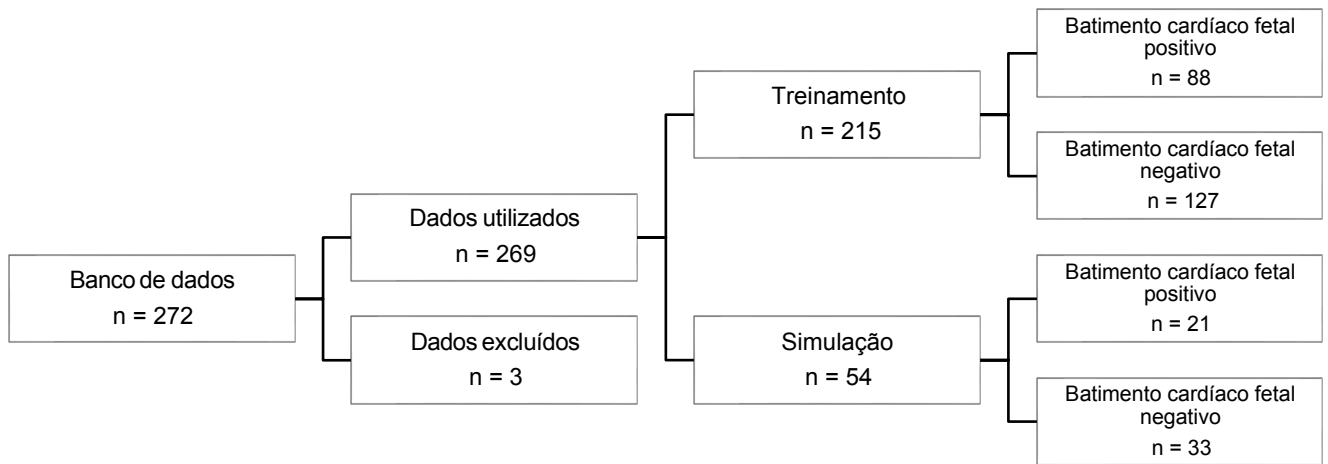


Figura 8 Fluxograma da divisão do banco de dados para as variáveis da paciente. Dos 272 dados de SET, 3 foram excluídos por não apresentarem informação sobre a paciente. Dos 269 dados utilizados, 80% foram utilizados para o treinamento (215 dados) e 20% para a simulação (54 dados). A proporção aproximada 20% maior de batimentos cardíacos fetais negativos em relação aos positivos foi mantida para ambos os conjuntos.

- **Morfologia e Morfocinética**

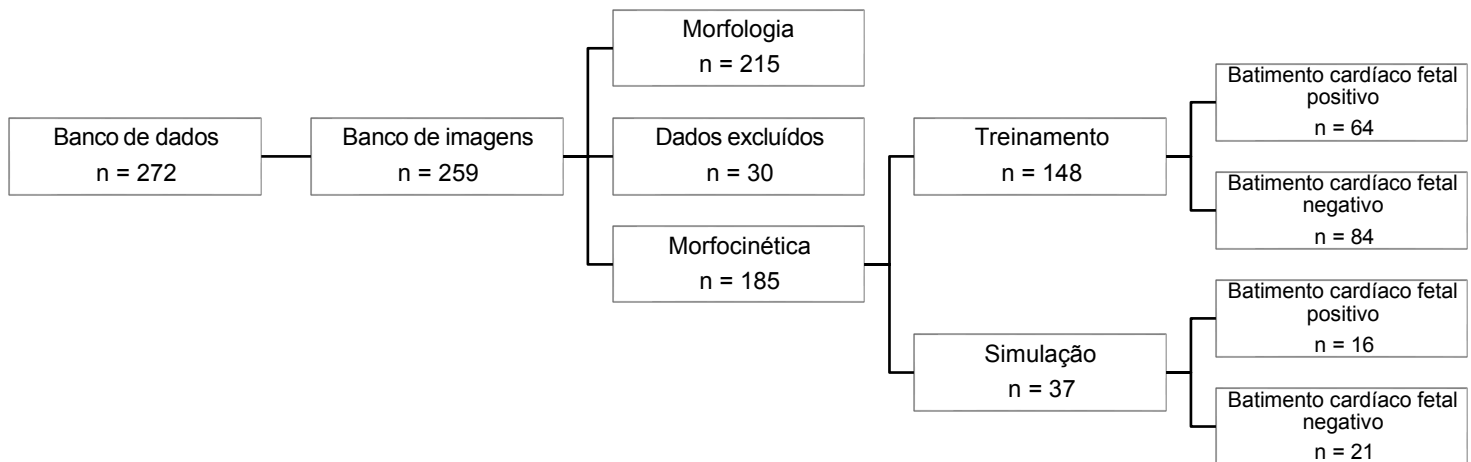


Figura 9 Fluxograma da divisão do banco de dados para as variáveis da morfologia e morfocinética. Dos 272 dados de SET, 259 imagens foram recebidas pela clínica e 215 dados foram utilizados para a morfologia. Destes 215 dados, 30 foram excluídos por não apresentarem informação sobre o tempo do desenvolvimento embrionário. Dos 185 dados utilizados, 80% foram utilizados para o treinamento (148 dados) e 20% para a simulação (37 dados). A proporção aproximada 20% maior de batimentos cardíacos fetais negativos em relação aos positivos foi mantida para ambos os conjuntos.

- **Morfologia e Paciente**

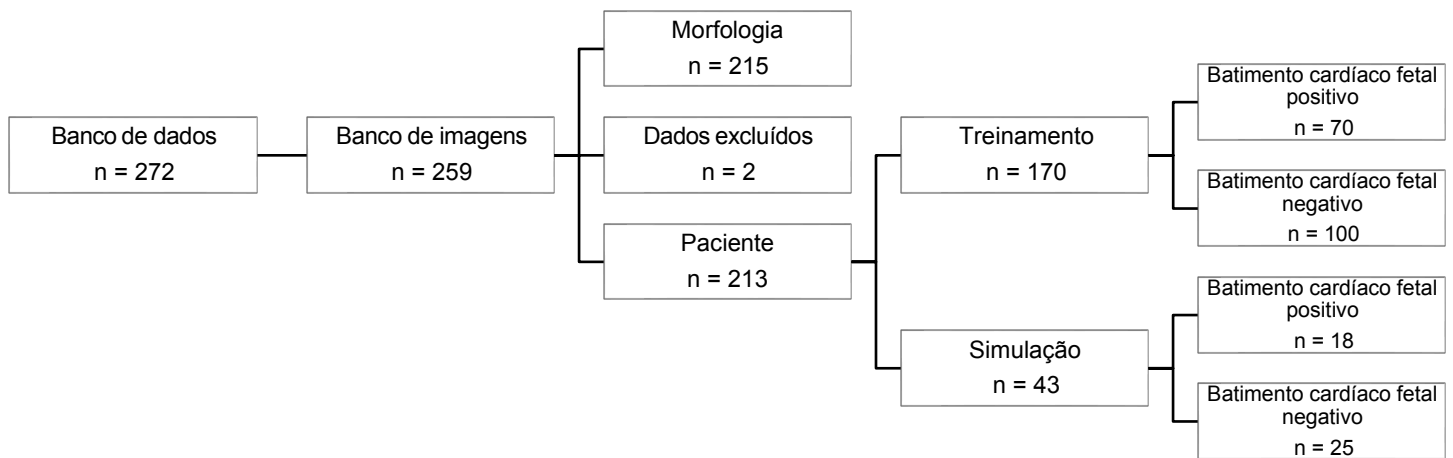


Figura 10 Fluxograma da divisão do banco de dados para as variáveis da morfologia e paciente. Dos 272 dados de SET, 259 imagens foram recebidas pela clínica e 215 dados foram utilizados para a morfologia. Dos 215 dados, 2 dados foram excluídos por não apresentarem informação sobre a paciente. Dos 213 dados utilizados, 80% foram utilizados para o treinamento (170 dados) e 20% para a simulação (43 dados). A proporção aproximada 20% maior de batimentos cardíacos fetais negativos em relação aos positivos foi mantida para ambos os conjuntos.

- **Morfocinética e Paciente**

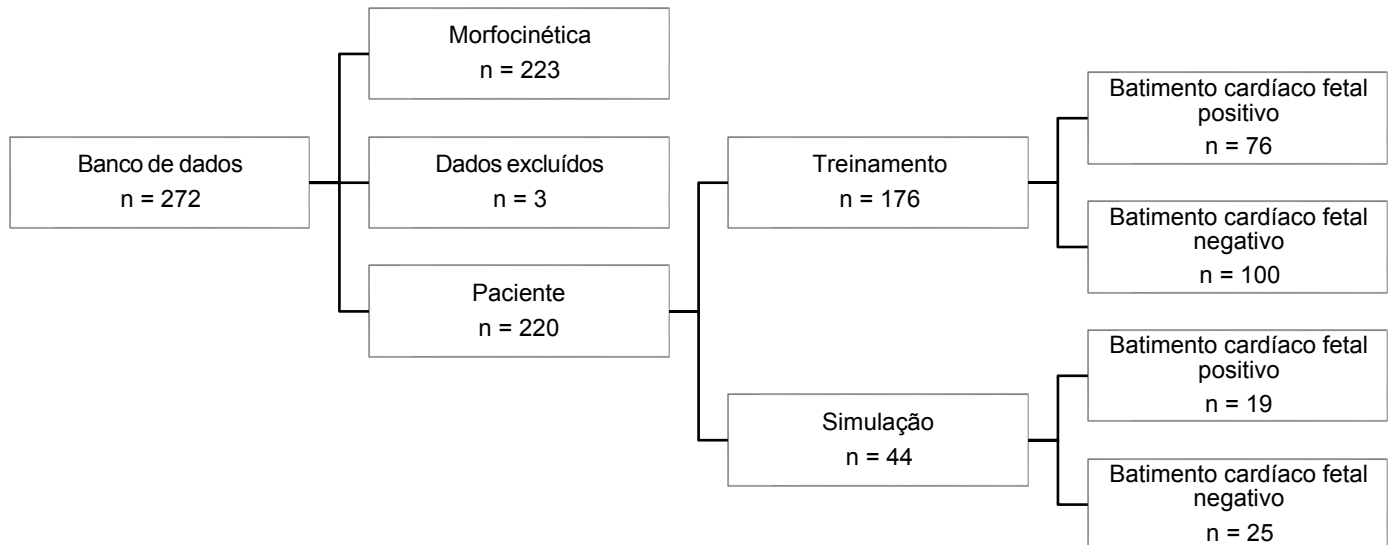


Figura 11 Fluxograma da divisão do banco de dados para as variáveis da morfocinética e paciente. Dos 272 dados de SET, 223 foram utilizados para a morfocinética. Destes 223, 3 foram excluídos por não apresentarem informação sobre a paciente. Dos 220 dados utilizados, 80% foram utilizados para o treinamento (176 dados) e 20% para a simulação (44 dados). A proporção aproximada 20% maior de batimentos cardíacos fetais negativos em relação aos positivos foi mantida para ambos os conjuntos.

- **Morfologia, Morfocinética e Paciente**

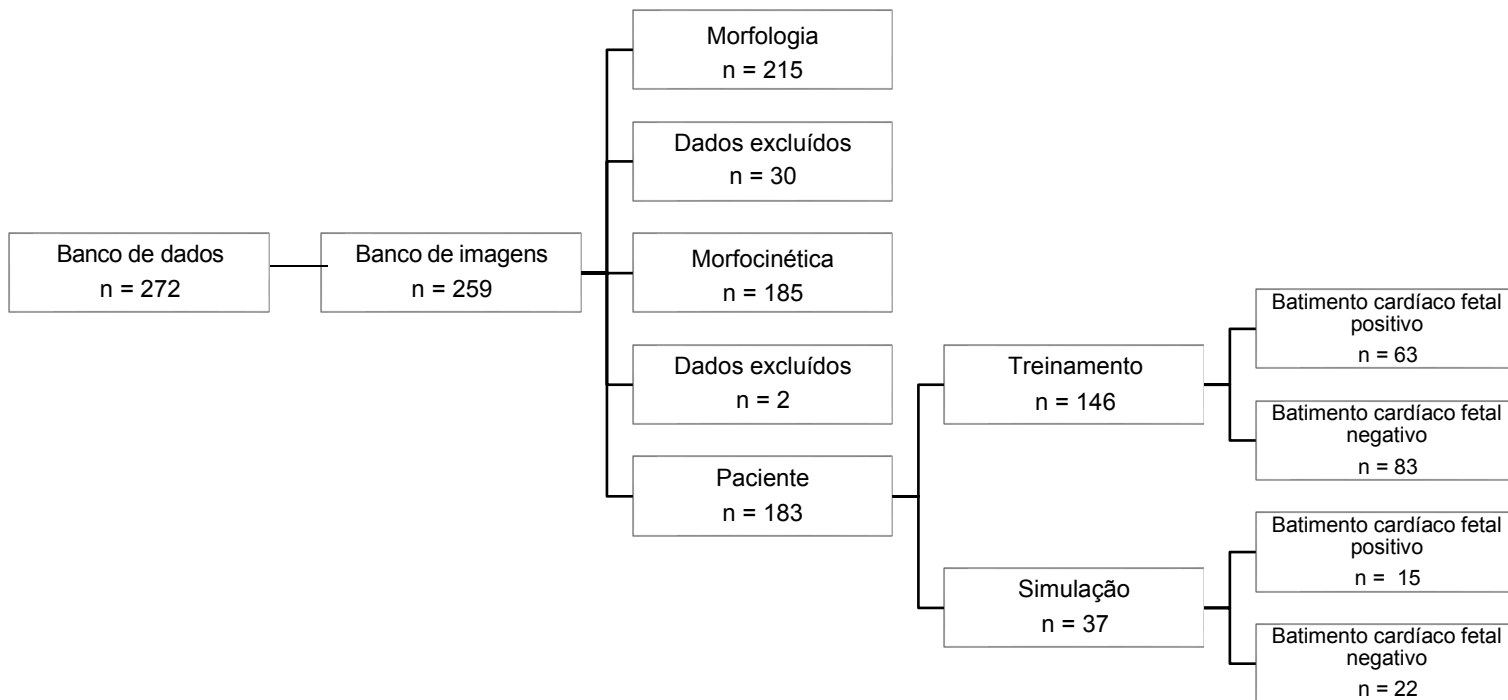


Figura 12 Fluxograma da divisão do banco de dados para as variáveis da morfologia, morfocinética e paciente. Dos 272 dados de SET, 259 imagens foram recebidas pela clínica e 215 dados foram utilizados para a morfologia. Destes 215 dados, 30 foram excluídos por não apresentarem informação sobre o tempo das divisões celulares. Dos 185 dados restantes, 2 foram excluídos por não apresentarem informação sobre a paciente. Dos 183 dados utilizados, 80% foram utilizados para o treinamento (146 dados) e 20% para a simulação (37 dados). A proporção aproximada 20% maior de batimentos cardíacos fetais negativos em relação aos positivos foi mantida para ambos os conjuntos.

- **Morfologia, Morfocinética e Paciente**

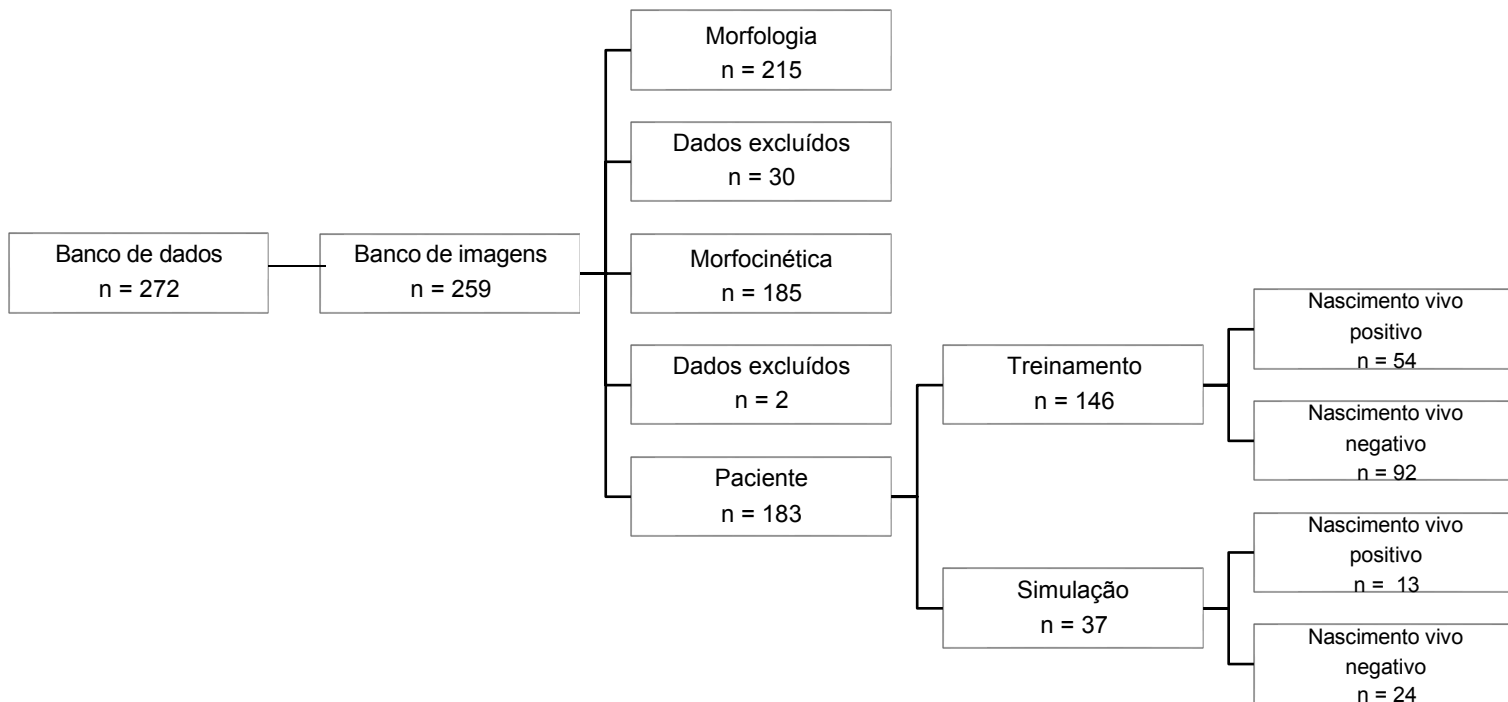


Figura 13 Fluxograma da divisão do banco de dados para as variáveis da morfologia, morfocinética e paciente. Dos 272 dados de SET, 259 imagens foram recebidas pela clínica e 215 dados foram utilizados para a morfologia. Destes 215 dados, 30 foram excluídos por não apresentarem informação sobre o tempo do desenvolvimento embrionário. Dos 185 dados restantes, 2 foram excluídos por não apresentarem informação sobre a paciente. Dos 183 dados utilizados, 80% foram utilizados para o treinamento (146 dados) e 20% para a simulação (37 dados). A proporção aproximada 30% maior de nascimentos vivos negativos em relação aos positivos foi mantida para ambos os conjuntos.

O treinamento e a simulação ocorreram separadamente para cada um dos 8 conjuntos de dados. O procedimento foi o mesmo para cada um dos conjuntos: os 30 computadores do Laboratório de Matemática Aplicada, UNESP - Assis, foram colocados para rodar o treinamento das RNAs no software já desenvolvido. Em cada computador, o AG selecionou as melhores RNAs encontradas a cada iteração do algoritmo. Este processo se repetiu ao longo de uma ou duas semanas para cada conjunto, até que um número considerável de melhores RNAs fossem armazenadas em cada computador, isto é, aquelas com o menor erro entre as saídas desejadas e as obtidas. Além disso, foram consideradas para a simulação, as RNAs do conjunto de melhores redes com acurácias iguais ou superiores a 80% para o treinamento.

Estas RNAs foram salvas automaticamente em cada computador pelo próprio algoritmo. Após este processo, em apenas um computador, foi realizada a simulação das melhores RNAs obtidas. As melhores RNAs obtidas neste trabalho foram selecionadas quando as melhores redes (do treinamento) obtiveram acurácias iguais ou superiores a 65% na simulação.

Após o treinamento, foram obtidas as matrizes de confusão, curvas ROC e AUCs do treinamento e da simulação para avaliar o desempenho das melhores RNAs obtidas.

2.6 Referências Bibliográficas

Alegre, L.; Bori, L.; Valera, M. D. L. A.; Nogueira, M. F. G.; Ferreira, A. S.; Rocha, J. C.; Meseguer, M. First application of artificial neuronal networks for human live birth prediction on time-lapse monitoring system blastocyst images. **Fertility & Sterility**, v. 114, n. 3, p. e140, 2020.

Aparicio-Ruiz, B.; Romany, L.; Meseguer, M. Selection of preimplantation embryos using time-lapse microscopy in *in vitro* fertilization: State of the technology and future directions. **Birth Defects Research**, v. 110, n. 8, p. 648–653, 2018.

Atherton, T.; Kerbyson, D. Size invariant circle detection. **Image and Vision computing**, v. 17, n. 11, p. 795–803, 1999.

Balaban, B.; Brison, D.; Calderón, G.; Catt, J.; Conaghan, J.; Cowan, L.; Ebner, T.; Gardner, D.; Hardarson, T.; Lundin, K.; Magli, M. C.; Mortimer, D.; Mortimer, S.; Munné, S.; Royere, D.; Scott, L.; Smits, J.; Thornhill, A.; Van Blerkom, J.; Van Den Abbeel, E. Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. **Human Reproduction**, v. 26, n. 6, p. I270–I283, 2011.

Barrie, A.; Homburg, R.; McDowell, G.; Brown, J.; Kingsland, C.; Troup, S. Examining the efficacy of six published *time-lapse* imaging embryo selection algorithms to predict for the development of specific, implantation to demonstrate the need in-house morphokinetic selection algorithms. **Fertility and Sterility**, v. 107, n. 3, p. 613–621, 2017.

Bartolacci, A.; Buratini, J.; Moutier, C.; Guglielmo, M. C.; Novara, P. V.; Brambillasca, F.; Renzini, M. M.; Dal Canto, M. Maternal body mass index affects embryo morphokinetics: a *time-lapse* study. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 36, n. 6, p. 1109–1116, 2019.

Basile, N.; Vime, P.; Florensa, M.; Aparicio-Ruiz, B.; García Velasco, J. A.; Remohi, J.; Meseguer, M. The use of morphokinetics as a predictor of implantation: a multicentric study to define and validate an algorithm for embryo selection. **Human Reproduction**, v. 30, n. 2, p. 276–283, 2015.

Campbell, A. *Time-lapse & embryo aneuploidy – an indirect method to replace PGS?* CARE Fertility, UK, 2014.

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

Chakrabarty, A. D. A.; Dubey, R. An excursion towards multi-frequency-prediction based flexible asset allocation system. **Global Journal of Flexible Systems Management**, v. 16, n. 2, p.173–190, 2015.

Chawla, M.; Fakih, M.; Shunnar, A.; Bayram, A.; Hellani, A.; Perumal, V.; Divakaran, J.; Budak, E. Morphokinetic analysis of cleavage stage embryos and its relationship to aneuploidy in a retrospective time-lapse imaging study. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 32, n. 1, p. 69–75, 2014.

Chéles, D. S.; Ferreira, A. S.; Jesus, I. S.; Fernandez, E. I.; Pinheiro, G. M.; Molin, E. A. D.; 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. **MedRxiv** [Preprint]. 2022. Disponível em: medrxiv.org/content/10.1101/2022.02.01.22270264v1

Ciray, H. N.; Campbell, A.; Agerholm, E. I.; Aguilar, J.; Chamayou, S.; Esbert, M.; Sayed, S. Proposed guidelines on the nomenclature and annotation of dynamic human embryo monitoring by a *time-lapse* user group. **Human Reproduction**, v. 29, n. 12, p. 2650–2660, 2014.

Cruz, M.; Gadea, B.; Garrido, N.; Pedersen, K. S.; Martínez, M.; Pérez-Cano, I.; Muñoz, M.; Meseguer, M. Embryo quality, blastocyst and ongoing pregnancy rates in oocyte donation patients whose embryos were monitored by *time-lapse* imaging. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 28, n. 7, p. 569–573, 2011.

De Geyter, C.; Calhaz-Jorge, C.; Kupka, M. S.; Wyns, C.; Mocanu, E.; Motrenko, T.; Scaravelli, G.; Smeenk, J.; Vidakovic, S.; Goossens, V. ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE. **Human Reproduction**, v. 33, n. 9, p. 1586–1601, 2018.

Delbaere, I.; Verbiest, S.; Tydén, T. Knowledge about the impact of age on fertility: a brief review. **Upsala Journal of Medical Science**, v. 125, n. 2, p. 167–174, 2020.

Desai, N.; Ploskonka, S.; Goodman, R. L.; Austin, C.; Goldber, J.; Falcone, T. Analysis of embryo morphokinetics, multinucleation and cleavage anomalies using continuous *time-lapse* monitoring in blastocyst transfer cycles. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 12, n. 1, p. 1–10, 2014.

D'Souza, R.; Horyn, I.; Pavalagantharajah, S.; Zaffar, N.; Jacob, C. E. Maternal body mass index and pregnancy outcomes: a systematic review and metaanalysis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 4, p. 100041, 2019.

Eiben, A. E.; Smith, J. E. **Introduction to Evolutionary Computing**. Springer, 2003.

European Avm Alliance. **Glossary of Terms & Definitions**. 2012.

ESHRE Working group on Time-lapse technology, Apter, S.; Ebner, T.; Freour, T.; Guns, Y.; Kovacic, B.; Le Clef, N.; Marques, M.; Meseguer, M.; Montjean, D.; Sfontouris, I.; Sturmey, R.; Coticchio, G. Good practice recommendations for the use of *time-lapse* technology†. **Human Reproduction Open**, p. 1-26, 2020.

Fishel, S.; Campbell, A.; Montgomery, S.; Smith, R.; Nice, L.; Duffy, S.; Jenner, L.; Berrisford, K.; Kellam, L.; Smith, R.; D'cruz, I.; Beccles, A. Live births after embryo selection using morphokinetics versus conventional morphology: a retrospective analysis. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 35, n. 4, p. 407–416, 2017.

Frankenthal, D.; Hirsh-Yechezkel, G.; Boyko, V.; Orvieto, R.; Ron-el, R.; Lerner-Geva L.; Farh,i A. The effect of body mass index (BMI) and gestational weight gain on adverse obstetrical outcomes in pregnancies following assisted reproductive technology as compared to spontaneously conceived pregnancies. **Obesity Research and Clinical Practice**, v. 13, n. 2, p. 150-155, 2019.

Gardner, D.; Schoolcraft, W. Culture and transfer of human blastocysts. **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, v. 11, n. 3, p. 307-311, 1999.

Goethals, P. L. M.; Dedeker, A. P.; Gabriels, W.; Lek, S.; Pauw, N. D. Applications of artificial neural networks predicting macroinvertebrates in freshwaters. **Aquatic Ecology**, v. 41, n. 3, p. 491–508, 2007.

Gonzalez, R. C.; Woods, R. E. **Digital Image Processing**. Pearson Prentice Hall, 2007.

Goodman, L. R.; Goldberg, J.; Falcone, T.; Austin, C.; Desai, N. Does the addition of *time-lapse* morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial. **Fertility and Sterility**, v. 105, n. 2, p. 275–285.e10, 2016.

Greener, J. G.; Kandathil, S. M.; Moffat, L.; Jones, D. T. A guide to machine learning for biologists. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, n. 1, p. 40-55, 2022.

Haralick, R. M.; Shanmugam, K.; Dinstein, I. Textural Features for Image Classification. **IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics**, v. 3, n. 6, p. 610–621, 1973.

Haykin, S. **Redes Neurais: princípios e prática**. 2ª ed. Porto Alegre, RS, Bookman. 2001.

Hsu, M. I.; Wang, C. W.; Chen, C. H.; Tzeng, C. R. Impact of the number of retrieved oocytes on pregnancy outcome in in vitro fertilization. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 55, n. 6, p. 821–825, 2016.

Hu, L.; Du, J.; Lv, H.; Zhao, J.; Chen, M.; Wang, Y.; Wu, F.; Liu, F.; Chen, X.; Zhang, J.; Ma, H.; Jin, G.; Shen, H.; Chen, L.; Ling, X.; Hu, Z. Influencing factors of pregnancy loss and survival probability of clinical pregnancies conceived through assisted reproductive technology. **Reproductive Biology Endocrinology**, v. 16, n. 1, p. 1–12, 2018.

Hu, Y.; Zhao, C.; Wang, H. Directional Analysis of Texture Images Using Gray Level Co-Occurrence Matrix. **IEEE Pacific-Asia Workshop on Computational Intelligence and Industrial Application**, p. 277–281, 2008.

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**, v. 11, n. 6, p. 623-629, 2015.

Kaser, D. J.; Racowsky, C. Clinical outcomes following selection of human preimplantation embryos with *time-lapse* monitoring: a systematic review. **Human Reproduction Update**, v. 0, n. 0, p. 1–15, 2014.

Kahveci, B.; Melekoglu, R.; Evruke, I. C.; Cetin, C. The effect of advanced maternal age on perinatal outcomes in nulliparous singleton pregnancies. **BMC Pregnancy Childbirth**, v. 18. n. 1, p. 1–7, 2018.

Klein, J.; Sauer, M. V. Assessing fertility in women of advanced reproductive age. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 185, p. 758–770, 2001.

Kovacs, P. Embryo selection: the role of *time-lapse* monitoring. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 12, n. 1, p. 124, 2014.

Kragh, M. F.; Karstoft, H. Embryo selection with artificial intelligence: how to evaluate and compare methods? **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 38, n. 7, p. 1675-1689, 2021.

Kriesel, D. **A Brief Introduction to Neural Networks**. Retrieved August, p. 244, 2005.

Kulp, S. A.; Strauss, B. H. CoastalDEM: A global coastal digital elevation model improved from SRTM using a neural network. **Remote Sensing of Environment**, v. 206, p. 231–239, 2018.

Leader, J.; Bajwa, A.; Lanes, A.; Hua, X.; White, R. R.; Rybak, N.; Walker, M. The Effect of Very Advanced Maternal Age on Maternal and Neonatal Outcomes: A Systematic Review. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada**, v. 40, n. 9, p. 1208-1218, 2018.

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

Leridon, H. Can assisted reproduction technology compensate for the natural decline in fertility with age? A model assessment. **Human Reproduction**, v.19, n.7, p.1548-53, 2004.

Liao, S.; Xiong, J.; Tu, H.; Hu, C.; Pan, W.; Geng, Y.; Pan, W.; Lu, T.; Jin, L. Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds combined with female age, female cause of infertility, and ovarian response in a prospective cohort of 8269 women. **Medicine**, v. 98, n. 41, p. e17470, 2019.

Lorenzon, A. R.; Jacobs, C.; Souza, R. C. M.; Nicolielo, M.; Erberelli, R.; Barros, B.; Marchi, P. L.; Alegretti, J. R.; Motta, E. L. A.; Nogueira, M. F. G.; Rocha, J. C. Non-invasive method for blastocyst ploidy prediction based on artificial intelligence, time-lapse images and patient parameters. **Fertility & Sterility**, v. 116, n. 3, p. e102, 2021.

Lundin, K.; Bergh, C.; Hardarson, T. Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. **Human Reproduction**, v. 16, n. 12, p. 2652–2657, 2001.

Machart, P.; Ralaivola, L. Confusion matrix stability bounds for multiclass classification. **arXiv**, n. Section 5, 2012.

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”, Assis, 2014.

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.

Meseguer, M.; Herrero, J.; Tejera, A.; Hilligsøe, 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.

Meseguer, M.; Rubio, I.; Cruz, M.; Basile, N.; Marcos, J.; Requena, A. Embryo incubation and selection in a *time-lapse* monitoring system improves pregnancy outcome compared with a standard incubator: a retrospective cohort study. **Fertility and Sterility**, v. 98, n. 6, 2012.

Milachich, T.; Shterev, A. Are there optimal numbers of oocytes, spermatozoa and embryos in assisted reproduction? **JBRA Assisted Reproduction**, v. 20, n. 3, p. 142–149, 2016.

Milewski, R.; Ajduk, A. Time-lapse imaging of cleavage divisions in embryo quality assessment. **Reproduction**, v. 154, n. 2, p. R37–R53, 2017.

Mills, M.; Rindfuss, R.; Mcdonald, P.; Te Velde, E. ESHRE Reproduction and Society Task Force Why do people postpone parenthood? Reasons and social policy incentives. **Human Reproduction**, v.17, p.848-60, 2011.

Minasi, M. G.; Greco, P.; Varricchio, M. T.; Barillari, P.; Greco, E. The clinical use of *time-lapse* in human-assisted reproduction. **Therapeutic Advances in Reproductive Health**, v. 14, n. 2633494120976921, 2020.

Mio, Y.; Maeda, K. Time-lapse cinematography of dynamic changes occurring during in vitro development of human embryos. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 199, p. 660.e1–660.e5, 2008.

Na, L.; Chen, Y.; Zhai, H.; Liao, A.; Huang, D. Effects of maternal body mass index on pregnancy outcome after 8570 artificial insemination cycles with donor's sperm. **Gynecological Endocrinology**, v. 34, n. 12, p. 1068–1072, 2018.

Nanni, L.; Lumini, A.; Brahnam, S. Local binary patterns variants as texture descriptors for medical image analysis. **Artificial Intelligence in Medicine**, v. 49, n. 2, p. 117–125, 2010.

Nasiri, N.; Eftekhari-Yazdi, P. An overview of the available methods for morphological scoring of pre-Implantation embryos in in vitro fertilization. **Cell Journal**, v. 16, n. 4, p. 392–405, 2015.

Nelson, S. M.; Lawlor, D. A. Predicting Live Birth, Preterm Delivery, and Low Birth Weight in Infants Born from In Vitro Fertilisation: A Prospective Study of 144,018 Treatment Cycles. **Plos Medicine**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2011.

Nogueira, M. F. G.; Guilherme, B. V.; Pronunciate, M.; Dos Santos, P. H.; Da Silva, D. L. B.; Rocha, J. C. Artificial Intelligence-Based Grading Quality of Bovine Blastocyst Digital Images: Direct Capture with Juxtaposed Lenses of Smartphone Camera and Stereomicroscope Ocular Lens. **Sensors**, v. 18, n. 12, p. 4440, 2018.

Nuttall, F. Q. Body mass index: Obesity, BMI, and health: A critical review. **Nutrition Today**, v. 50, n. 3, p. 117–128, 2015.

Ojala, T.; Pietikäinen, M.; Harwood, D. A comparative study of texture measures with classification based on features distribution. **Pattern Recognition**, v. 29, n. 1, p. 51-59, 1996.

Pinto, S.; Carrageta, D. F.; Alves, M. G.; Rocha, A.; Agarwal, A.; Barros, A.; Oliveira, P. F. Sperm selection strategies and their impact on assisted reproductive technology outcomes. **Andrologia**, v. 53, n. 2, p. e13725, 2021.

Pozo, A.; Cavaleiro, A. D. F.; Ishida, C.; Spinosa, E.; Rodrigues, E. M. **Computação Evolutiva**, Departamento de Informática, Universidade Federal do Paraná, p. 61, 2011.

Puga-Torres, T.; Blum-Rojas, X.; Blum-Narváez, M. Blastocyst classification systems used in Latin America: is a consensus possible? **JBRA Assisted Reproduction**, v. 21, n. 3, p. 222–229, 2017.

Purewal, S.; Chapman, S. C. E.; van deen Akker, O. B. A. A systematic review and meta-analysis of lifestyle and body mass index predictors of successful assisted reproductive technologies. **Journal of Psychosomatic Obstetrics and Gynecology**, v. 40, n. 1, p. 2–18, 2019.

Qiu, M.; Tao, Y.; Kuang, Y.; Wang, Y. Effect of body mass index on pregnancy outcomes with the freeze-all strategy in women with polycystic ovarian syndrome. **Fertility and Sterility**, v. 112, n. 6, p. 1172–1179, 2019.

Roberti de Siqueira, F.; Robson Shwartz, W.; Pedrini, H. Multi-scale gray level co-occurrence matrices for texture description. **Neurocomputing**, v. 120, p. 336–345, 2013.

Rocha, J. C.; Passalia, F. J.; Matos, F. D.; Maserati, J. M. P.; Alves, M. F.; Almeida, T. G.; Cardoso, B. L.; Basso, A. C.; Nogueira, M. F. G. Methods for assessing the quality of mammalian embryos: How far we are from the gold standard? **JBRA Assisted Reproduction**, v. 20, n. 3, p. 150–158, 2016.

Rocha, J. C.; Passalia, F. J.; Matos, F. D.; Takahashi, M. B.; Ciniciato, D. D. S.; Maserati, M. P.; Alves, M. F.; De 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**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017a.

Rocha, J. C.; Passalia, F. J.; Matos, F. D.; Takahashi, M. B.; Maserati, M. P.; Alves, M. F.; De Almeida T. G.; Cardoso, B. L.; Basso, A. C.; Nogueira, M. F. G. Data Descriptor: Automatized image processing of bovine blastocysts produced in vitro for quantitative variable determination. **Scientific Data**, v. 4, p. 1–9, 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.

Rubio, I.; Kuhlmann, R.; Agerholm, I.; Kirk, J.; Herrero, J.; Escribá, M. J.; Bellver, J.; Meseguer, M. Limited implantation success of direct-cleaved human zygotes: a *time-lapse* study. **Fertility and Sterility**, v. 98, n. 6, p. 1458–1463, 2012.

Ruhoff, A.; Fantin-Cruz, I.; Collischonn, W., Modelos de simulação dinâmica do desmatamento na Amazônia. **Caminhos de Geografia**, v. 11, n. 36, p. 258-268, 2010.

Schmidt, L.; Sobotka, T.; Bentzen, J.G.; Nyboe A. ESHRE Reproduction and Society Task Force Demographic and medical consequences of the postponement of parenthood. **Human Reproduction**, v.18, p.29-43, 2012.

Sciorio, R.; Thong, K. J.; Pickering, S. J. Spontaneous blastocyst collapse as an embryo marker of low pregnancy outcome: A Time-lapse study. **JBRA Assisted Reproduction**, v. 0, n. 0, p. 1–7, 2019.

Shaik, N. B.; Pedapati, S. R.; Ammar Taqvi, S. A.; Othman, A. R.; Abd Dzubir, F. A. A feed-forward back propagation neural network approach to predict the life condition of crude oil pipeline. **Processes**, v. 8, n. 6, p. 661, 2020.

Steptoe, P. C.; Edwards, R. G. Birth after the reimplantation of a human embryo. **Lancet**, v. 11, p. 366, 1978.

Steward, R. G.; Lan, L.; Shah, A. A.; Yeh, J. S.; Price, T. M.; Goldfarb, J. M.; Muasher, S. J. Oocyte number as a predictor for ovarian hyperstimulation syndrome and live birth: an analysis of 256,381 in vitro fertilization cycles. **Fertility and Sterility**, v. 101, n. 4, p. 967–973, 2014.

Storr, A.; Venetis, C. A.; Cooke, S.; Susetio, D.; Kilani, S.; Ledger, W. Morphokinetic parameters using *time-lapse* technology and day 5 embryo quality: a prospective cohort study. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 32, p. 1151-1160, 2015.

Sundvall, L.; Ingerslev, H. J.; Breth Knudsen, U.; Kirkegaard, K. Inter- and intra-observer variability of *time-lapse* annotations. **Human Reproduction**, v. 28, n. 12, p. 3215–3221, 2013.

Sunkara, S. K.; Rittenberg, V.; Raine-Fenning, N.; Bhattacharya, S.; Zamora, J.; Coomarasamy, A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. **Human Reproduction**, v. 26, n. 7, p. 1768–1774, 2011.

Supramanian, P. R.; Granne, I.; Ohuma, E. O.; Lim, L. N.; Mcveigh, E.; Venkatakrishnan, R.; Becker, C. M.; Mittall, M. ICSI does not improve reproductive outcomes in autologous ovarian response cycles with non-male factor subfertility. **Human Reproduction**, v. 35, n. 3, p. 583–594, 2020.

Tan, T. Y.; Lau, M. S. K.; Loh, S. F.; Tan, H. H. Female ageing and reproductive outcome in assisted reproduction cycles. **Singapore Medical Journal**, v. 55, n. 6, p. 305–309, 2014.

Tejera, A.; Castelló, D.; De Los Santos, J. M.; Pellicer, A.; Remohí, J.; Meseguer, M. Combination of metabolism measurement and a *time-lapse* system provides an embryo selection method based on oxygen uptake and chronology of cytokinesis timing. **Fertility and Sterility**, v. 106, n. 1, p. 119–126, 2016.

Templeton, A.; Morris, J. K.; Parslow, W. Factors that affect outcome of in-vitro fertilisation treatment. **Lancet**, v. 348, n. 9039, p. 1402–1406, 1996.

Timeva, T.; Milachich, T.; Antonova, I.; Arabaji, T.; Shterev, A.; Omar, H. A. Correlation Between Number of Retrieved Oocytes and Pregnancy Rate After In Vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection. **Scientific World Journal**, v. 26, n. 6, p. 686–690, 2006.

Vaegter, K. K.; Lakic, T. G.; Olovsson, M.; Berglund, L.; Brodin, T.; Holte, J. Which factors are most predictive for live birth after in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) treatments? Analysis of 100 prospectively recorded variables in 8,400 IVF/ICSI single-embryo transfers. **Fertility and Sterility**, v. 107, n. 3, p. 641–648, 2017.

Valera, M. D. L. A.; Rocha, J. C.; Bori, L.; Alegre, L.; Nogueira, M. F. G.; Chéles, D. S.; Meseguer, M. Novel artificial intelligence algorithm for improving embryo selection combining morphokinetics and non-invasive measurement of oxidative stress. **Fertility & Sterility**, v. 114, n. 3, p. e140–e141, 2020.

Van Den Abbeel, E.; Balaban, B.; Ziebe, S.; Lundin, K.; Cuesta, M. J. G.; Klein, B. M.; Helmgaard, L.; Arce, J. C. Association between blastocyst morphology and outcome of single-blastocyst transfer. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 27, n. 4, p. 353–361, 2013.

Vogiatzi, P.; Pouliakis, A.; Siristatidis, C. An artificial neural network for the prediction of assisted reproduction outcome. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 36, n. 7, p. 1441–1448, 2019.

Walczak, S.; Cerpa, N. Heuristic principles for the design of artificial neural networks. **Information and Software Technology**, v. 41, n. 2, p. 107–117, 1999.

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

Weitzman, V. N.; Schnee-Riesz, J.; Benadiva, C.; Nulsen, J.; Siano, L.; Maier, D. Predictive value of embryo grading for embryos with known outcomes. **Fertility and Sterility**, v. 93, n. 2, p. 658–662, 2010.

Wolff, M. V.; Schwartz, A. K.; Bitterlich, N.; Stute, P.; Fähr, M. Only women's age and the duration of infertility are the prognostic factors for the success rate of natural cycle IVF. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 299, n. 3, p. 883–889, 2019.

Wong, C. C.; Loewke, K. E.; Bossert, N. L.; Behr, B.; Jonge, C. J. De; Baer, T. M.; Pera, R. A. R. Articles Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage. **Nature Biotechnology**, v. 28, n. 10, p. 1115–1121, 2010.

Zahmatkeshan, M.; Naghdi, M.; Farjam, M.; Mokhtaran, M.; Yazdani, A.; Mahmoudvand, Z.; Safdari, R. ART Registries – Characteristics and experiences: A comparative study. **Journal of Family Medicine and Primary Care**, v. 8, n. 2, p. 449–454, 2019.

Zaninovic, N.; Rocha, J. C.; 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.

Zhou, H.; Zhang, D.; Luo, Z.; Yang, A.; Cui, N.; Hao, G.; Wang, W. Association between Body Mass Index and Reproductive Outcome in Women with Polycystic Ovary Syndrome Receiving IVF/ICSI-ET. **BioMed Research International**, v. 6434080, p. 1-7, 2020.

3 ARTIGO

Nesta seção, é apresentada uma proposta de artigo científico a ser submetido ao periódico Human Reproduction, com fator de impacto (6,918) e Online ISSN 1460-2350.

As normas de publicação da revista podem ser encontradas no Anexo 2, sendo que o manuscrito difere destas normas por utilizar língua portuguesa.

Aplicação de inteligência artificial, de variáveis da morfologia do blastocisto, morfocinética embrionária e variáveis relacionadas com a paciente para melhorar a seleção embrionária na reprodução assistida

Título corrido

Inteligência artificial usada na predição reprodutiva

Dóris Spinosa Chéles^{1,2,5}, Eleonora Inácio Fernandez², André Satoshi Ferreira², Lorena Bori³, Marcos Meseguer^{3,4}, José Celso Rocha^{1,2}, Marcelo Fábio Gouveia Nogueira^{1,5*}

¹Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, Brasil.

²Laboratório de Matemática Aplicada, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Assis, Brasil.

³Laboratório de FIV, IVI Valencia, Valencia, Espanha.

⁴Instituto de Pesquisa em Saúde la Fe, Valencia, Espanha.

⁵Laboratório de Micromanipulação Embrionária, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Assis, Brasil.

*Autor correspondente.

Resumo

Pergunta do estudo

Variáveis morfológicas preditivas da qualidade do blastocisto, da morfocinética embrionária e relacionadas com a paciente podem ser preditivas de batimento cardíaco fetal e nascimento vivo quando utilizadas em conjunto como entradas para um software baseado em inteligência artificial (IA)?

Resposta resumida

Foram encontradas redes neurais artificiais (RNAs) com acurácia geral superior a 90% no treinamento e a 70% na simulação para a predição de batimento cardíaco fetal e nascimento vivo, considerando os três conjuntos de variáveis juntos como entradas.

O que já é conhecido

Apesar da disponibilidade do sistema time-lapse, o qual permite análises morfológicas e morfocinéticas detalhadas, a avaliação embrionária ainda é subjetiva. Técnicas computacionais, como processamento de imagens e a IA, têm sido aplicados para extrair aspectos quantitativos dos dados produzidos em clínicas, com o objetivo de melhorar os resultados obtidos na reprodução assistida.

Desenho do estudo, tamanho, duração

Um conjunto de dados inicial incluindo 369 dados contidos em uma planilha foi adquirido por meio de uma parceria científica com a clínica IVI-RMA (Valencia, Espanha) entre 2017 e 2019. Deste total, 215 dados para a morfologia do blastocisto, 223 dados para a morfocinética embrionária e 269 dados para as características relacionadas com a paciente foram utilizados neste estudo.

Participantes/Materiais, Contexto, Métodos

Para a morfologia do blastocisto, foram excluídas imagens com visualização incompleta de todo o blastocisto, luz insuficiente para reconhecer regiões individuais, blastocisto fora de foco e exibição de um embrião fora do estágio de blastocisto. Em seguida, foi realizado o processamento digital de imagens para

a extração automatizada de 33 variáveis preditivas da morfologia do blastocisto. Para a morfocinética embrionária, foram utilizados 16 parâmetros relacionados aos tempos de desenvolvimento e disponíveis na planilha. Para as pacientes, foram utilizadas 4 variáveis e, para cada uma delas, foram atribuídas pontuações com base na literatura da reprodução assistida relacionada à paciente. As RNAs foram treinadas e simuladas com as 53 variáveis dos três conjuntos de entrada juntos para prever o batimento cardíaco fetal e o nascimento vivo utilizando a plataforma MatLab®.

Principais resultados e o papel do acaso

Para a predição de batimento cardíaco fetal, as acurácias gerais da melhor RNA encontrada para o treinamento e a simulação foram 95,2% e 78,4%, respectivamente. Já a melhor RNA encontrada para a predição de nascimento vivo obteve acurácias gerais para o treinamento e para a simulação de 98,0% e 81,1%, respectivamente.

Limitações, Razões para Cuidado

A proposta de um método de análise que não é totalmente automatizado para a seleção de imagens primárias obtidas por meio de sistema time-lapse, o baixo número de variáveis relacionadas com a paciente, os dados utilizados de apenas uma clínica e a ausência de variáveis relacionadas ao homem em tratamento de reprodução assistida podem ser consideradas limitações deste estudo.

Implicações mais amplas das descobertas

Este estudo fornece parâmetros objetivos relacionados à morfologia, morfocinética e pacientes para avaliar a viabilidade embrionária e as características das pacientes, por meio das quais foi possível obter RNAs com poder preditivo do sucesso gestacional e nascimento vivo. Dessa forma, a aplicação da IA apresenta potencial para auxiliar, de forma objetiva, os embriologistas durante a escolha do embrião mais apto para a transferência, e assim, se tornar parte da rotina clínica na reprodução assistida.

Financiamento do Estudo/Conflito de Interesse

Este estudo é apoiado pelas bolsas nº 2017/19323-5 e nº 2020/07634-9 da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. Os autores não relatam conflitos de interesse.

Palavras-chave

embrião / pacientes / redes neurais artificiais / gestação / nascimento vivo.

3.1 Introdução

As tecnologias de reprodução assistida, do inglês assisted reproductive technology (ART) vêm sendo cada vez mais utilizadas e aprimoradas nas últimas décadas, a fim de auxiliar indivíduos inférteis a alcançar uma gestação bem-sucedida (Xiong *et al.*, 2020; Sciorio *et al.*, 2020). As gestações múltiplas têm sido uma preocupação relacionada à ART devido aos maiores riscos maternos e neonatais associados em comparação com as gestações únicas (Devine *et al.*, 2015). Assim, a transferência de um único embrião, do inglês, single embryo transfer (SET) é recomendada para atingir o objetivo fundamental da ART, o nascimento de um bebê saudável. Portanto, novas abordagens para prever os resultados da gestação após SET são essenciais para atingir tal objetivo (Tiitinen, 2019; Xiong *et al.*, 2020).

Um dos avanços mais impactantes na área médica envolve o uso de sistemas de predição baseados na aplicação de inteligência artificial (IA), como redes neurais artificiais (RNAs) e algoritmos genéticos (AGs) (Rocha *et al.*, 2016).

Uma RNA pode ser descrita da seguinte forma: uma camada de entrada, responsável por receber informações de dados (inputs); camada(s) intermediária(s) ou oculta(s), que realizam o processamento dos dados e uma camada de saída, fornecendo os resultados finais obtidos (outputs preditivos) (Haykin, 2001). As RNAs podem aprender por meio de treinamento, ou seja, a aplicação de um algoritmo de aprendizado com o objetivo de obter uma resposta que represente as entradas fornecidas (Kriesel, 2005; Silva *et al.*, 2010; Greener

et al., 2022). Os AGs referem-se a algoritmos de otimização, utilizados para facilitar a seleção das melhores RNAs obtidas a cada iteração do algoritmo (Eiben e Smith, 2003; Mitchell, 1996).

No campo da medicina reprodutiva, estes sistemas buscam melhorar a seleção embrionária, avaliando fatores que podem melhorar o resultado clínico após a ART, como a morfologia, a morfocinética e características relacionadas às mulheres em tratamento de reprodução assistida (Milewski *et al.*, 2017; Zaninovic *et al.*, 2019; VerMilyea *et al.*, 2020). Além disso, a IA também vem sendo aplicada considerando fatores relacionados aos homens, a fim de prever a qualidade do sêmen, por exemplo, com base em fatores ambientais e hábitos de vida (Girela *et al.*, 2013; Candemir, 2018; Sahoo e Kumar, 2018).

Desde a introdução do sistema time-lapse nos laboratórios, uma grande quantidade de dados vem sendo produzida em clínicas de fertilidade que investiram nesta tecnologia. O sistema time-lapse inclui uma incubadora acoplada a um microscópio integrado e câmeras conectadas a um computador externo. As capturas das imagens dos embriões são realizadas em intervalos de tempo definidos (de 5 a 20 minutos) e em até 11 planos focais. As imagens são alocadas em um vídeo, o qual permite análises morfológicas e morfocinéticas detalhadas do desenvolvimento dos embriões (Minasi *et al.*, 2020). No entanto, a avaliação embrionária ainda depende da experiência do embriologista, resultando em subjetividade no momento da seleção embrionária e variabilidade no desfecho clínico, que contribuem para uma baixa taxa de sucesso – em média, apenas de 30 a 40% dos embriões transferidos resultam em gestação clínica (Storr *et al.*, 2017; De Geyter, 2018; Vogiatzi *et al.*, 2019; Friedenthal *et al.*, 2021).

Estudos anteriores já utilizaram técnicas computacionais para extrair parâmetros quantitativos relacionados ao embrião em estágio de blastocisto. Santos Filho *et al.* (2012) desenvolveram um algoritmo que segmenta o blastocisto em imagens da massa celular interna (MCI) e trofotoderme (TE). Singh *et al.* (2015) utilizaram um método para segmentar apenas a TE. Além disso, dois estudos aplicaram processamento digital de imagens para segmentar regiões de interesse das imagens de blastocistos, para a extração de variáveis relacionadas aos embriões cultivados na incubadora que utiliza tecnologia time-lapse (EmbryoScope®) (Rocha *et al.*, 2018; Zaninovic *et al.*, 2018).

A possível automação da avaliação embrionária considerando aspectos objetivos em procedimentos de reprodução assistida, embora desafiadora devido à complexidade das variáveis embriológicas (Bormann *et al.*, 2020), pode levar a um sucesso mais consistente da ART. Assim, a morfologia do blastocisto, a morfocinética embrionária e os parâmetros relacionados com a paciente podem ser considerados as principais variáveis que influenciam no sucesso da ART (Chéles *et al.*, 2020). Portanto, este estudo teve como objetivo aplicar variáveis morfológicas, morfocinéticas e da paciente como entradas para um software de IA para prever a gestação (com base na detecção de batimento cardíaco fetal) e o nascimento vivo.

3.2 Materiais e Métodos

3.2.1 Desenho do estudo

Este é um estudo retrospectivo baseado em dados fornecidos pelo Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI-RMA, Valencia, Espanha) de 2017 a 2019. O banco de dados está contido em uma planilha, que contém 369 dados relacionados aos embriões e as respectivas pacientes (sem identificação). No entanto, desses 369 dados, apenas 354 imagens foram recebidas. As imagens dos embriões e os parâmetros morfocinéticos são derivados de uma incubadora com tecnologia de time-lapse, o EmbryoScope® da Vitrolife.

Com base na planilha fornecida, há a informação sobre a transferência embrionária, a qual pode ser descrita como SET, transferência dupla de embriões, double embryo transfer (DET) ou células vazias (sem informação sobre SET ou DET). Considerando que pode ser duvidoso saber qual embrião resultou em gestação quando a transferência é dupla ou quando a informação não está disponível (célula vazia) e que esta informação é mandatória para o nosso modelo atual, apenas os dados correspondentes à SET foram considerados para as análises. Assim, dos 369 dados da planilha, foram utilizados 272 dados de SET.

3.2.2 Morfologia do blastocisto

Para a morfologia do blastocisto, dos 272 dados de SET, 259 correspondem às imagens recebidas. De acordo com os seguintes critérios de exclusão, 24 imagens foram excluídas devido à visualização incompleta de todo o blastocisto ($n = 1$), luz insuficiente para reconhecer regiões individuais ($n = 1$), blastocisto fora de foco ($n = 11$) e exibição de um embrião fora do estágio de blastocisto ($n = 11$) (Figura 14).

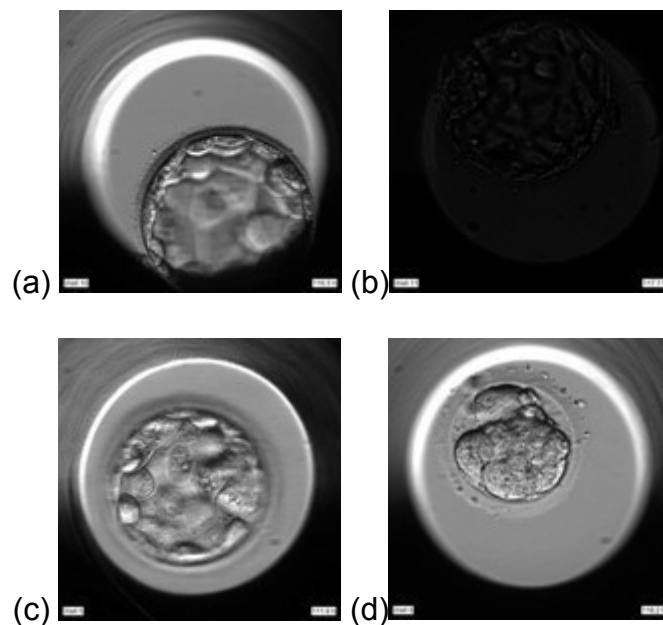


Figura 14 Exemplos de imagens excluídas pelos seguintes critérios de exclusão: (a) visualização incompleta de todo o blastocisto; (b) luminosidade insuficiente para reconhecer regiões individuais; (c) blastocisto fora de foco e (d) exibição de um embrião fora do estágio de blastocisto.

Após este filtro de qualidade inicial, 235 imagens foram utilizadas para o processamento digital e extração de variáveis preditivas da morfologia do blastocisto. Para isso, foi utilizado o programa computacional previamente desenvolvido para a espécie bovina (Rocha *et al.*, 2017a,b) e adaptado para a espécie humana (Zaninovic *et al.*, 2018; Rocha *et al.*, 2018).

O processamento digital foi realizado na plataforma MatLab®, compreendendo as etapas de padronização e segmentação das imagens (Figura 15) para extração automatizada de variáveis morfológicas. Vários filtros e técnicas matemáticas foram utilizados, como a Transformada de Hough para

detectar círculos (Atherton e Kerbyson, 1999); algoritmos de mensuração de área para calcular o número de pixels em cada região segmentada do blastocisto; Matriz de Co-ocorrência de Nível de Cinza, Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM) e Padrões Binários Locais, Local Binary Patterns (LBP) para a determinação de texturas na imagem (Haralick *et al.*, 1973; Rocha *et al.*, 2017a,b; Chéles *et al.*, 2022).

Após o processamento, em 20 imagens, o software não foi eficaz em segmentar corretamente a imagem (Figura 16), principalmente devido à baixa qualidade da imagem original. Dessa forma, 215 imagens foram efetivamente utilizadas para a aplicação das técnicas de IA. Ao final do processamento, 33 variáveis preditivas da morfologia do blastocisto foram obtidas e utilizadas como entradas para o conjunto de morfologia do blastocisto. Estas variáveis buscam representar numericamente para o software de IA todas as características biologicamente relevantes do blastocisto. Cada uma das variáveis se refere a uma das 3 regiões de interesse no blastocisto: expansão do blastocisto (EX), MCI e TE (Chéles *et al.*, 2022).

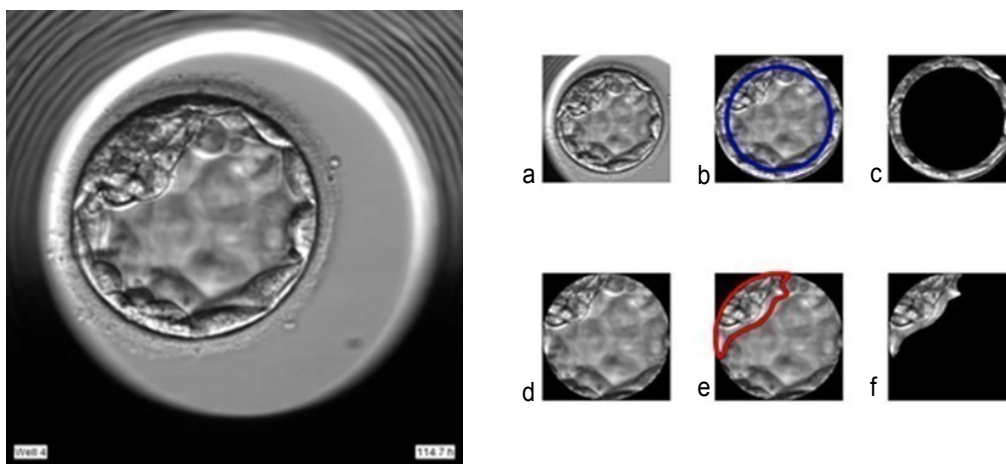


Figura 15 Descrição ilustrativa das etapas do processamento de imagem digital para blastocistos humanos. a) Imagem do blastocisto antes da segmentação com inclusão da zona pelúcida. b) Blastocisto isolado e marcação em azul da área entre a TE e a parte interna do blastocisto. c) TE isolada. d) MCI e blastocele isoladas. e) A área identificada como MCI marcada em vermelho. f) MCI isolada. A figura maior (à esquerda) ilustra a imagem obtida originalmente do equipamento EmbryoScope®.

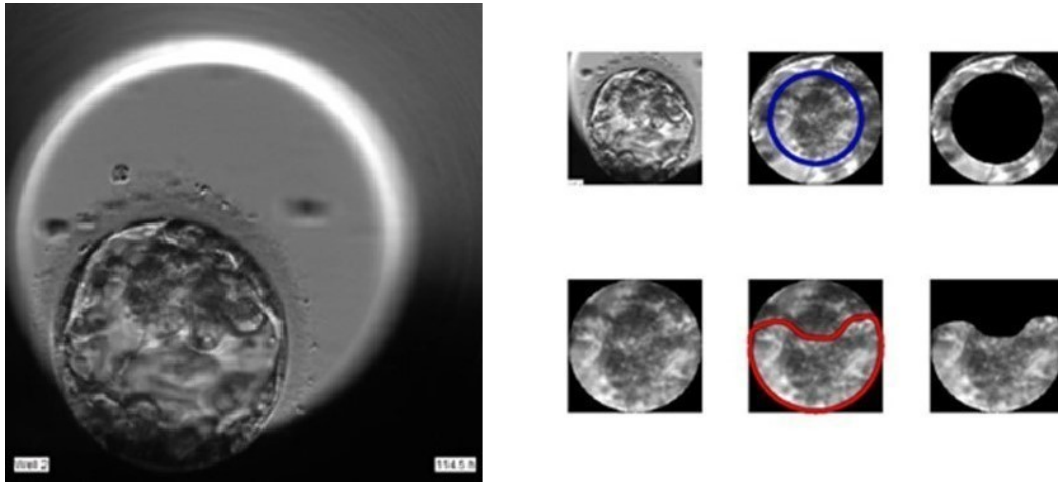


Figura 16 Exemplo de imagem excluída em que o software de processamento digital não gerou as seis versões (à direita) da imagem original (à esquerda) corretamente.

3.2.3 Morfocinética embrionária

Para a morfocinética embrionária, foram utilizados os parâmetros (tempos) do desenvolvimento embrionário de acordo com a disponibilidade na planilha e com base em artigos presentes na literatura (Chawla *et al.*, 2014; Ciray *et al.*, 2014; Desai *et al.*, 2014; Fishel *et al.*, 2017; a, 2014). Assim, 16 variáveis de entrada foram utilizadas para a morfocinética (Tabela 7). Dos 272 dados disponíveis, 49 dados foram excluídos devido à ausência de informações sobre o tempo. Um total de 223 dados foram utilizados para a aplicação das técnicas de IA.

Tabela 7 Parâmetros relacionados aos tempos do desenvolvimento embrionário utilizados para a aplicação em inteligência artificial (IA) para o conjunto da morfocinética e suas respectivas definições.

Parâmetro	Definição
t2	Tempo de clivagem para um embrião de duas células
t3	Tempo de clivagem para um embrião de três células
t4	Tempo de clivagem para um embrião de quatro células
t5	Tempo de clivagem para um embrião de cinco células
t6	Tempo de clivagem para um embrião de seis células
t7	Tempo de clivagem para um embrião de sete células
t8	Tempo de clivagem para um embrião de oito células
tSB	Tempo de início da blastulação
tB	Tempo em que a blastocle atinge aproximadamente metade do volume do blastocisto
cc2	Tempo entre a divisão de duas para três células
cc3	Tempo entre a divisão de três para cinco células
relcc2	$[(t3-t2)/(t5-t2)]*100$
score global	Relação entre t2, cc2, cc3 e relcc2
t4-t3	Tempo entre a divisão de três para quatro células
tSB-t8	Tempo entre a divisão de oito células para o início da blastulação
tB-tSB	Tempo entre o início da blastulação para a blastocle com aproximadamente metade do volume do blastocisto

3.2.4 Parâmetros relacionados com a paciente

As variáveis disponíveis na planilha relacionadas com as pacientes referem-se à idade, ao índice de massa corporal (IMC), número de oócitos e tentativas anteriores de ciclos de reprodução assistida. Com base nos 272 dados de SET, 3 deles não apresentam informações sobre a paciente. Assim, 269 dados foram efetivamente usados para a aplicação das técnicas de IA.

Uma pesquisa bibliográfica baseada na literatura da reprodução assistida relacionada com a paciente foi realizada com o objetivo de avaliar as variáveis contidas na planilha e elaborar pontuações para cada variável. As RNAs receberam como entradas as pontuações elaboradas, com o objetivo de otimizar o treinamento das RNAs e, conseqüentemente, facilitar seu aprendizado. Os intervalos foram definidos para atribuição das pontuações. Foi considerado um intervalo de valores entre 1 e 10, sendo que, quanto mais próximo de 1 a pontuação, menos favorável a variável para a ocorrência de gestação e quanto mais próximo de 10 a pontuação, mais favorável para a gestação.

Idade

O aumento da idade materna está diretamente associado ao declínio da fertilidade e à menor chance de alcançar uma gestação (Tan *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2018; Liao *et al.*, 2019; Delbaere *et al.*, 2020). Após os 30 anos, inicia-se um declínio considerável na fertilidade feminina. No entanto, após os 40 anos, há uma diminuição crítica na chance de alcançar a gestação (Tan *et al.*, 2014; Wolff *et al.*, 2019). Com base nesses estudos, a associação dos intervalos definidos e as respectivas pontuações para a variável idade podem ser visualizados na Tabela 8. A pontuação diminui com o aumento da idade da paciente.

Índice de Massa Corporal

O IMC é uma medida para definir as características de altura e peso dos indivíduos e categorizá-los em grupos (Nuttall, 2015). A Organização Mundial da Saúde divide a população em 4 grupos, com base no cálculo do IMC $\text{peso (kg)/altura (m)}^2$: indivíduos com IMC inferior a 18,5 kg/m^2 (baixo peso); indivíduos com IMC entre 18,5 e 25 kg/m^2 (peso normal); indivíduos com IMC entre 25 e 30 kg/m^2 (sobrepeso) e indivíduos com IMC superior a 30 kg/m^2 (obesos) (Frankenthal *et al.*, 2019). É possível notar que a taxa de gestação em mulheres

com baixo peso e excesso de peso é consideravelmente menor em comparação com mulheres com peso normal (Na *et al.*, 2018; D'Souza *et al.*, 2019; Frankenthal *et al.*, 2019; Purewal *et al.*, 2019; Qiu *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2020).

Assim, as pacientes com IMC menor ou igual a 18,5 kg/m² e maior ou igual a 30 kg/m² receberam as pontuações mais baixas. Pacientes com IMC variando de 18,6 a 20 kg/m² e 25 a 29,9 kg/m² receberam pontuações intermediárias, e pacientes com IMC variando de 20,1 a 24,9 kg/m² receberam a pontuação mais alta (Tabela 8).

Número de oócitos

O número ideal de oócitos para o tratamento de reprodução assistida varia entre os estudos, sendo 15 de acordo com o estudo de Milachich e Shterev (2016) e entre 9 e 16 para Liao *et al.* (2019). Um número reduzido de oócitos devido ao avanço da idade materna e/ou má resposta à estimulação ovariana resulta em menor taxa de gestação clínica. Além disso, quando há uma alta contagem de oócitos, muitos deles podem estar imaturos e levar a uma menor taxa de fertilização (Milachich e Shterev, 2016; Hsu *et al.*, 2016).

Assim, à faixa entre 8 e 20 oócitos foi atribuída a maior pontuação, seguida pela faixa de 21 a 29; seguido pelo maior número de oócitos (maior ou igual a 30) e, por fim, os números menores que 8 receberam a menor pontuação (Tabela 8).

Tentativas anteriores

Essa variável representa a quantidade de ciclos de tratamento anteriores sem sucesso. Quanto maior o número de tentativas anteriores, menor a chance de alcançar uma gestação (Vaegter *et al.*, 2017; Supramanian *et al.*, 2020). Com base nos estudos de Nelson e Lawlor (2011), Vaegter *et al.* (2017) e Supramanian *et al.* (2020), que demonstraram que a chance de engravidar cai drasticamente após 4 tentativas anteriores sem sucesso, as pontuações foram elaborados conforme mostra a Tabela 8.

Tabela 8 Pontuações elaboradas com base em pesquisa bibliográfica atribuídas às 4 variáveis relacionadas com a paciente: idade, índice de massa corporal (IMC), número de oócitos e tentativas anteriores.

Idade (anos)	Pontuação	IMC (kg/m ²)	Pontuação	Número de oócitos	Pontuação	Tentativas anteriores	Pontuação
≤ 30	10	≤ 18,5	1	0-7	2	0	10
31-36	8	18,6 - 20	7	8-20	10	1-4	8
37-42	6	20,1 – 24,9	10	21-29	7	≥ 5	4
> 42	2	25 – 29,9	7	≥ 30	5		
		≥ 30	1				

3.2.5 Implementação das técnicas de IA

Os dados totais para cada conjunto de entrada foram divididos em dois grupos: um grupo de treinamento para o aprendizado das RNAs (80% do total) e um grupo de simulação (teste cego) para testar o desempenho do modelo após o treinamento (20% do total). Para auxiliar no treinamento das RNAs, foram definidos conjuntos de validação e teste do modelo. Para o aprendizado das RNAs, os dados de treinamento (80% do total) foram distribuídos de acordo com 70%, 15% e 15% para treinamento, validação e teste, respectivamente (Chakrabarty e Dubey, 2015; Matos, 2014; Kalpana *et al.*, 2015). Esta divisão pode ser considerada padrão no campo da IA, sendo adotada em estudos anteriores (Nogueira *et al.*, 2018; Kulp e Strauss, 2018; Shaik *et al.*, 2020). As RNAs foram selecionadas por meio da técnica de AGs, realizada na plataforma MatLab®.

3.2.6 Análises estatísticas

O programa de processamento digital de imagens gerou automaticamente valores numéricos para imagens sem e com colinearidade na plataforma MatLab®. A análise de colinearidade é uma prática comum e recomendada, que permite eliminar aquelas variáveis relacionadas entre si, ou seja, redundantes, o que poderia levar a uma predisposição a favor de determinadas variáveis em detrimento de outras. Variáveis colineares podem ter o mesmo mérito preditivo

para a constituição do programa e podem ser reduzidas a apenas uma delas (que é representativa das demais) (Walczak e Cerpa, 1999; Rocha *et al.*, 2017b). Após a análise de colinearidade, 20 variáveis foram mantidas (Item 7.1, Anexo 1) e também utilizadas como entradas do conjunto de morfologia para o programa de IA.

O software de IA já desenvolvido na plataforma MatLab® para a espécie humana foi utilizado neste estudo (Rocha *et al.*, 2018; Zaninovic *et al.*, 2018). Após o treinamento, foram obtidas as matrizes de confusão, curvas ROC e AUCs do treinamento e da simulação para avaliar o desempenho das melhores RNAs (Kragh e Karstoft, 2021).

3.3 Resultados

Os resultados do treinamento e simulação da melhor RNA encontrada pelo AG para a predição de batimento cardíaco fetal considerando as variáveis de entrada da morfologia, morfocinética e paciente (53 variáveis) podem ser visualizados por meio de Matrizes de Confusão (Figuras 17 e 18).

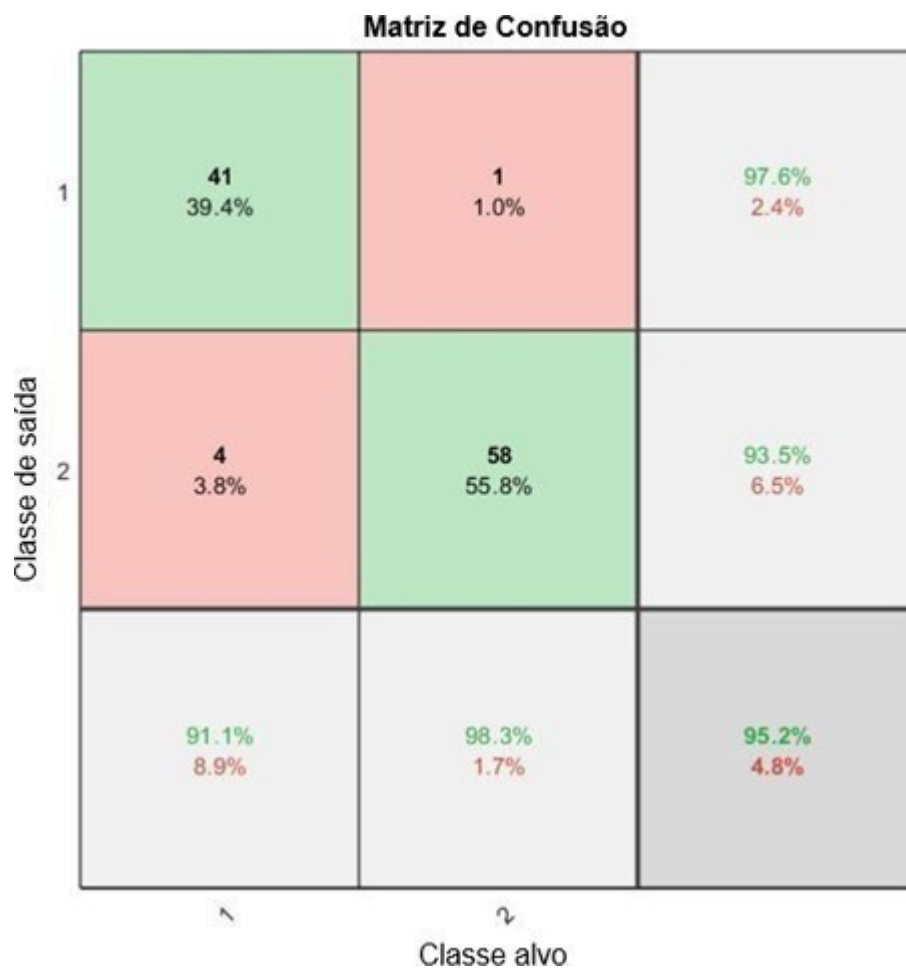


Figura 17 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 53 variáveis de entrada (morfologia, morfocinética e paciente) referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

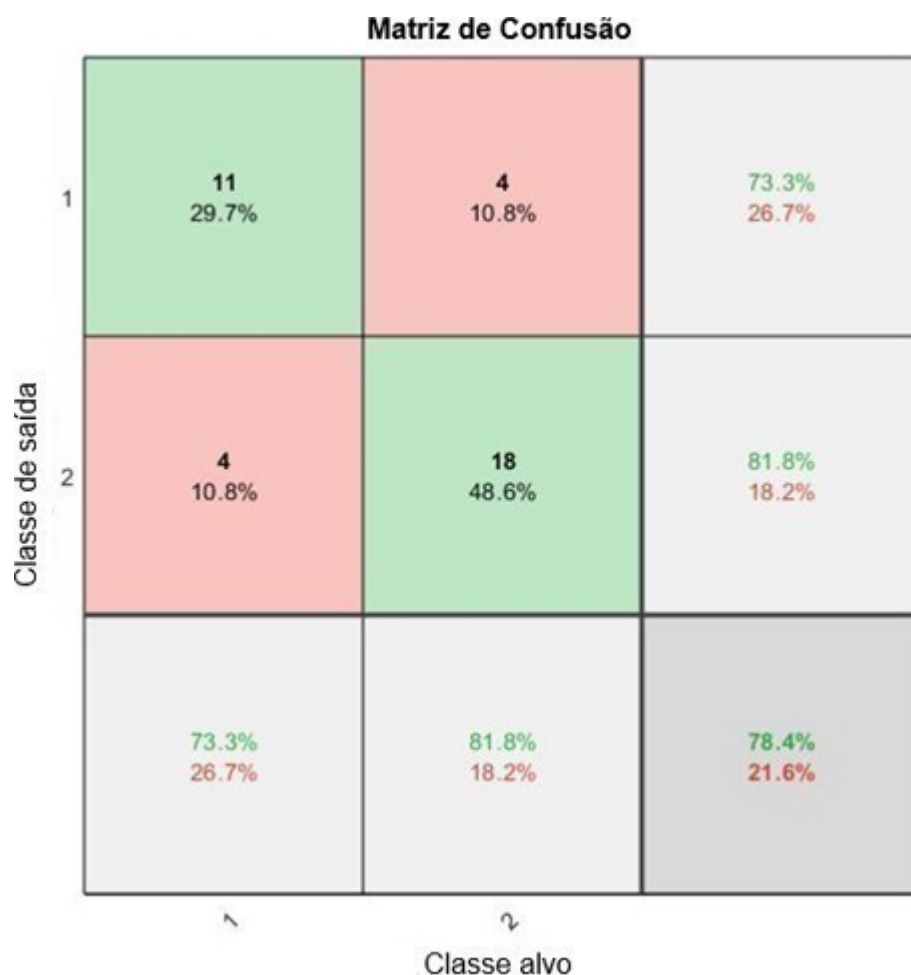


Figura 18 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 53 variáveis de entrada (morfologia, morfocinética e paciente) referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Outras formas de analisar os dados da melhor RNA obtida podem ser por meio das curvas ROCs (Figuras 19 e 20) e das AUCs (Tabela 9).

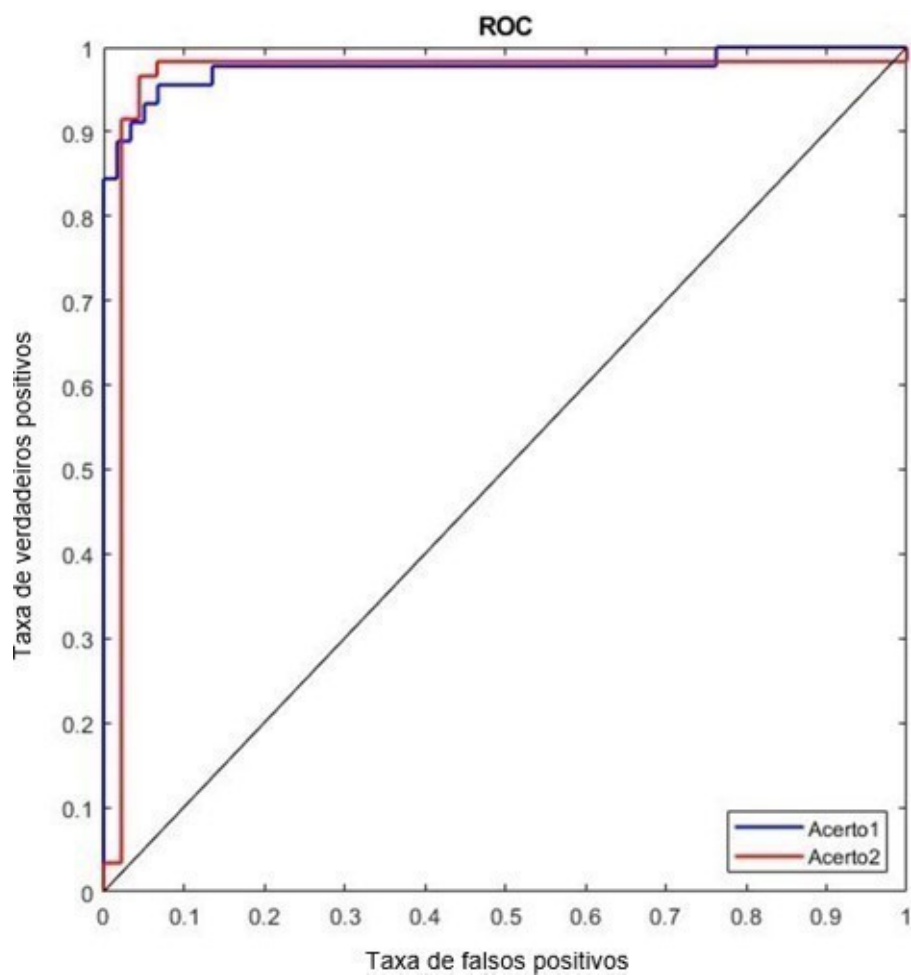


Figura 19 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 53 variáveis de entrada (morfologia, morfocinética e paciente) referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal. Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1); Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

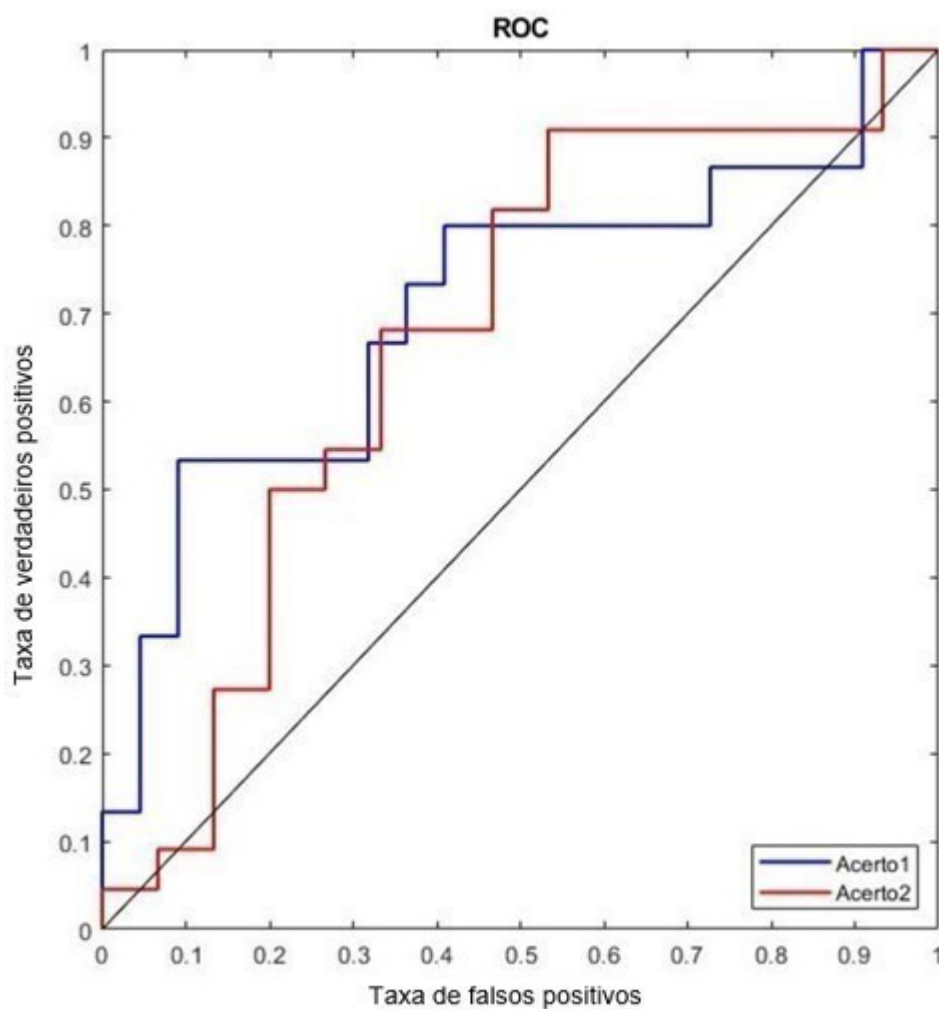


Figura 20 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 53 variáveis de entrada (morfologia, morfocinética e paciente) referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 9 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 53 variáveis de entrada referente à morfologia, morfocinética e paciente para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para a ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia + Morfocinética + Paciente (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	97,6%
AUC 2 Treinamento	96,0%
AUC 1 Simulação	70,9%
AUC 2 Simulação	67,3%

Da mesma maneira, os resultados do treinamento e simulação da melhor RNA encontrada pelo AG para a predição de nascimento vivo considerando as variáveis de entrada da morfologia, morfocinética e paciente (53 variáveis) podem ser visualizados por meio de Matrizes de Confusão (Figuras 21 e 22).

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	2	
	1	2	
	1	2	
	↖	↘	Classe alvo

Figura 21 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 53 variáveis de entrada (morfologia, morfocinética e paciente) referente à melhor RNA encontrada para a predição de nascimento vivo.

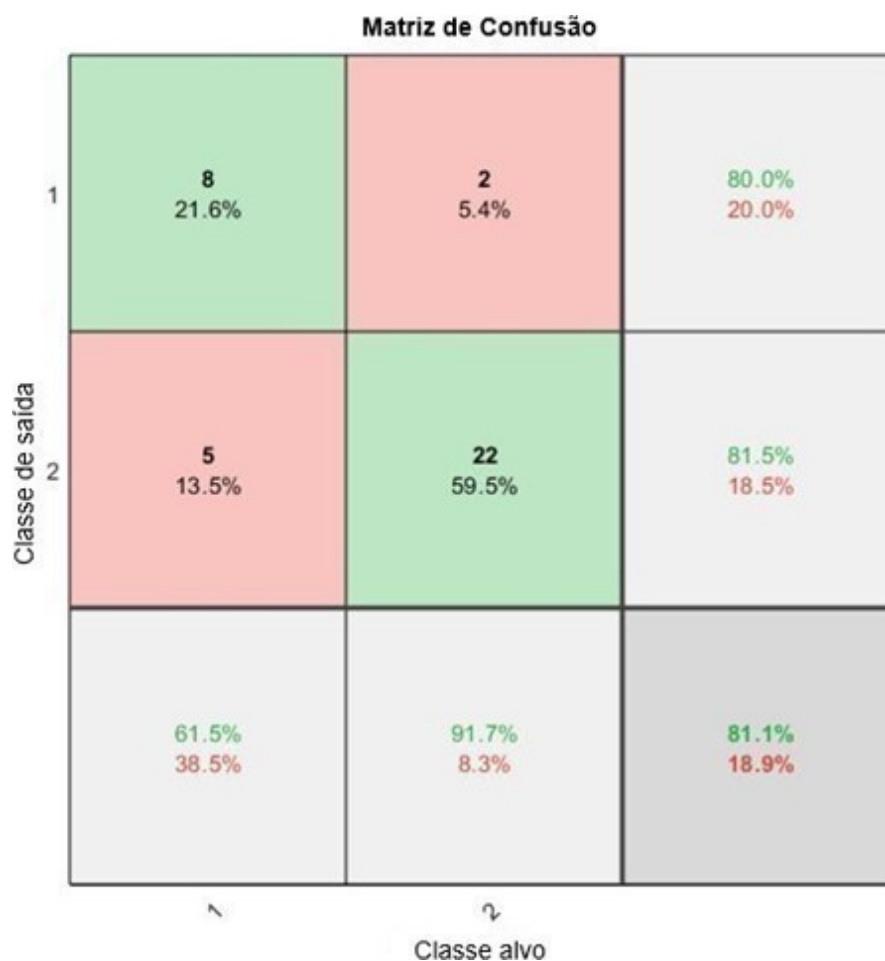


Figura 22 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 53 variáveis de entrada (morfologia, morfocinética e paciente) referente à melhor RNA encontrada para a predição de nascimento vivo.

As curvas ROCs e os valores de AUCs da melhor RNA obtida podem ser visualizados nas Figuras 23 e 24 e na Tabela 10, respectivamente.

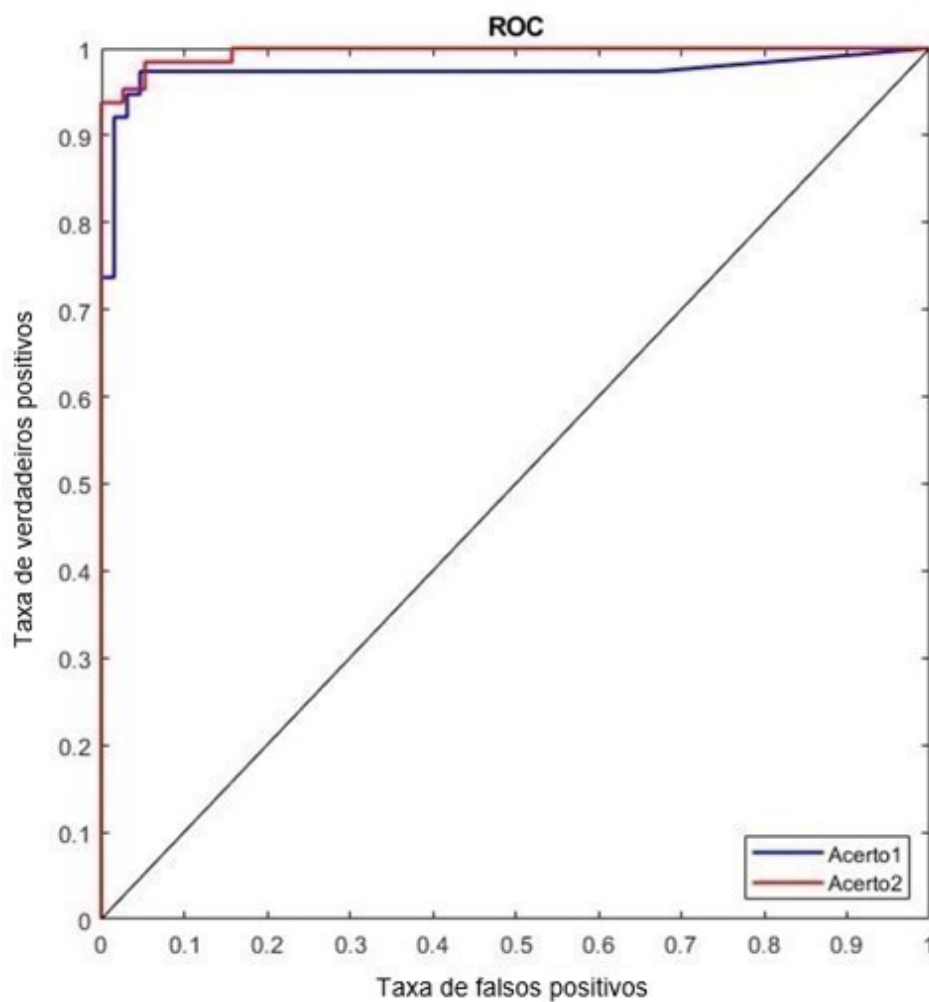


Figura 23 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 53 variáveis de entrada (morfologia, morfocinética e paciente) referente à melhor RNA encontrada para a predição de nascimento vivo.
Acerto para a presença de nascimento vivo (Acerto 1).
Acerto para a ausência de nascimento vivo (Acerto 2).

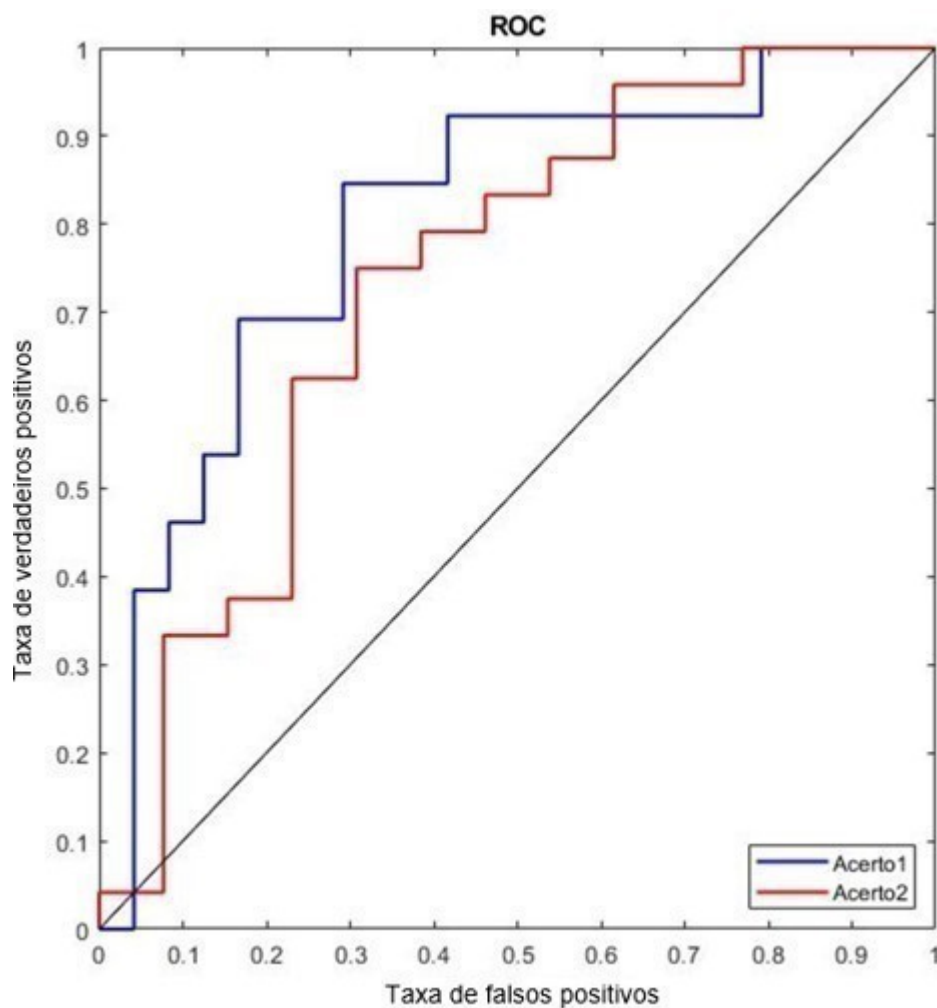


Figura 24 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 53 variáveis de entrada (morfologia, morfocinética e paciente) referente à melhor RNA encontrada para a predição de nascimento vivo. Acerto para a presença de nascimento vivo (Acerto 1). Acerto para a ausência de nascimento vivo (Acerto 2).

Tabela 10 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 53 variáveis de entrada referente à morfologia, morfocinética e paciente para a predição de nascimento vivo.

AUC para a presença de nascimento vivo (AUC 1);

AUC para ausência de nascimento vivo (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia + Morfocinética + Paciente (predição de nascimento vivo)
AUC 1 Treinamento	97,3%
AUC 2 Treinamento	99,5%
AUC 1 Simulação	80,4%
AUC 2 Simulação	73,4%

As acurácias de cada classe (1 para acurácia de presença de batimento cardíaco fetal – 91,1%) e (2 - para acurácia de ausência de batimento cardíaco fetal – 98,3%) e acurácia geral de 95,2% no treinamento, somadas às acurácias de cada classe na simulação, 73,3% e 81,8%, para as classes 1 e 2, respectivamente, demonstram o potencial preditivo da RNA frente a novos dados. Além disso, embora o valor da AUC para a ausência de batimento cardíaco fetal na simulação tenha sido abaixo de 70%, todos os valores de AUC obtidos foram superiores a 50%, demonstrando o poder preditivo da RNA para a predição de batimento cardíaco fetal.

As acurácias de cada classe (1 para acurácia de presença de nascimento vivo – 97,4%) e (2 para acurácia de ausência de nascimento vivo – 98,4%) além da acurácia geral de 98,0% indicam resultados ainda melhores para a predição de nascimento vivo, no treinamento, comparada à predição de batimento cardíaco fetal pelo mesmo conjunto. As acurácias de cada classe na simulação, 61,5% e 91,7%, demonstram que a acurácia da classe 2 foi superior à classe 1, na simulação; ainda assim, a acurácia geral alcançou um acerto superior a 80%, demonstrando o potencial preditivo da RNA frente a novos dados e principalmente quando a predição é de ausência de nascimento. Além disso,

todos os valores de AUC obtidos foram superiores a 70%, demonstrando o poder preditivo da RNA para a predição de nascimento vivo.

Quanto aos resultados obtidos pelas melhores RNAs encontradas para cada conjunto de entrada, apenas quando foram utilizadas apenas as variáveis da paciente, não foi encontrada nenhuma rede com acurácias superiores à 80% no treinamento e 65% na simulação. Isto pode ter ocorrido devido à maior quantidade de variáveis morfológicas (33 e 20, sem e com colinearidade, respectivamente) e aos 16 parâmetros relacionados à morfocinética, quando comparado ao menor número de variáveis da paciente (apenas 4).

Porém, quando adicionadas às variáveis da paciente as variáveis morfológicas e/ou morfocinéticas, foi possível encontrar pelo menos uma RNA com alta performance (acima de 80% de acurácia no treinamento e acima de 65% na simulação). No item 7.2 do Anexo 1, optamos por apresentar o resultado de apenas uma RNA para cada conjunto, devido ao grande número de resultados gerados. Para o artigo, priorizamos demonstrar os resultados das RNAs cujas entradas referem-se à morfologia, morfocinética e paciente juntas, objetivo principal deste estudo.

Ainda assim, o número de melhores RNAs obtidas variou para cada conjunto de entrada. Neste sentido, foi possível notar que o número de melhores RNAs obtidas para cada conjunto foi menor para os conjuntos isolados e em duplas e maior quando os três conjuntos foram colocados juntos como entradas (Item 7.3, Anexo 1).

3.4 Discussão

Neste trabalho, quando as variáveis de entrada da morfologia, morfocinética e da paciente foram aplicadas em conjunto, as acurácias gerais da melhor RNA para a predição de batimento cardíaco fetal encontrada para o treinamento e a simulação foram 95,2% e 78,4%, respectivamente. Já a melhor RNA encontrada para a predição de nascimento vivo obteve acurácias gerais para o treinamento e para a simulação de 98,0% e 81,1%, respectivamente.

Neste estudo, a morfologia e a morfocinética demonstraram poder de predição no desfecho da reprodução assistida, as quais já foram fortemente relatadas como preditoras do sucesso gestacional (Meseguer *et al.*, 2011; Van

den Abbeel *et al.*, 2013; Zhan *et al.*, 2020; Ferrick *et al.*, 2020). Quando as variáveis da paciente foram aplicadas isoladamente, não foi encontrada nenhuma rede com alta acurácia. O maior número de variáveis associadas à morfologia e à morfocinética pode ter favorecido o aprendizado das RNAs, quando comparado à menor quantidade de variáveis relacionadas com a paciente.

Semelhante às variáveis morfológicas e morfocinéticas avaliadas neste estudo, o uso de sistema time-lapse para a obtenção de imagens de blastocistos, em ciclos de SET (Sciorio *et al.*, 2021), bem como a aquisição de parâmetros morfocinéticos, para comparação com análises morfológicas (Bartolacci *et al.*, 2021) foram realizadas para avaliar se esses parâmetros estão associados à gestação (Sciorio *et al.*, 2021) e nascimentos vivos (Bartolacci *et al.*, 2021). Ambos os estudos demonstraram forte correlação entre a morfologia e a morfocinética associadas ao sucesso gestacional. Diferentemente do presente trabalho, tais estudos não incluíram variáveis relacionadas às pacientes.

Alguns estudos avaliaram apenas características da paciente, como o IMC, afetando o desfecho gestacional (Frankenthal *et al.*, 2019; Na *et al.*, 2018); idade e reserva ovariana, associada a outras variáveis não utilizadas neste trabalho, como a causa da infertilidade feminina e contagem de folículos antrais, as quais demonstraram associação com a gestação (Liao *et al.*, 2019).

Além disso, é crescente o número de estudos que visam aplicar a IA para prever diferentes resultados na reprodução assistida. Por meio de imagens derivadas de microscopia e com o intuito de prever a viabilidade embrionária, Arsalan *et al.* (2022) realizaram a segmentação de imagens de blastocistos por meio de IA (rede de segmentação semântica) para detectar suas partes: zona pelúcida, blastocelo, TE e MCI. Embora tal detecção resulte em algumas partes segmentadas do blastocisto semelhante a este trabalho (identificação da TE e da MCI), os autores utilizaram anotações de embriologistas experientes como exemplo para o modelo de IA, o que torna o método dependente da experiência que o(s) embriologista(s) possui/possuem.

A partir de vídeos de time-lapse, Tran *et al.* (2019) aplicaram um modelo de IA (deep learning), com mais de 8000 imagens de embriões, provenientes de 8 clínicas diferentes e obtiveram uma AUC de 93% para a predição de batimento cardíaco fetal. No entanto, este modelo utilizou todo o vídeo de cada embrião

para obter este grande número de imagens que este modelo de IA exige. Além disso, o modelo não considerou características deste grupo heterogêneo de pacientes.

Xi *et al.* (2021) utilizaram modelo de machine learning para avaliar a gestação após SET e alcançaram uma AUC de 79%. Xi e colaboradores utilizaram diversas variáveis envolvidas no ciclo de reprodução assistida para a aplicação no modelo. Duas destas variáveis, que permaneceram significativas para SET, também foram incluídas no presente estudo: idade da paciente e tentativas anteriores.

Wang *et al.* (2021) aplicaram modelo de deep learning, que utilizou mais de 10000 imagens provenientes de sistema time-lapse e em vários planos focais - ao contrário do presente trabalho -, para a avaliação da qualidade de blastocistos e obtiveram uma acurácia de 91,74% e uma AUC de 93,6%. De maneira semelhante ao que foi realizado neste trabalho, Wang e colaboradores removeram imagens do banco de dados em que o blastocisto estava incompleto ou a imagem estava fora de foco. Entretanto, o modelo desenvolvido foi treinado baseado na classificação de Gardner e Schoolcraft (1999), realizada por embriologistas (dependente da experiência dos mesmos) e levando em consideração somente a morfologia embrionária. Além disso, os dados não foram relacionados com dados de implantação ou nascimento e foram provenientes de apenas um centro de reprodução (Wang *et al.*, 2021).

A partir de um banco de dados público, Goyal *et al.* (2020) aplicaram machine learning e alcançaram uma AUC de 84,60%. Com base em características atribuídas como relevantes para a predição de nascimento vivo, como o número de embriões transferidos e a causa da infertilidade feminina e masculina, Goyal e colaboradores utilizaram características comuns a este estudo e atribuídas à paciente, como a idade, as tentativas anteriores e o número de oócitos. Apesar de terem utilizado uma ordem distinta desta realizada no presente trabalho, Goyal *et al.* (2020) também atribuíram pontuações aos intervalos de idade da paciente. Além disso, o conjunto de dados estava desbalanceado (5 vezes mais amostras negativas do que positivas), os quais foram modificados por meio da retirada de uma parte das amostras negativas, para igualar ambas os conjuntos. Diferentemente do presente trabalho, no qual o desbalanceamento de dados não foi considerado indesejado, optamos por

representar a distribuição realista de amostras positivas e negativas (Kragh e Karstoft, 2021).

Para a obtenção de variáveis morfológicas, as imagens fragmentadas após o recebimento dos vídeos foram pré-selecionadas por um ser humano para o processamento digital e analisadas posteriormente caso a segmentação gerada pelo processamento fosse ineficaz. Portanto, o objetivo não foi propor um método de análise totalmente automatizado para imagens primárias de blastocistos humanos. Diferentemente de alguns trabalhos citados acima, a ausência de variáveis relacionadas ao homem, como a causa da infertilidade masculina utilizada por Goyal *et al.* (2020), a indisponibilidade de outros planos focais da mesma imagem do embrião, ao contrário do que foi utilizado por Wang *et al.* (2021) e os dados relacionados à somente uma clínica, em oposição ao trabalho de Tran *et al.* (2019), podem ser consideradas limitações deste estudo. Este trabalho propõe a utilização da IA a partir de diferentes variáveis que influenciam o sucesso da reprodução assistida.

Que seja de nosso conhecimento, nenhum outro estudo propôs a utilização conjunta da morfologia, da morfocinética e de características da paciente para aplicação em um software de RNAs e AGs. Mais ainda, a metodologia que propomos para a obtenção de variáveis preditivas da qualidade morfológica, por meio do processamento de imagens, é uma proposta original do nosso grupo (Chéles *et al.*, 2022). Dessa forma, as RNAs obtidas neste trabalho apresentam o potencial de serem aplicadas na rotina clínica, com o intuito de auxiliar, de forma objetiva, os embriologistas no momento da seleção embrionária e, potencialmente, melhorar a atual taxa de gestação obtida.

Declaração de disponibilidade de dados

As imagens de blastocisto humanos foram fornecidas pela clínica IVI-RMA (Valencia, Espanha). Qualquer informação adicional não restrita pelo acordo confidencial pode ser fornecida pelos autores mediante solicitação.

Funções dos autores

D.S.C., M.M., L.B., J.C.R. e M.F.G.N. conceberam a ideia e planejaram o estudo. D.S.C., E.I.F., A.S.F. e J.C.R. conduziram os experimentos. D.S.C.,

E.I.F., A.S.F., J.C.R., e M.F.G.N. conduziram a análise e interpretação de todos os experimentos. D.S.C. e M.F.G.N. contribuíram para discussões críticas. D.S.C. escreveu o manuscrito e D.S.C., J.C.R. e M.F.G.N. revisaram o manuscrito.

Financiamento

Este trabalho é apoiado pelos processos nº 2017/19323-5 e nº 2020/07634-9, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). O presente trabalho foi realizado em parte com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Conflito de interesse

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

3.5 Referências

- Arsalan M, Haider A, Choi J, Park KR. Detecting Blastocyst Components by Artificial Intelligence for Human Embryological Analysis to Improve Success Rate of In Vitro Fertilization. *J Pers Med* 2022; **12**: 1-14.
- Atherton TJ, Kerbyson DJ. Size invariant circle detection. *Image Vis Comput* 1999; **17**: 795–803.
- Bartolacci A, Dal Canto M, Guglielmo MC, Mura L, Brigante C, Renzini MM, Buratini J. Early embryo morphokinetics is a better predictor of post-ICSI live birth than embryo morphology: speed is more important than beauty at the cleavage stage. *Zygote* 2021.
- Bormann CL, Thirumalaraju P, Kanakasabapathy MK, Kandula H, Souter I, Dimitriadis I, Gupta R, Pooniwala R, Shafiee H. Consistency and objectivity of automated embryo assessments using deep neural networks. *Fertil Steril* 2020; **113**: 781-787.e1.
- Campbell A. *Time-lapse & embryo aneuploidy – an indirect method to replace PGS?* 2014. CARE Fertility, UK.
- Candemir C. Estimating the Semen Quality from Life-Style Using Fuzzy Radial Basis Functions. *Int J Mach Learn Comput* 2018; **8**: 44-48.
- Chakrabarty ADA, Dubey R. An excursion towards multi-frequency-prediction based flexible asset allocation system. *Glob J Flex Syst Manag* 2015; **16**: 173–190.
- Chawla M, Fakihi M, Shunnar A, Bayram A, Hellani A, Perumal V, Divakaran J, Budak E. Morphokinetic analysis of cleavage stage embryos and its relationship to aneuploidy in a retrospective *time-lapse* imaging study. *J Assist Reprod Genet* 2014; **32**: 69–75.
- Chéles DS, Molin EAD, Rocha JC, Nogueira MFG. Mining of variables from embryo morphokinetics, blastocyst's morphology and patient parameters: an approach to predict the live birth in the assisted reproduction service. *JBRA Assist Reprod* 2020; **24**: 470-479.

Chéles DS, Ferreira AS, Jesus IS, Fernandez EI, Pinheiro GM, Molin EAD, Alves W, Souza RCM, Bori L, Meseguer M, Rocha JC, Nogueira MFG. An image processing protocol to extract variables predictive of human embryo fitness for assisted reproduction. *MedRxiv* [Preprint]. 2022. Available from: medrxiv.org/content/10.1101/2022.02.01.22270264v1

Ciray HN, Campbell A, Agerholm EI, Aguilar J, Chamayou S, Esbert M, Sayed S. Proposed guidelines on the nomenclature and annotation of dynamic human embryo monitoring by a *time-lapse* user group. *Hum Reprod* 2014; **29**: 2650–2660.

De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, Wyns C, Mocanu E, Motrenko T, Scaravelli G, Smeenk J, Vidakovic S, Goossens V. ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE. *Hum Reprod* 2018; **33**: 1586–1601.

Delbaere I, Verbiest S, Tydén T. Knowledge about the impact of age on fertility: a brief review. *Ups J Med Sci* 2020; **125**: 167–174.

Desai N, Ploskonka S, Goodman RL, Austin C, Goldber J, Falcone T. Analysis of embryo morphokinetics, multinucleation and cleavage anomalies using continuous *time-lapse* monitoring in blastocyst transfer cycles. *Reprod Biol Endocrinol* 2014; **12**: 1–10.

Devine K, Connell MT, Richter KS, Ramirez CI, Levens ED, DeCherney AH, Stillman RJ, Widra EA. Single vitrified blastocyst transfer maximizes liveborn children per embryo while minimizing preterm birth. *Fertil Steril* 2015; **103**: 1454–1460.

D'Souza R, Horyn I, Pavalagantharajah S, Zaffar N, Jacob CE. Maternal body mass index and pregnancy outcomes: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol* 2019; **1**: 100041.

Eiben AE, Smith JE. *Introduction to Evolutionary Computing*. 2003, Springer.

Ferrick L, Lee YSL, Gardner DK. Metabolic activity of human blastocysts correlates with their morphokinetics, morphological grade, KIDScore and artificial intelligence ranking. *Hum Reprod* 2020; **35**: 2004–2016.

Fishel S, Campbell A, Montgomery S, Smith R, Nice L, Duffy S, Jenner L, Berrisford K, Kellam L, Smith R, D'cruz I, Beccles A. Live births after embryo selection using morphokinetics versus conventional morphology: a retrospective analysis. *Reprod BioMed Online* 2017; **35**: 407–416.

Frankenthal D, Hirsh-Yechezkel G, Boyko V, Orvieto R, Ron-el R, Lerner-Geva L, Farhi A. The effect of body mass index (BMI) and gestational weight gain on adverse obstetrical outcomes in pregnancies following assisted reproductive technology as compared to spontaneously conceived pregnancies. *Obes Res Clin Pract* 2019; **13**: 150–155.

Friedenthal J, Hernandez-Nieto C, Roth RM, Slifkin R, Gounko D, Lee JA, 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. *J Assist Reprod Genet* 2021; **38**: 1647-1653.

Gardner D, Schoolcraft W. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999; **11**: 307-311.

Girela JL, Gil D, Johnsson M, Gomez-Torres MJ, De Juan J. Semen parameters can be predicted from environmental factors and lifestyle using artificial intelligence methods. *Biol Reprod* 2013; **88**: 99.

Goyal A, Kuchana M, Ayyagari KPR. Machine learning predicts live-birth occurrence before in-vitro fertilization treatment. *Sci Rep* 2020; **10**: 20925.

Greener JG, Kandathil SM, Moffat L, Jones DT. A guide to machine learning for biologists. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2022; **23**: 40-55.

Haralick RM, Shanmugam K, Dinstein I. Textural Features for Image Classification. *IEEE Trans Syst Man Cybern* 1973; 610-621.

Haykin S. *Redes Neurais: princípios e prática*. 2ª ed, 2001. Bookman, Porto Alegre, RS, Brasil.

Hsu MI, Wang CW, Chen CH, Tzeng CR. Impact of the number of retrieved oocytes on pregnancy outcome in in vitro fertilization. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2016; **55**: 821–825.

Hu L, Du J, Lv H, Zhao J, Chen M, Wang Y, Wu F, Liu F, Chen X, Zhang J, Ma H, Jin G, Shen H, Chen L, Ling X, Hu Z. Influencing factors of pregnancy loss and survival probability of clinical pregnancies conceived through assisted reproductive technology. *Reprod Biol Endocrinol* 2018; **16**: 1–12.

Kalpana R, Chitra M, Vijayalakshmi K. Pattern classification of EEG signals on different states of cognition using linear and nonlinear classifiers. *Res J Appl Sci* 2015; **11**: 623-629.

Kragh MF, Karstoft H. Embryo selection with artificial intelligence: how to evaluate and compare methods? *J Assist Reprod Genet* 2021; **7**: 1675-1689.

Kriesel D. *A Brief Introduction to Neural Networks*. 2005, Retrieved August, p. 244.

Kulp SA, Strauss BH. Coastal DEM: A global coastal digital elevation model improved from SRTM using a neural network. *Remote Sens Environ* 2018; **206**: 231–239.

Liao S, Xiong J, Tu H, Hu C, Pan W, Geng Y, Pan W, Lu T, Jin L. Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds combined with female age, female cause of infertility, and ovarian response in a prospective cohort of 8269 women. *Medicine* 2019; **98**: e17470.

Matos FD, Rocha JC, Nogueira MFG. A method using artificial neural networks to morphologically assess mouse blastocyst quality. *J Anim Sci Technol* 2014; **56**: 15.

Meseguer M, Herrero J, Tejera A, Hilligsoe KM, Ramsing NB, Remohi J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Hum Reprod* 2011; **26**: 2658–2671.

Milachich T, Shterev, A. Are there optimal numbers of oocytes, spermatozoa and embryos in assisted reproduction? *JBRA Assist Reprod* 2016; **20**: 142–149.

Milewski R, Kuczynska A, Stankiewicz B, Kuczynski W. How much information about embryo implantation potential is included in morphokinetic data? A prediction model based on artificial neural networks and principal component analysis. *Adv Med Sci* 2017; **62**: 202–206.

Minasi MG, Greco P, Varricchio MT, Barillari P, Greco E. The clinical use of *time-lapse* in human-assisted reproduction. *Ther Adv Reprod Health* 2020; **14**: 2633494120976921.

Mitchell M. An introduction to genetic algorithms. *Comput Math Appl* 1996; **32**: 133.

Na L, Chen Y, Zhai H, Liao A, Huang D. Effects of maternal body mass index on pregnancy outcome after 8570 artificial insemination cycles with donor's sperm. *Gynecol Endocrinol* 2018; **34**: 1068–1072.

Nelson SM, Lawlor DA. Predicting live birth, preterm delivery, and low birth weight in infants born from in vitro fertilisation: a prospective study of 144,018 treatment cycles. *PLoS Med* 2011; **8**.

Nogueira MFG, Guilherme BV, Pronunciate M, Dos Santos PH, Da Silva DLB, Rocha JC. Artificial Intelligence-Based Grading Quality of Bovine Blastocyst Digital Images: Direct Capture with Juxtaposed Lenses of Smartphone Camera and Stereomicroscope Ocular Lens. *Sensors (Basel)* 2018; **18**: 4440.

Nuttall FQ. Body mass index: Obesity, BMI, and health: A critical review. *Nutr Today* 2015; **50**: 117–128.

Purewal S, Chapman SCE, van deen Akker OBA. A systematic review and meta-analysis of lifestyle and body mass index predictors of successful assisted reproductive technologies. *J Psychosom Obstet Gynecol* 2019; **40**: 2–18.

Qiu M, Tao Y, Kuang Y, Wang Y. Effect of body mass index on pregnancy outcomes with the freeze-all strategy in women with polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril* 2019; **112**: 1172–1179.

Rocha JC, Passalia F, Matos FD, Maserati MP Jr, Alves MF, Almeida TG, Cardoso BL, Basso AC, Nogueira MFG. Methods for assessing the quality of mammalian embryos: How far we are from the gold standard? *JBRA Assist Reprod* 2016; **20**: 150-158.

Rocha JC, Passalia FJ, Matos FD, Takahashi MB, Maserati MP, Alves MF, De Almeida TG, Cardoso BL, Basso AC, Nogueira MFG. Data Descriptor:

Automatized image processing of bovine blastocysts produced in vitro for quantitative variable determination. *Sci Data* 2017a; **4** : 1–9.

Rocha JC, Passalia FJ, Matos FD, Takahashi MB, Cinciato DDS, Maserati MP, Alves MF, De Almeida TG, Cardoso BL, Basso AC, Nogueira MFG. A Method Based on Artificial Intelligence To Fully Automatize The Evaluation of Bovine Blastocyst Images. *Sci Rep* 2017b; **7**: 1-10.

Rocha JC, Nogueira MFG, 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? *Fertil Steril* 2018; **110**: e373.

Sahoo AJ, Kumar Y. Seminal quality prediction using data mining methods. *Technol Health Care* 2014; **22**: 531-545.

Santos Filho E, Noble JA, Poli M, Griffiths T, Emerson G, Wells D. A method for semi-automatic grading of human blastocyst microscope images. *Hum Reprod* 2012; **27**: 2641-2648.

Sciorio R, Thong KJ, Pickering SJ. Spontaneous blastocyst collapse as an embryo marker of low pregnancy outcome: A *Time-lapse* study. *JBRA Assist Reprod* 2020; **24**: 34–40.

Sciorio R, Thong D, Thong KJ, Pickering SJ. Clinical pregnancy is significantly associated with the blastocyst width and area: a *time-lapse* study. *J Assist Reprod Genet* 2021; **38**: 847-855.

Shaik NB, Pedapati SR, Ammar Taqvi SA, Othman AR, Abd Dzubir FA. A feed-forward back propagation neural network approach to predict the life condition of crude oil pipeline. *Processes* 2020; **8**.

Silva IN, Spatti DH, Flauzino RA. *Redes neurais artificiais: para engenharia e ciências aplicadas*. 2010, Artliber, São Paulo.

Singh A, Au J, Saeedi P, Havelock J. Automatic segmentation of trophectoderm in microscopic images of human blastocysts. *IEEE Trans Biomed Eng* 2015; **62**: 382-393.

Storr A, Venetis CA, Cooke S, Kilani S, Ledger W. Inter-observer and intra-observer agreement between embryologists during selection of a single Day 5 embryo for transfer: a multicenter study. *Hum Reprod* 2017; **32**: 307-314.

Supramanian PR, Granne I, Ohuma EO, Lim LN, Mcveigh E, Venkatakrishnan R, Becker CM, Mittal M. ICSI does not improve reproductive outcomes in autologous ovarian response cycles with non-male factor subfertility. *Hum Reprod* 2020; **35**: 583–594.

Tan TY, Lau MSK, Loh SF, Tan HH. Female ageing and reproductive outcome in assisted reproduction cycles. *Singapore Med J* 2014; **55**: 305–309.

Tiitinen A. Single embryo transfer: Why and how to identify the embryo with the best developmental potential. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2019; **33**: 77–88.

Tran D, Cooke S, Illingworth PJ, Gardner DK. Deep learning as a predictive tool for fetal heart pregnancy following time-lapse incubation and blastocyst transfer. *Hum Reprod* 2019; **34**: 1011-1018.

Vaegter KK, Lakic TG, Olovsson M, Berglund L, Brodin T, Holte J. Which factors are most predictive for live birth after in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) treatments? Analysis of 100 prospectively recorded variables in 8,400 IVF/ICSI single-embryo transfers. *Fertil Steril* 2017; **107**: 641-648.

Van den Abbeel E, Balaban B, Ziebe S, Lundin K, Cuesta MJG, Klein BM, Helmgaard L, Arce J. Association between blastocyst morphology and outcome of single blastocyst transfer. *Reprod Biomed Online* 2013; **27**: 353–361.

VerMilyea M, Hall JMM, Diakiw SM, Johnston A, Nguyen T, Perugini D, Miller A, Picou A, Murphy AP, Perugini M. Development of an artificial intelligence-based assessment model for prediction of embryo viability using static images captured by optical light microscopy during IVF. *Hum Reprod* 2020; **35**: 770-784.

Vogiatzi P, Pouliakis A, Siristatidis C. An artificial neural network for the prediction of assisted reproduction outcome. *J Assist Reprod Genet* 2019; **36**: 1441-1448.

Xi Q, Yang Q, Wang M, Huang B, Zhang B, Li Z, Liu S, Yang L, Zhu L, Jin L. Individualized embryo selection strategy developed by stacking machine learning model for better in vitro fertilization outcomes: an application study. *Reprod Biol Endocrinol* 2021; **19**.

Xiong F, Sun Q, Li G, Yao Z, Chen P, Wan C, Zhong H, Zeng Y. Association between the number of top-quality blastocysts and live births after single blastocyst transfer in the first fresh or vitrified-warmed IVF/ICSI cycle. *Reprod Biomed Online* 2020; **40**: 530-537.

Walczak S, Cerpa N. Heuristic principles for the design of artificial neural networks. *Inf Softw Technol* 1999; **41**: 107–117.

Wang S, Zhou C, Zhang D, Chen L, Sun H. A Deep Learning Framework Design for Automatic Blastocyst Evaluation With Multifocal Images. *IEEE Access* 2021; **9**: 18927-18934.

Wolff MV, Schwartz AK, Bitterlich N, Stute P, Fäh M. Only women's age and the duration of infertility are the prognostic factors for the success rate of natural cycle IVF. *Arch Gynecol Obstet* 2019; **299**: 883-889.

Zaninovic N, Rocha JC, Zhan Q, Toschi M, Malmsten J, Nogueira MFG, 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. *Fertil Steril* 2018; **110**: e372-e373.

Zaninovic N, Elemento O, Rosenwaks Z. Artificial intelligence: its applications in reproductive medicine and the assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 2019; **112**: 28–30.

Zhan Q, Sierra ET, Malmsten J, Ye Z, Rosenwaks Z, Zaninovic N. Blastocyst score, a blastocyst quality ranking tool, is a predictor of blastocyst ploidy and implantation potential. *F S Rep* 2020; **1**: 133-141.

Zhou, H.; Zhang, D.; Luo, Z.; Yang, A.; Cui, N.; Hao, G.; Wang, W. Association between Body Mass Index and Reproductive Outcome in Women with Polycystic Ovary Syndrome Receiving IVF/ICSI-ET. *BioMed Res Int* 2020; **6434080**: 1-7.

4 Conclusão

Este trabalho é resultado da colaboração científica entre os Profs. Marcelo Nogueira e José Celso Rocha, os quais já detêm considerável conhecimento nos princípios de processamento digital de imagens de embriões murinos e bovinos e em técnicas de IA preditivas da qualidade embrionária (Matos *et al.*, 2014; Rocha *et al.*, 2016; Rocha *et al.*, 2017a e Rocha *et al.*, 2017b).

Desde 2017, o grupo de trabalho formado a partir da colaboração científica entre os Professores Nogueira e Rocha, passou a se dedicar ao estudo de embriões humanos, por meio de parcerias com clínicas de reprodução assistida: Boston Place Clinic (Reino Unido), Weill Cornell Medicine (Estados Unidos) e IVI Valencia (Espanha) e, mais recentemente, Huntington Medicina Reprodutiva (Brasil). Estas parcerias resultaram em alguns resumos já publicados para a espécie humana (Rocha *et al.*, 2018; Zaninovic *et al.*, 2018; Alegre *et al.*, 2020; Valera *et al.*, 2020; Lorenzon *et al.*, 2021).

Inicialmente, o estudo de embriões humanos foi focado em adaptar o processamento de imagens de blastocistos bovinos (Rocha *et al.*, 2017b) para o blastocisto humano. Neste sentido, a aplicação de IA em imagens de blastocistos foi relacionada à predição inicial da qualidade embrionária. Conforme as parcerias científicas foram sendo realizadas, mais informações acerca dos embriões e das pacientes foram obtidas. Assim, a predição foi se ampliando para mais desfechos reprodutivos, como o batimento cardíaco fetal e o nascimento vivo. Dessa forma, o grupo de trabalho formado pelos profs. Nogueira e Rocha, pela mestranda Dóris Spinosa Chéles (formada em Ciências Biológicas), uma biomédica e por outros alunos da Engenharia Biotecnológica/UNESP Assis, obteve considerável experiência a partir do estudo de outras espécies, até o foco alcançar a espécie humana.

Com base no trabalho de Chéles *et al.* (2022), é possível notar a complexidade da adaptação do processamento digital de imagens de blastocistos que o grupo de trabalho alcançou. Aplicando as variáveis preditivas da qualidade morfológica, junto das variáveis morfocinéticas e das pacientes, foi possível obter RNAs que apresentam poder preditivo do sucesso gestacional e do nascimento vivo. A considerável experiência do grupo na avaliação de embriões de mamíferos mediante IA, somados aos resultados obtidos neste

trabalho, geram confiança para transpassar do campo *in silico* (laboratorial) em direção à prática clínica na reprodução assistida.

5 Perspectivas Futuras

Este é um trabalho de natureza retrospectiva, realizado com base em planilha recebida por uma clínica na qual tivemos acesso aos resultados de batimento cardíaco fetal e nascimento vivo, para o treinamento de aprendizado supervisionado de RNAs.

A próxima etapa seria a aplicação destas RNAs obtidas em uma interface de fácil acesso aos embriologistas, como por exemplo, na forma de um Graphical User Interface (GUI), já realizado para a espécie bovina (Rocha *et al.*, 2017a). Esta aplicação seria o início de testes prospectivos, em que as RNAs seriam validadas prospectivamente por meio de dados obtidos na clínica e que ainda não houvessem o resultado de gestação/nascimento. Como os dados utilizados neste trabalho são provenientes da IVI, esta interface seria customizada somente para esta clínica. No cronograma inicial do projeto, estava prevista uma Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior para a IVI, a ser realizada pela aluna nos últimos meses de mestrado, entretanto, a pandemia inviabilizou a viagem.

Ainda assim, a parceria mais recente com a clínica Huntington (São Paulo), possibilitou que o início de testes prospectivos fossem possíveis dentro do atual cenário do país e do mundo. A aluna e o prof. J. C. Rocha estiveram na clínica para a instalação do GUI. Dessa forma, esta é uma etapa de suma importância para validar o poder preditivo da IA e conseguir transpassar do campo laboratorial para a prática clínica na reprodução assistida.

6 Atividades Acadêmicas desenvolvidas pela Aluna

1. a) Apresentação oral do trabalho intitulado “Prediction of fetal heartbeat through artificial intelligence and morphological, morphokinetics and patient variables” no 25º Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida (CBRA) e 15º Red Latinoamericana de Reproducción Asistida (REDLARA), Rio de Janeiro, Brasil;

b) Premiação em 2º Lugar (Prêmio Selmo Geber) das melhores apresentações orais do 25º CBRA e 15º REDLARA;

c) Publicação de resumo do mesmo trabalho na revista JBRA Assisted Reproduction (doi: 10.5935/1518-0557.20210106).

2. Monitoria no Curso de Férias “Biodiversidade em Endemias, Epidemias e Pandemias”, como parte das atividades do Programa Difundindo e Popularizando a Ciência na UNESP: Interação entre Pós-Graduação e Ensino Básico, realizado virtualmente no Instituto de Biociências da UNESP (Botucatu, SP) e vinculado à Rede Nacional Leopoldo de Meis de Educação e Ciência: Novos Talentos da Rede Pública (RNEC).

3. a) Participou como ouvinte do X Simpósio de Farmacologia e Biotecnologia da UNESP (Botucatu, SP);

b) Participou como ouvinte do 4º Congresso Internacional Huntington de Medicina Reprodutiva;

c) Participou como ouvinte do Curso de Summit Meeting In Assisted Reproduction.

4. a) Preparação e ministração de uma aula sobre “Reprodução humana assistida e Inteligência artificial” durante a disciplina de Biotecnologia Animal, para o curso de graduação em Engenharia Biotecnológica (UNESP, Assis, SP);

b) Preparação e ministração de uma aula sobre “Reprodução humana assistida e Inteligência artificial” durante a disciplina de Aplicações da Biotecnologia na Reprodução e Produção Animal, para o curso de graduação em Ciências Biológicas (UNESP, Assis, SP).

5. Visita técnica ao Laboratório de Embriologia da clínica Huntington Medicina Reprodutiva – Unidade Ibirapuera a fim de auxiliar na implementação de um software de inteligência artificial.
6. Participação como primeira autora do artigo “Mining of variables from embryo morphokinetics, blastocyst’s morphology and patient parameters: an approach to predict the live birth in the assisted reproduction service” publicado na revista JBRA Assisted Reproduction (doi: 10.5935/1518-0557.20200014).
7. Participação como coautora do artigo “Artificial intelligence in the IVF laboratory: overview through the application of different types of algorithms for the classification of reproductive data” publicado na revista Journal of Assisted Reproduction and Genetics (doi: 10.1007/s10815-020-01881-9).
8. Participação como coautora do manuscrito “Modulating the lipid profile of blastocyst cell membrane with DPPC multilamellar vesicles” submetido para publicação para a revista Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology.
9. Participação como primeira autora do artigo “An image processing protocol to extract variables predictive of human embryo fitness for assisted reproduction” publicado como pré-print no repositório MedRxiv e para submissão na revista Applied Sciences.
10. Elaboração de um manuscrito baseado nos resultados obtidos durante o mestrado para submissão na revista Human Reproduction.

7 ANEXO 1

7.1 Variáveis com colinearidade

Nesta seção, estão descritas as 20 variáveis extraídas automaticamente no processamento digital de imagens (com colinearidade):

1. Similaridades de textura na MCI e blastocelo

Representa a dependência linear dos níveis de cinza.

2. Uniformidade da distribuição de níveis de cinza na MCI e blastocelo

Representa a uniformidade da distribuição dos níveis de cinza através da soma dos elementos da GLCM ao quadrado.

3. Variação de textura na TE

Representa as diferenças de nível de cinza de textura na TE. Reflete a nitidez da imagem e a profundidade dos sulcos. Sulcos mais profundos estão relacionados a maior variação e nitidez.

4. Similaridades de textura na TE

Representa a dependência linear dos níveis de cinza.

5. Proximidade da escala de cinza com a diagonal da GLCM na TE

Representa a distribuição dos elementos da GLCM de acordo com os valores de referência da sua diagonal.

6. Similaridades de textura na MCI

Representa a dependência linear dos níveis de cinza.

7. Uniformidade da distribuição dos níveis de cinza na MCI

Representa a uniformidade da distribuição dos níveis de cinza através da soma dos elementos da GLCM ao quadrado.

8. Soma da imagem binária do blastocisto

O limiar da imagem é dado pela soma da imagem binária dividida pela área do blastocisto isolado calculada a partir do raio.

9. Média do nível de cinza na MCI e blastocele

Representa a intensidade média do pixel (valor do nível de cinza) na imagem segmentada da MCI e blastocele.

10. Valor modal na MCI e blastocele

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

11. Região mais escura na MCI e blastocele

Área mais escura na imagem segmentada da MCI e blastocele.

12. Desvio padrão do nível de cinza na MCI e blastocele

Representa o desvio padrão da intensidade do pixel na imagem segmentada da MCI e blastocele.

13. Luminosidade média na MCI e blastocele

Todos os pixels com intensidade luminosa maior que 10 e menor que 10 da intensidade média são contados, e esse valor é então dividido pela área total do blastocisto.

14. Valor modal na TE

Representa o valor de intensidade de luz mais frequente na imagem segmentada da TE.

15. Região mais escura na TE

Área mais escura na imagem segmentada da TE.

16. Desvio padrão do nível de cinza na TE

Representa o desvio padrão da intensidade do pixel na imagem segmentada da TE.

17. Luminosidade média na TE

Todos os pixels com intensidade luminosa maior que 10 e menor que 10 da intensidade média são contados na imagem segmentada da TE, e esse valor é então dividido pela área total do blastocisto.

18. Descritor local de textura na EX

Descritor de padrão de textura usado para descrever os padrões de textura local na EX. O algoritmo extrai informações sobre a textura local estabelecendo um limiar para “n” vizinhos em relação ao valor do pixel central. O resultado é um número binário entre 0 e 255.

19. Descritor local de textura na MCI

Descritor de padrão de textura usado para descrever os padrões de textura local na MCI. O algoritmo extrai informações sobre a textura local estabelecendo um limiar para “n” vizinhos em relação ao valor do pixel central. O resultado é um número binário entre 0 e 255.

20. Descritor local de textura na TE

Descritor de padrão de textura usado para descrever os padrões de textura local na TE. O algoritmo extrai informações sobre a textura local estabelecendo um limiar para “n” vizinhos em relação ao valor do pixel central. O resultado é um número binário entre 0 e 255.

7.2 Resultados gerados pelas RNAs

Nesta seção, encontram-se os resultados gerados por todas as combinações de conjuntos de entradas para as RNAs (morfologia sem colinearidade; morfocinética; paciente; morfologia sem colinearidade e morfocinética; morfologia sem colinearidade e paciente; morfocinética e paciente; morfologia com colinearidade; morfologia com colinearidade e morfocinética; morfologia com colinearidade e paciente; morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente). Os resultados podem ser observados por meio da matriz de confusão, curva Receiver Operating Characteristic (ROC) e Area Under the Curve (AUC).

Predição de batimento cardíaco fetal

Morfologia (Sem Colinearidade)

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	47 39.2%	7 5.8%	87.0% 13.0%
	2	3 2.5%	63 52.5%	95.5% 4.5%
		94.0% 6.0%	90.0% 10.0%	91.7% 8.3%
		Classe alvo		

Figura 1 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 33 variáveis de entrada da morfologia sem colinearidade referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

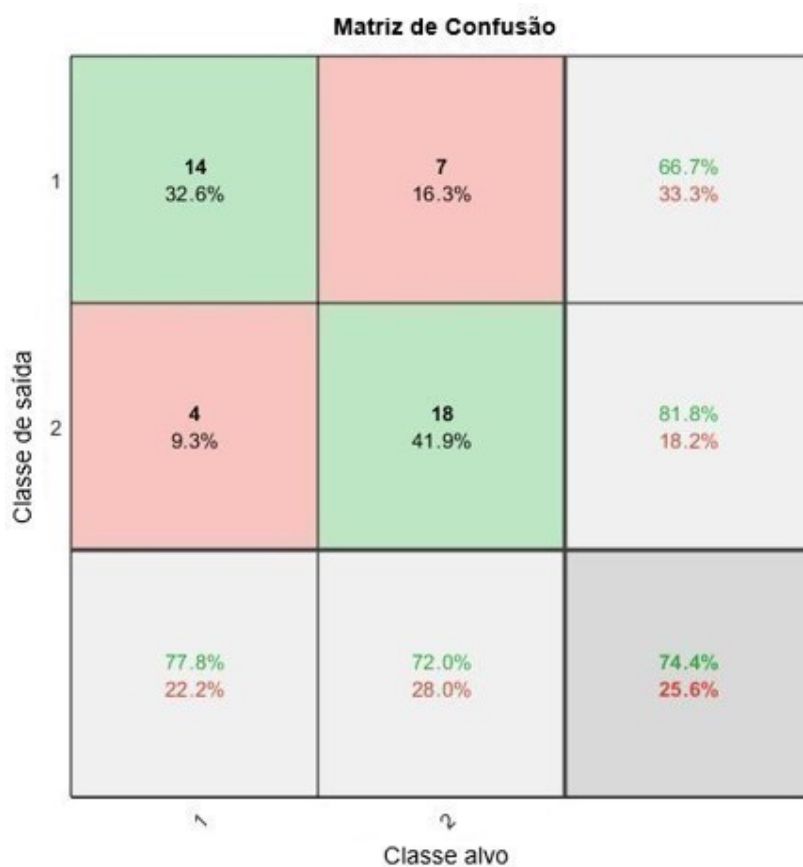


Figura 2 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 33 variáveis de entrada da morfologia sem colinearidade referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

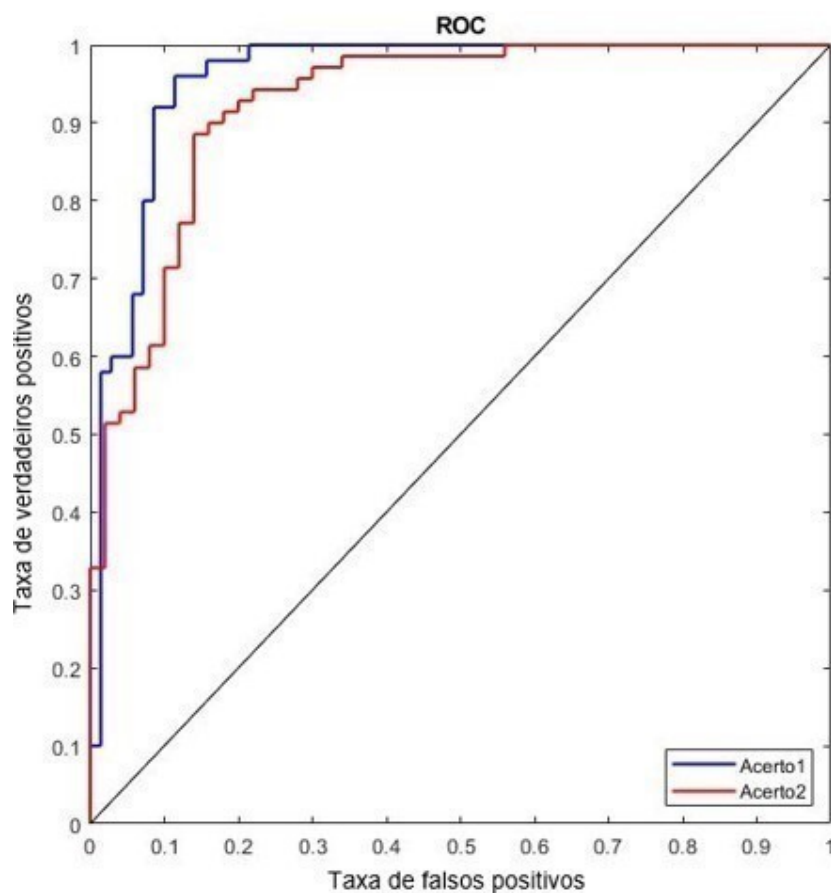


Figura 3 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 33 variáveis de entrada da morfologia sem colinearidade referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

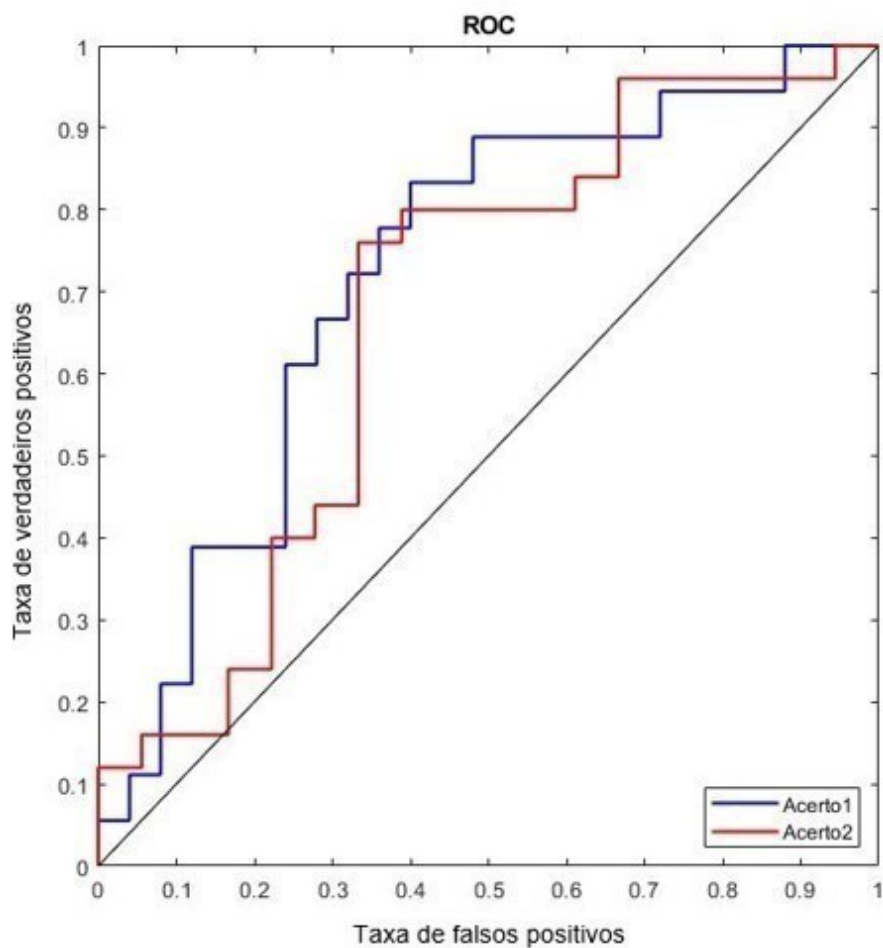


Figura 4 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 33 variáveis de entrada da morfologia sem colinearidade referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 1 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 33 variáveis de entrada referente à morfologia sem colinearidade para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia Sem Colinearidade (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	95,7%
AUC 2 Treinamento	92,5%
AUC 1 Simulação	72,4%
AUC 2 Simulação	67,3%

Morfocinética

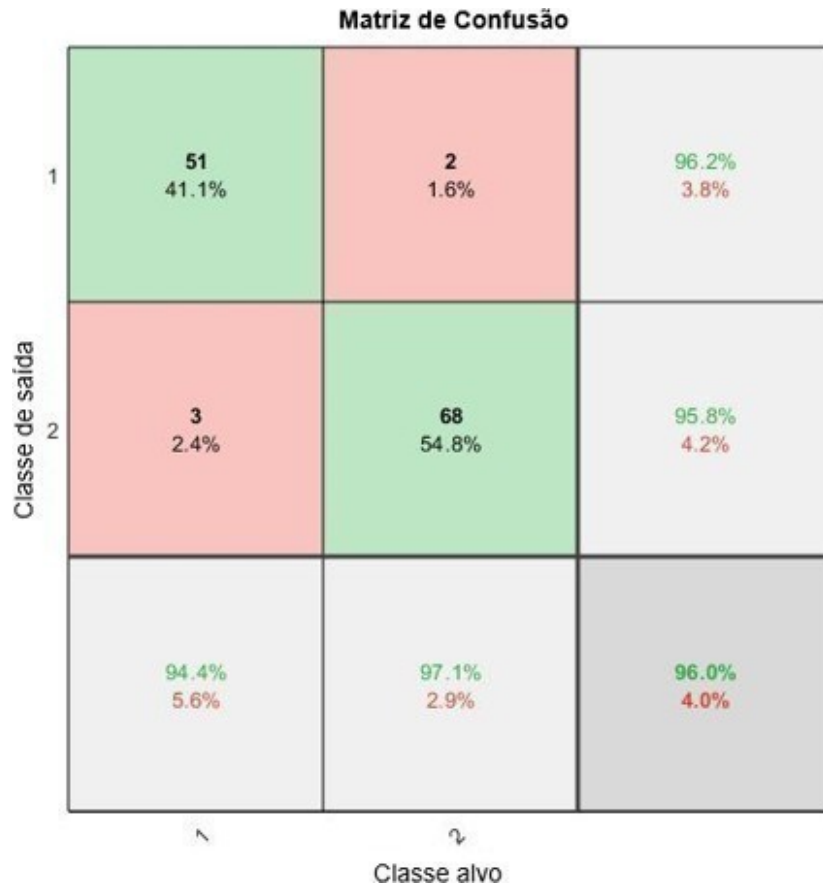


Figura 5 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 16 variáveis de entrada da morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

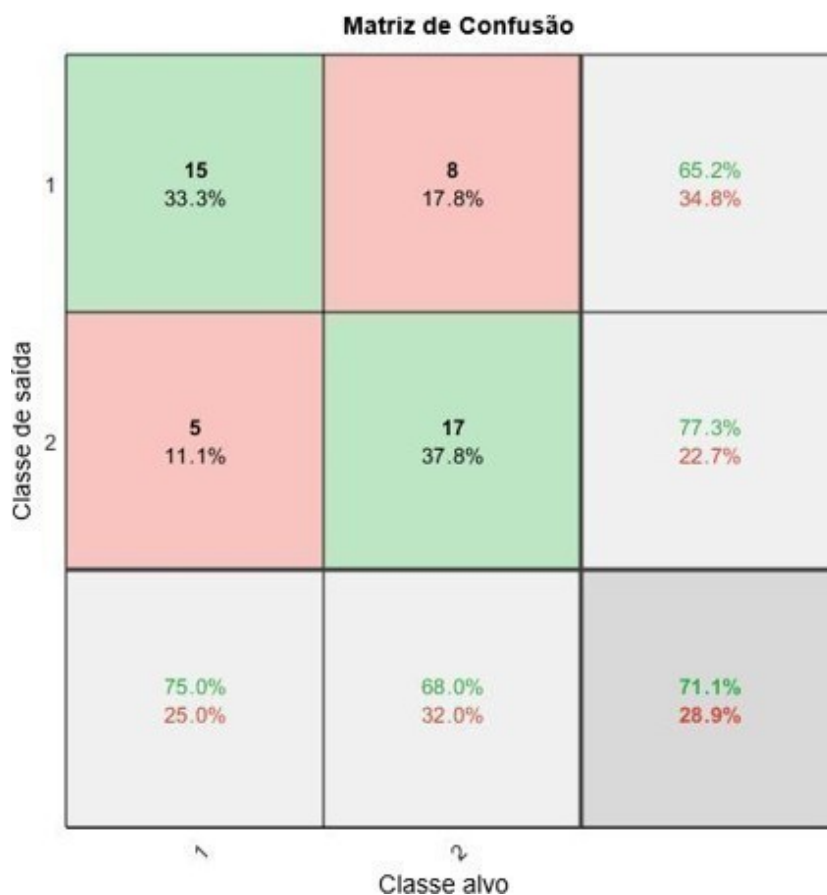


Figura 6 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 16 variáveis de entrada da morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

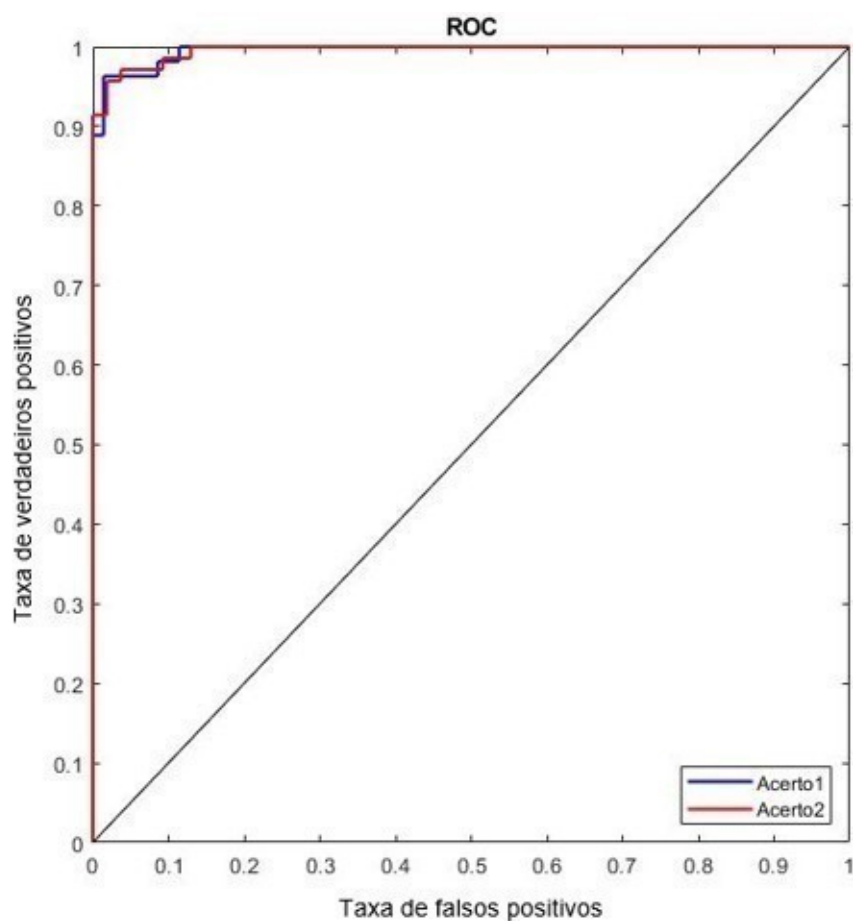


Figura 7 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 16 variáveis de entrada da morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

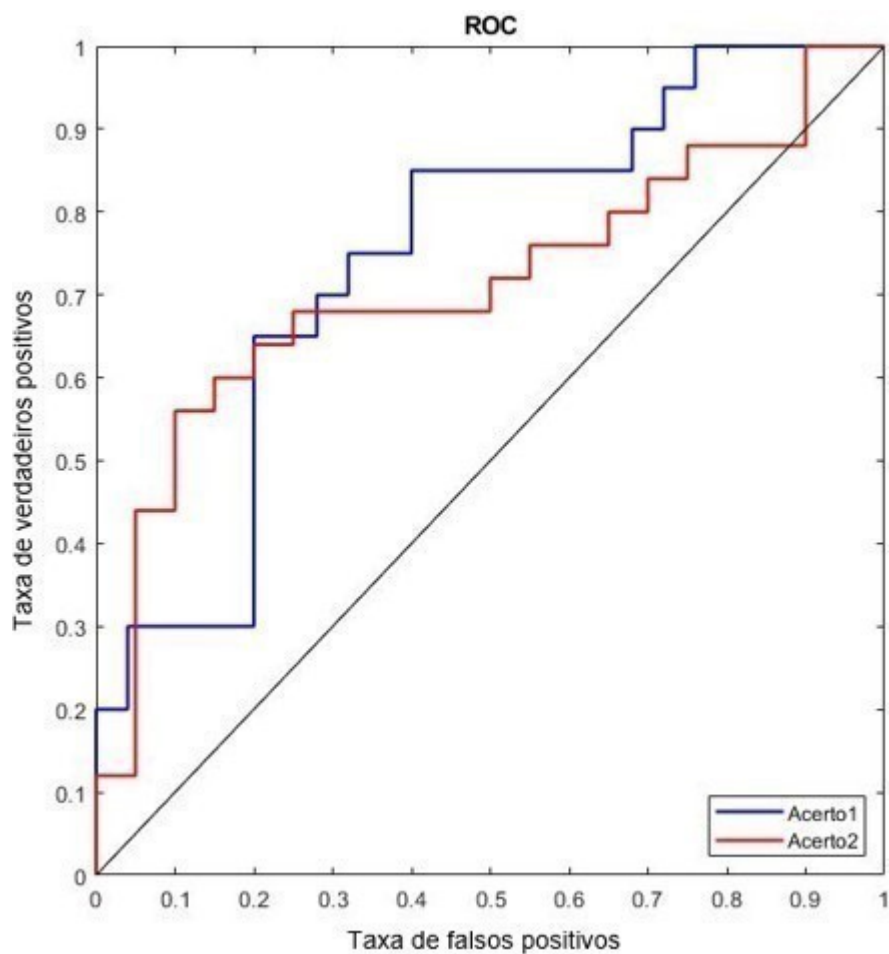


Figura 8 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 16 variáveis de entrada da morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 2 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 16 variáveis de entrada referente à morfocinética para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfocinética (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	99,5%
AUC 2 Treinamento	99,6%
AUC 1 Simulação	74,8%
AUC 2 Simulação	71,4%

Paciente

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	33 21.9%	22 14.6%	60.0% 40.0%
	2	29 19.2%	67 44.4%	69.8% 30.2%
		53.2% 46.8%	75.3% 24.7%	66.2% 33.8%
		Classe alvo		

Figura 9 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 4 variáveis de entrada da paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

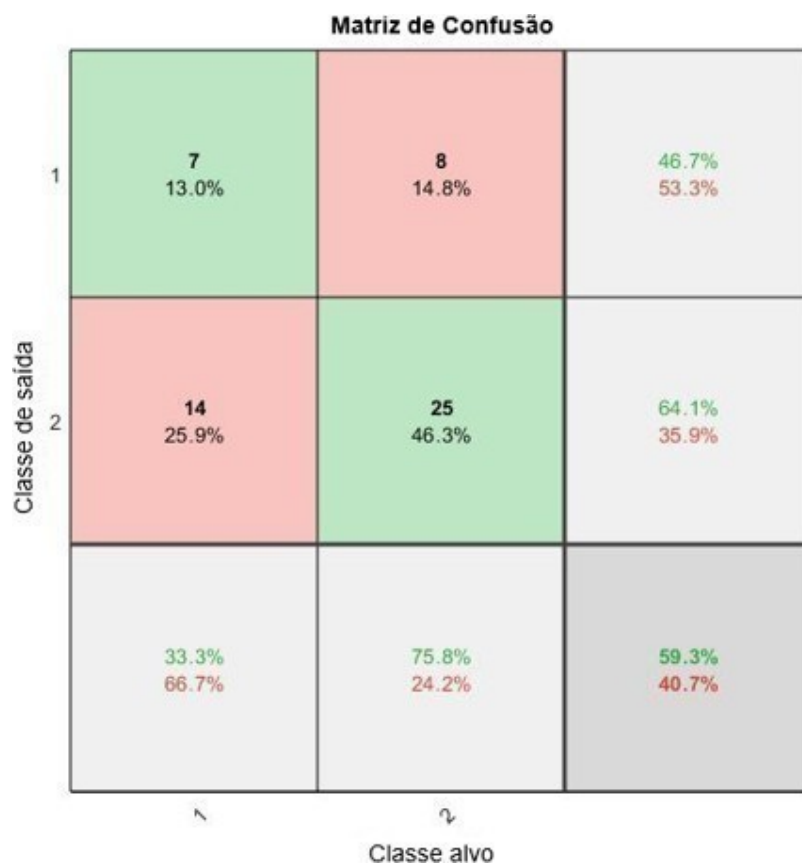


Figura 10 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 4 variáveis de entrada da paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

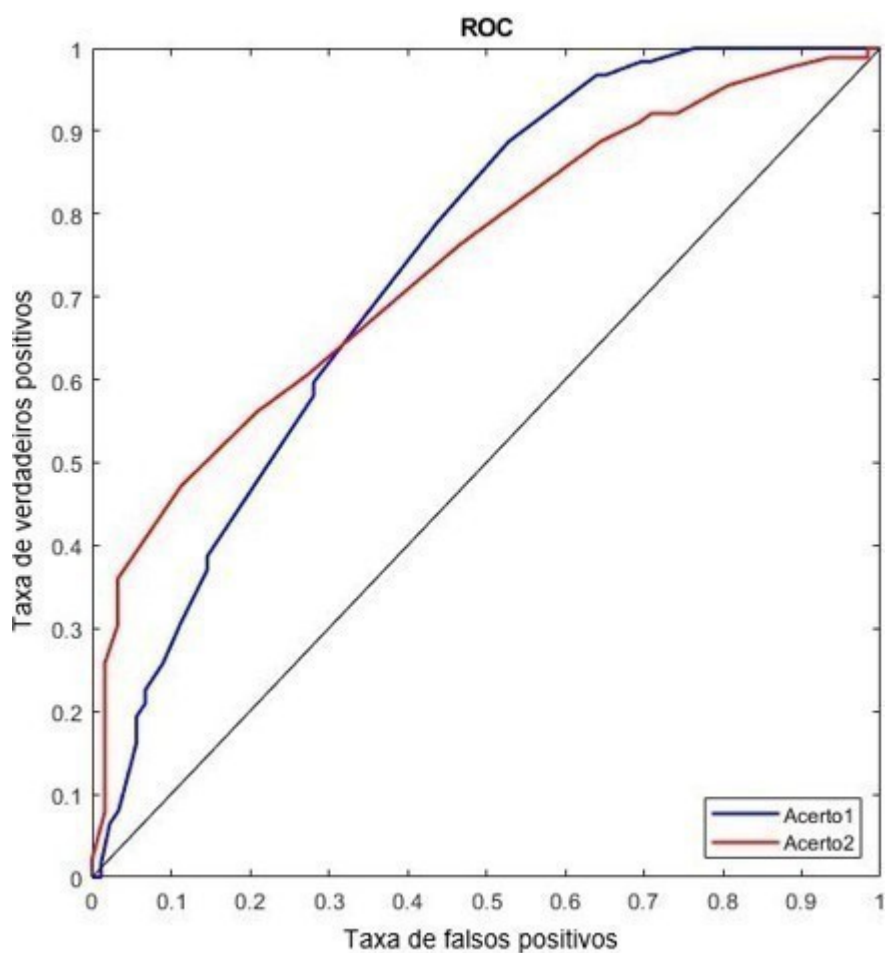


Figura 11 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 4 variáveis de entrada da paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

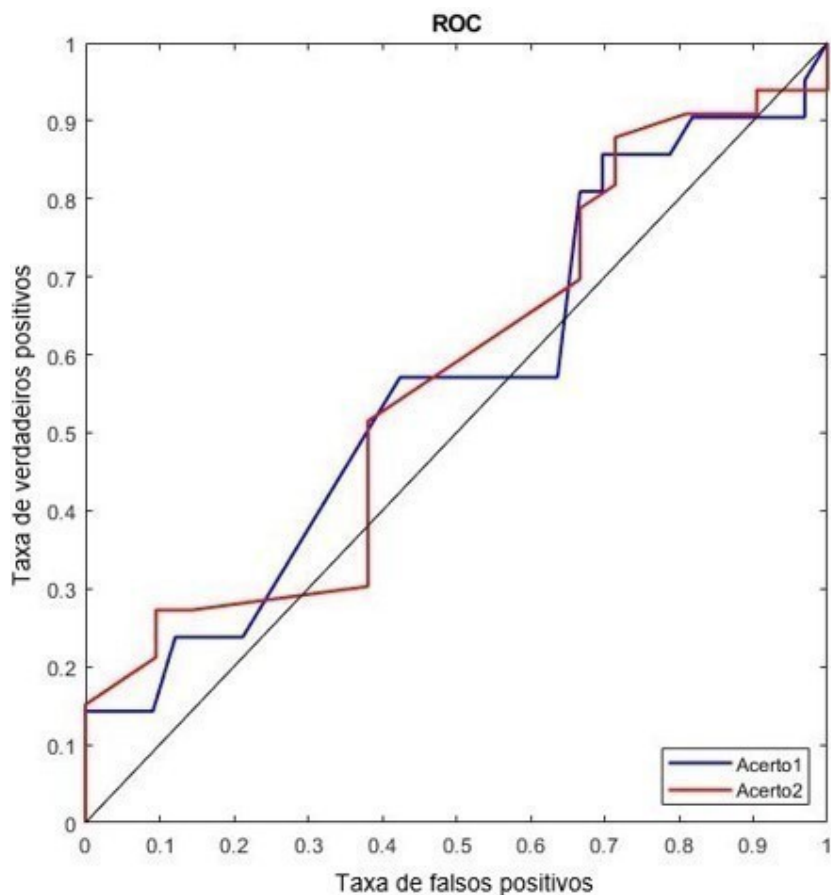


Figura 12 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 4 variáveis de entrada da paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 3 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 4 variáveis de entrada referente à paciente para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Paciente (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	74,1%
AUC 2 Treinamento	74,4%
AUC 1 Simulação	56,4%
AUC 2 Simulação	57,1%

Morfologia (Sem Colinearidade) e Morfocinética

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	40 39.2%	1 1.0%	97.6% 2.4%
	2	4 3.9%	57 55.9%	93.4% 6.6%
		90.9% 9.1%	98.3% 1.7%	95.1% 4.9%
		Classe alvo		

Figura 13 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 49 variáveis de entrada da morfologia (sem colinearidade) e morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

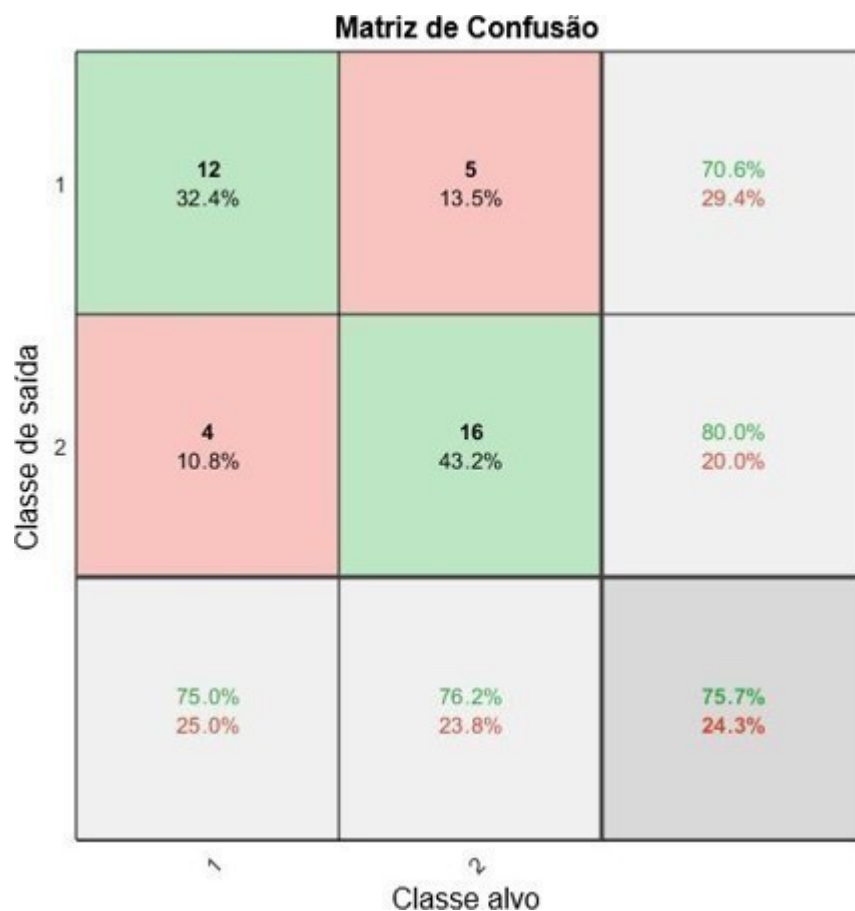


Figura 14 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 49 variáveis de entrada da morfologia (sem colinearidade) e morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

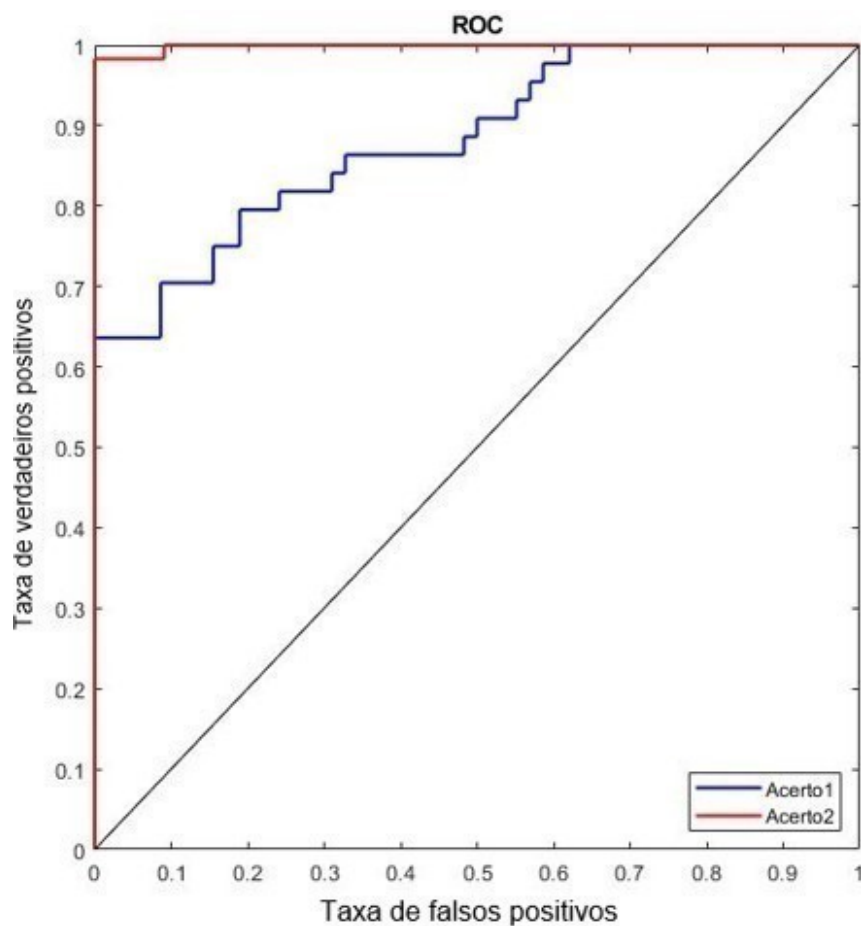


Figura 15 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 49 variáveis de entrada da morfologia (sem colinearidade) e morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal. Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1); Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

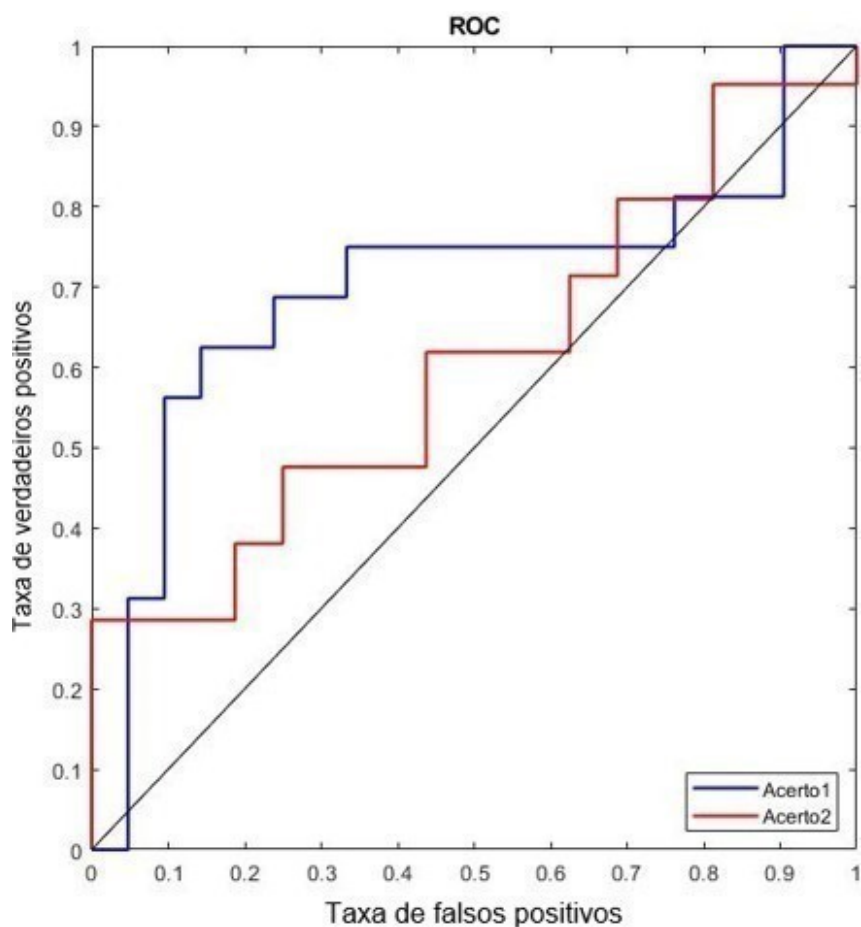


Figura 16 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 49 variáveis de entrada da morfologia (sem colinearidade) e morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 4 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 49 variáveis de entrada referente à morfologia (sem colinearidade) e morfocinética para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia (Sem Colinearidade) e Morfocinética (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	88,3%
AUC 2 Treinamento	99,8%
AUC 1 Simulação	69,9%
AUC 2 Simulação	60,7%

Morfologia (Sem Colinearidade) e Paciente

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	47 39.8%	1 0.8%	97.9% 2.1%
	2	1 0.8%	69 58.5%	98.6% 1.4%
		97.9% 2.1%	98.6% 1.4%	98.3% 1.7%
		Classe alvo		

Figura 17 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 37 variáveis de entrada da morfologia (sem colinearidade) e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

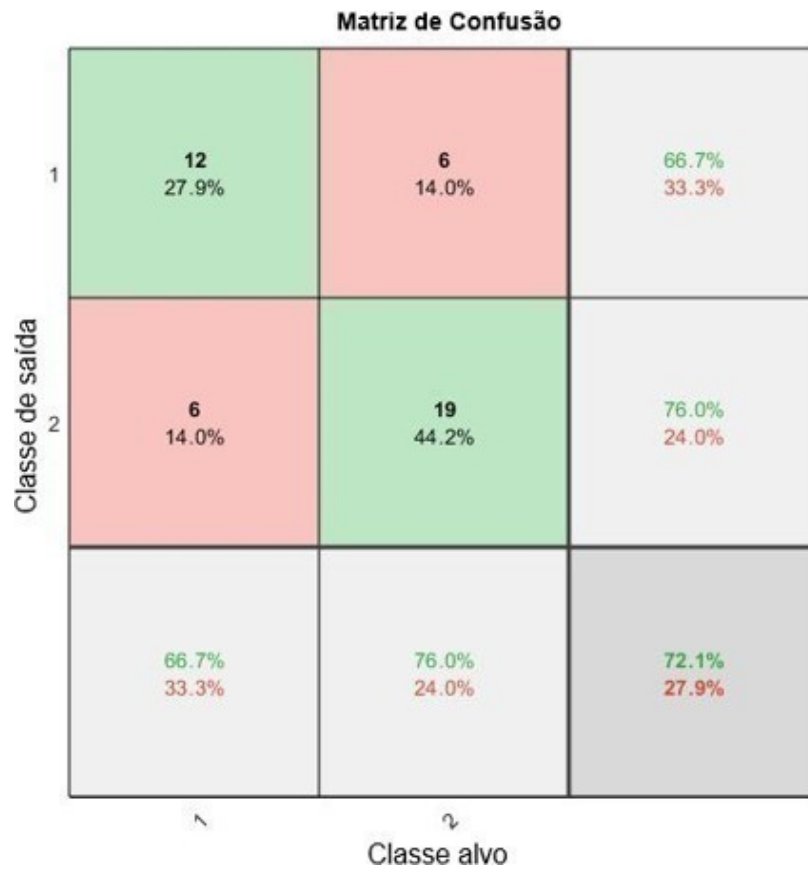


Figura 18 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 37 variáveis de entrada da morfologia (sem colinearidade) e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

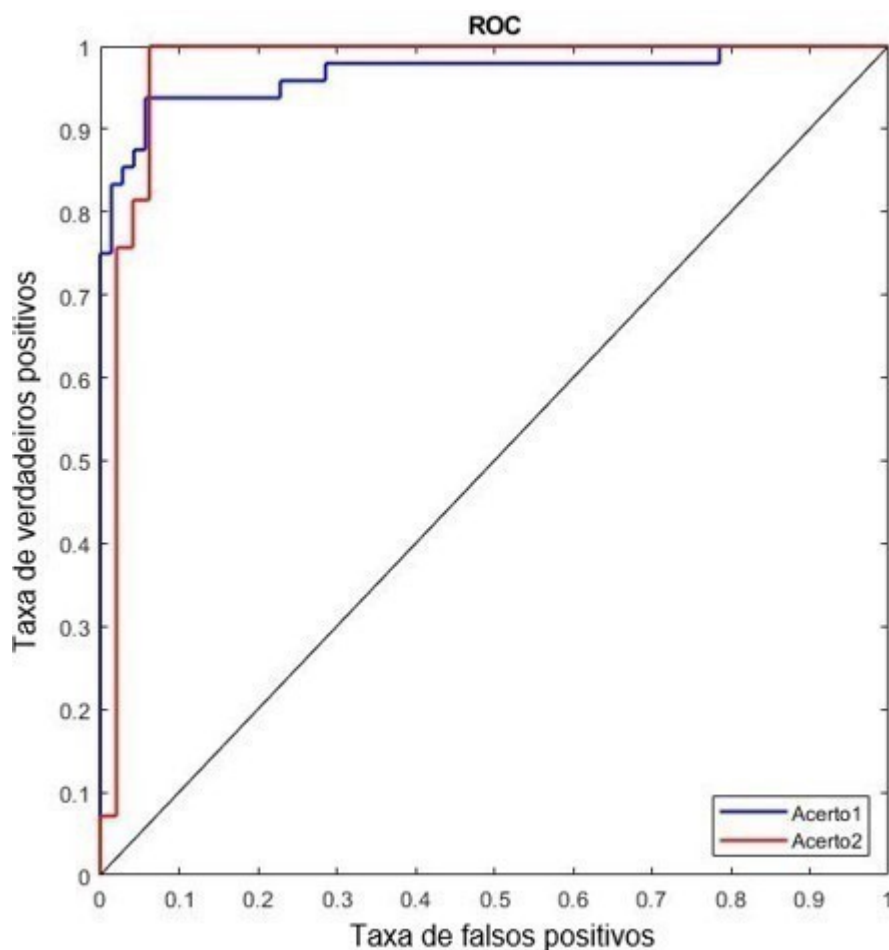


Figura 19 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 37 variáveis de entrada da morfologia (sem colinearidade) e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

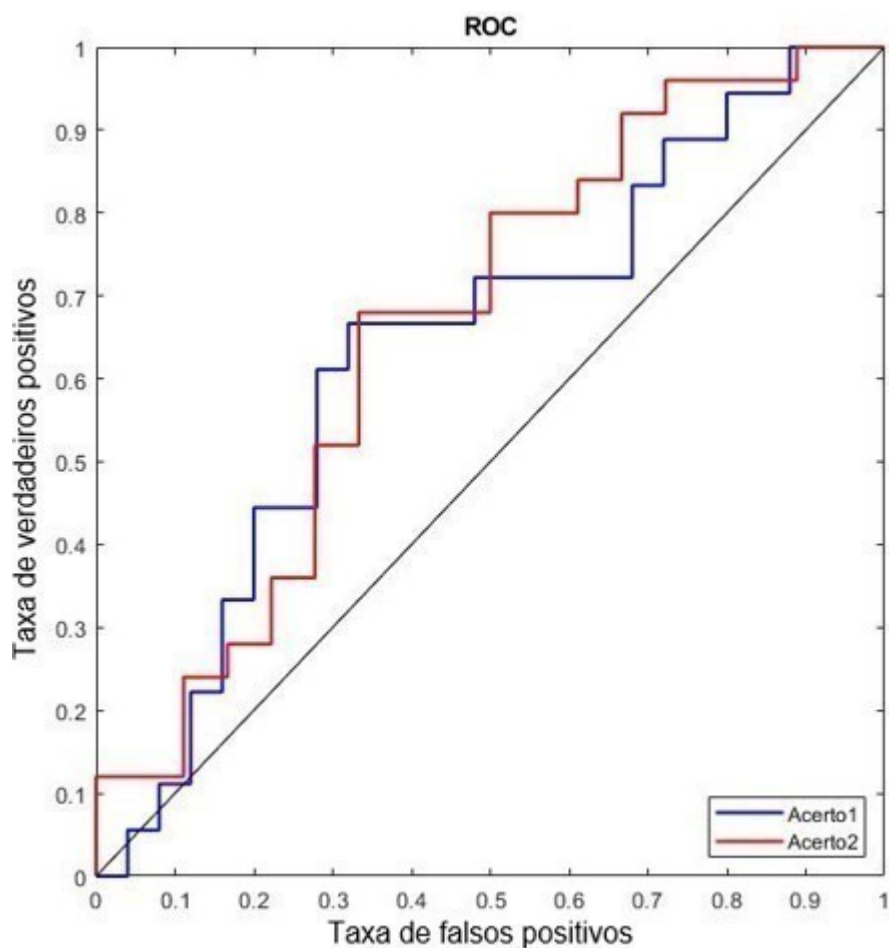


Figura 20 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 37 variáveis de entrada da morfologia (sem colinearidade) e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 5 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 37 variáveis de entrada referente à morfologia (sem colinearidade) e paciente para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia (Sem Colinearidade) e Paciente (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	96,7%
AUC 2 Treinamento	97,2%
AUC 1 Simulação	64,0%
AUC 2 Simulação	66,2%

Morfocinética e Paciente

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	50 40.3%	4 3.2%	92.6% 7.4%
	2	4 3.2%	66 53.2%	94.3% 5.7%
		92.6% 7.4%	94.3% 5.7%	93.5% 6.5%
		Classe alvo		

1 2

Figura 21 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 20 variáveis de entrada da morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

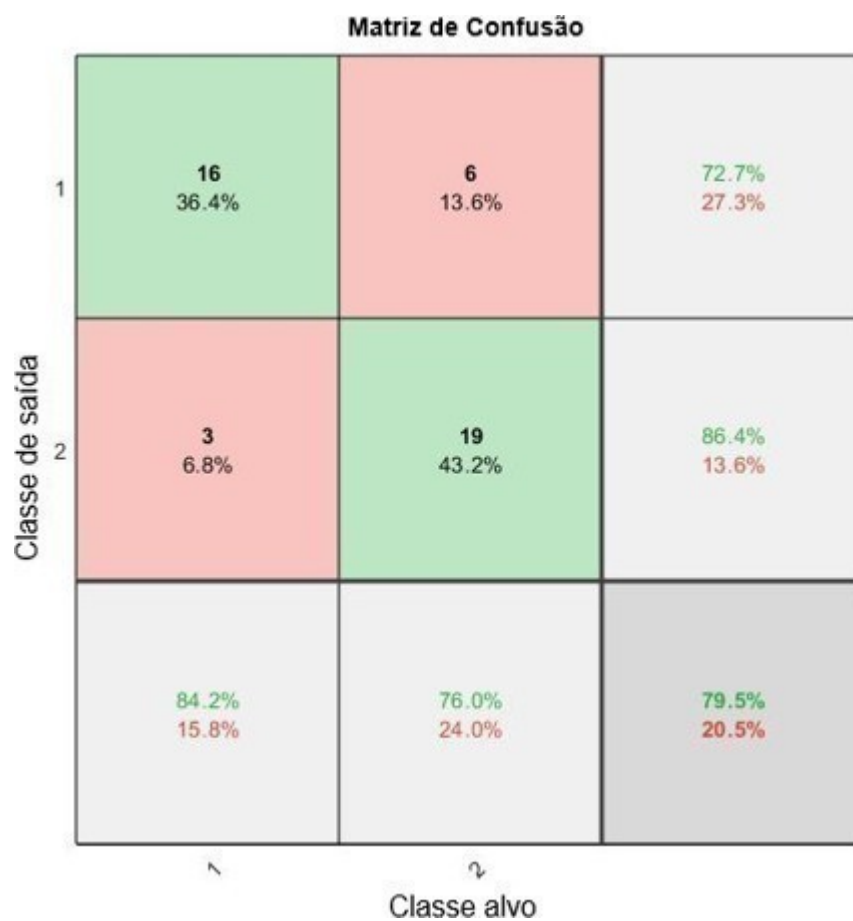


Figura 22 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 20 variáveis de entrada da morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

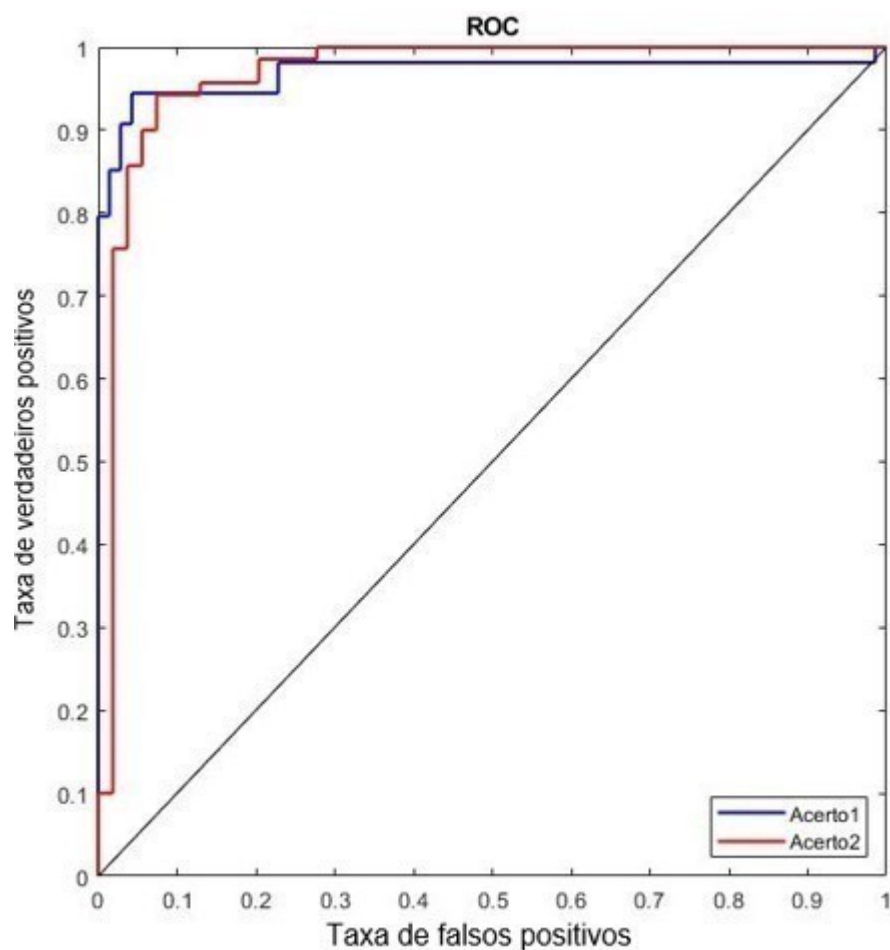


Figura 23 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 20 variáveis de entrada da morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

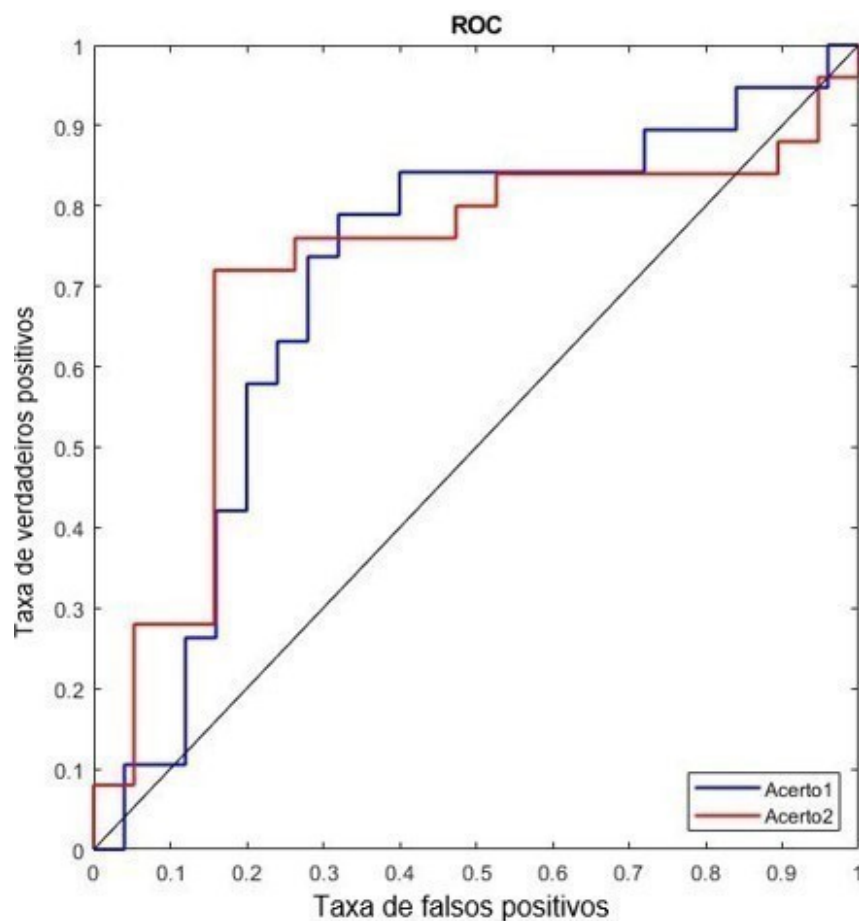


Figura 24 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 20 variáveis de entrada da morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 6 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 20 variáveis de entrada referente à morfocinética e paciente para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfocinética e Paciente (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	96,9%
AUC 2 Treinamento	96,7%
AUC 1 Simulação	70,7%
AUC 2 Simulação	71,8%

Morfologia Com Colinearidade

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	48 40.0%	6 5.0%	88.9% 11.1%
	2	2 1.7%	64 53.3%	97.0% 3.0%
		96.0% 4.0%	91.4% 8.6%	93.3% 6.7%
		1	2	Classe alvo

Figura 25 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 20 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

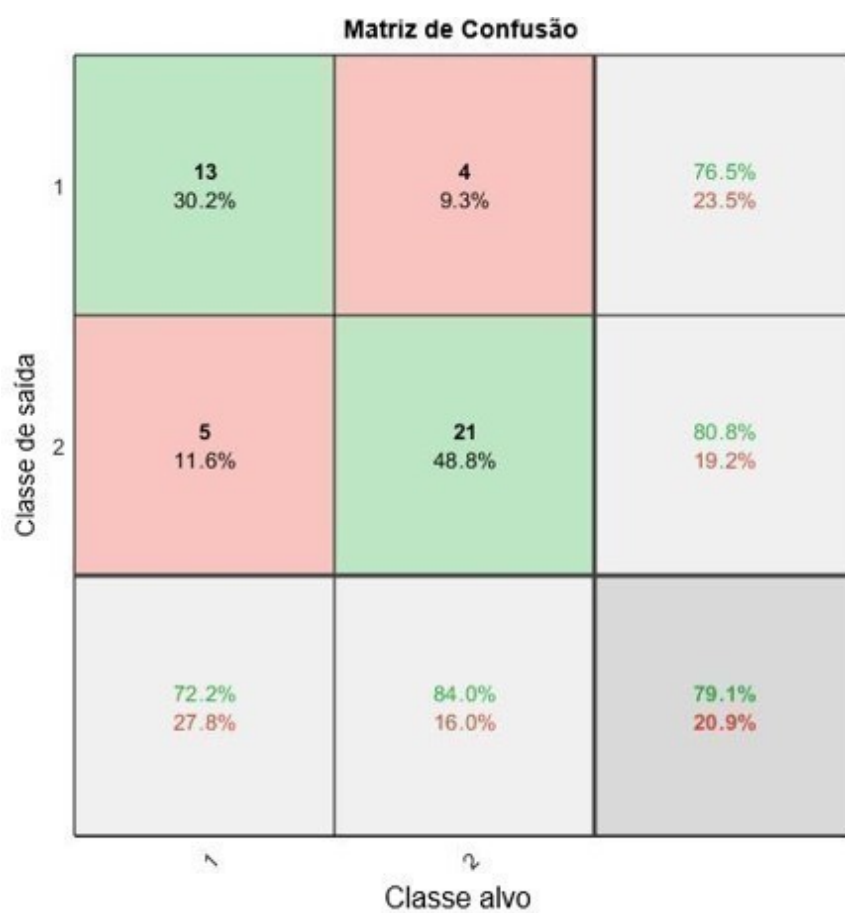


Figura 26 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 20 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

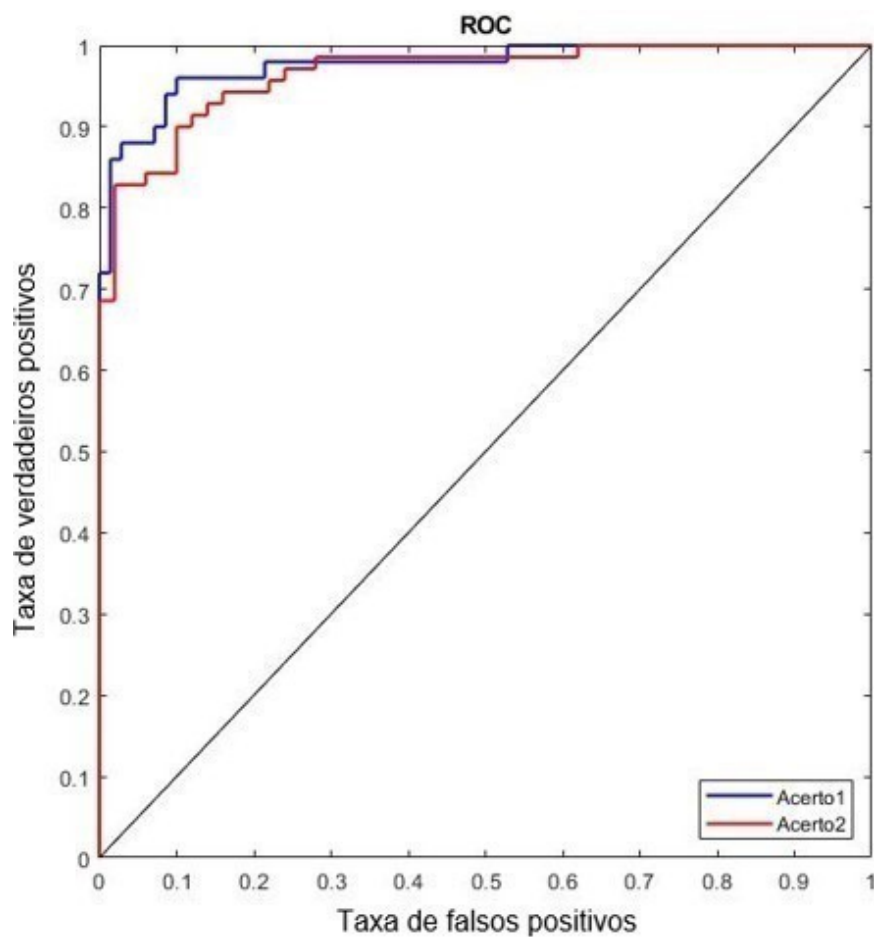


Figura 27 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 20 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

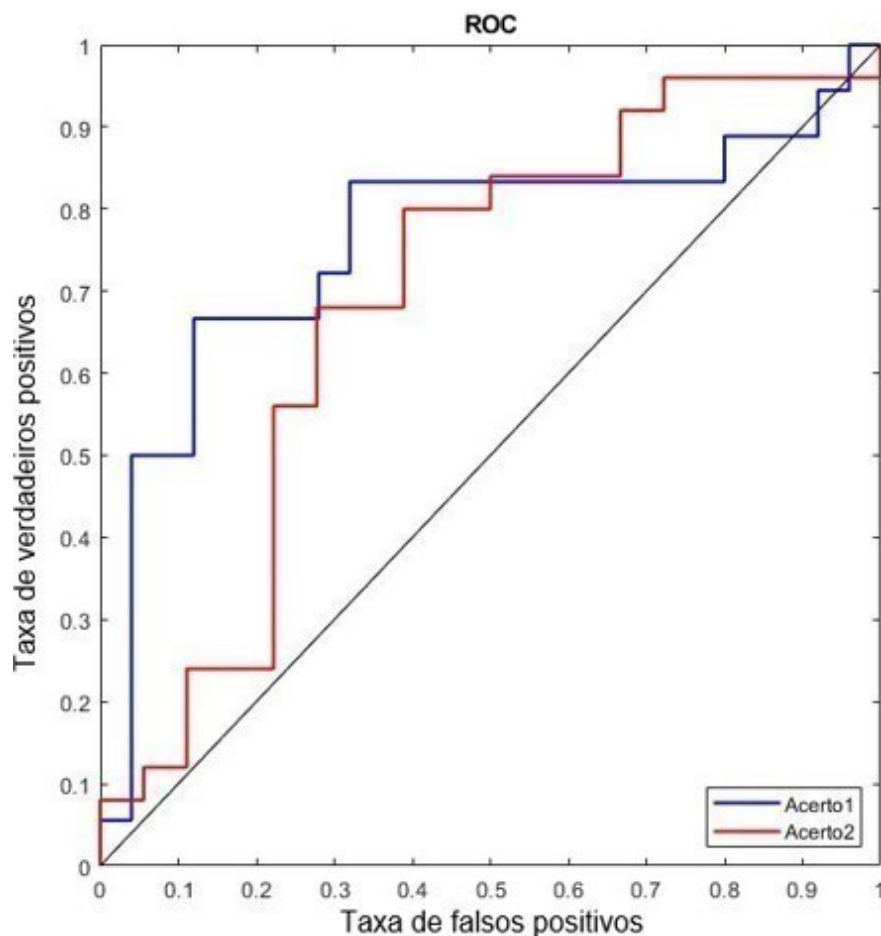


Figura 28 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 20 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 7 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 20 variáveis de entrada referente à morfologia com colinearidade para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para a ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia Com Colinearidade (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	97,6%
AUC 2 Treinamento	96,5%
AUC 1 Simulação	76,2%
AUC 2 Simulação	69,1%

Morfologia (Com Colinearidade) e Morfocinética

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	42 41.2%	3 2.9%	93.3% 6.7%
	2	2 2.0%	55 53.9%	96.5% 3.5%
		95.5% 4.5%	94.8% 5.2%	95.1% 4.9%
		Classe alvo		

Figura 29 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 36 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade e morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

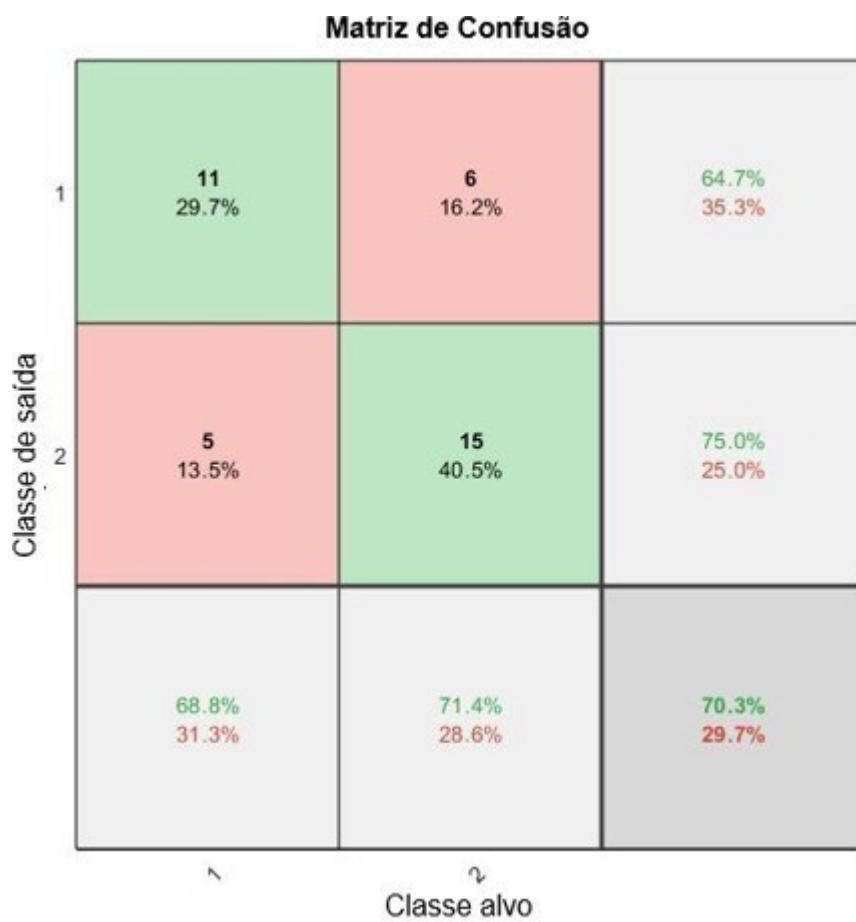


Figura 30 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 36 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade e morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

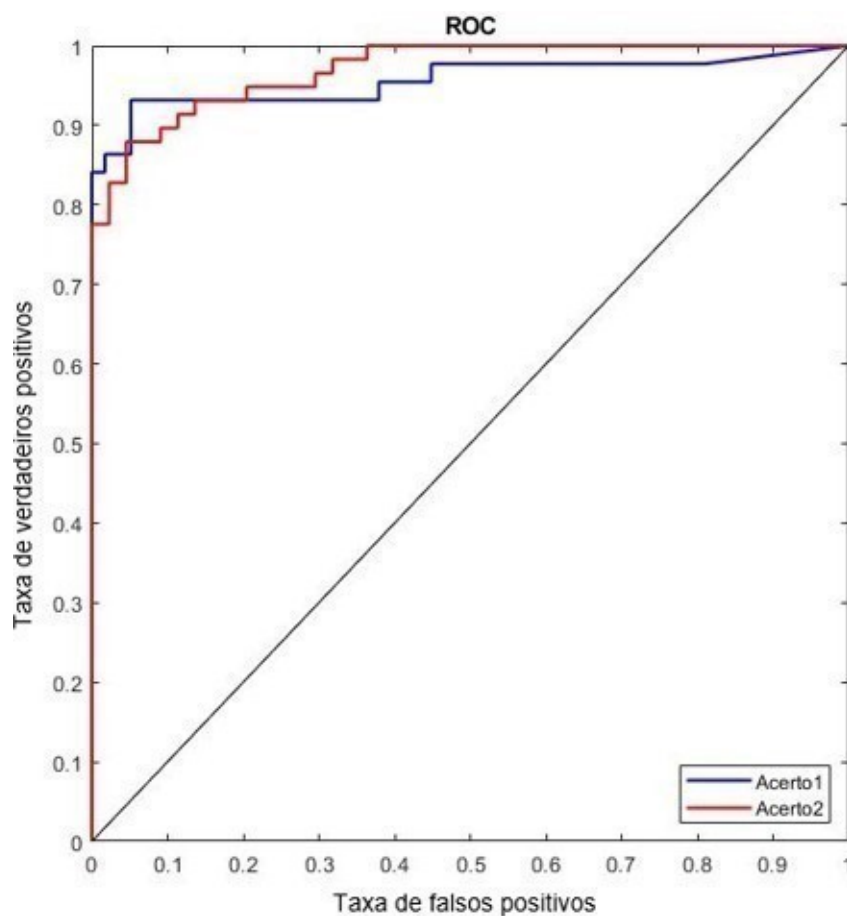


Figura 31 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 36 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade e morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

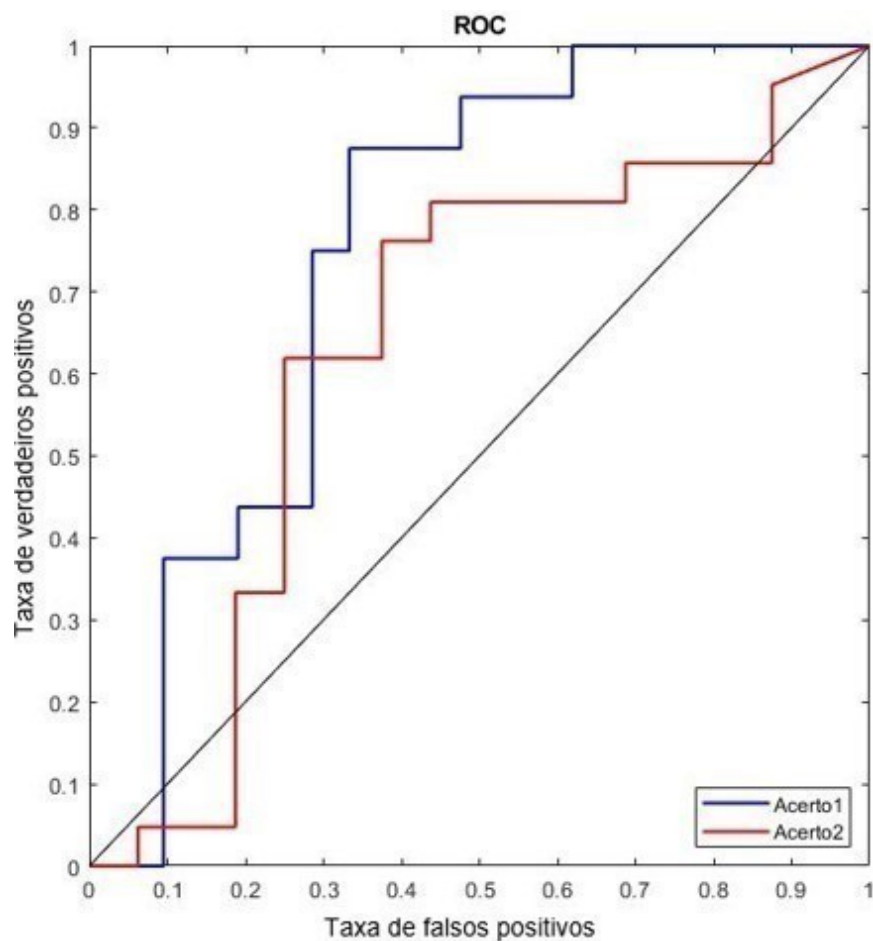


Figura 32 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 36 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade e morfocinética referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 8 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 36 variáveis de entrada referente à morfologia com colinearidade e morfocinética para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia Com Colinearidade e Morfocinética (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	95,7%
AUC 2 Treinamento	97,0%
AUC 1 Simulação	75,3%
AUC 2 Simulação	63,7%

Morfologia (Com Colinearidade) e Paciente

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	45 38.1%	5 4.2%	90.0% 10.0%
	2	3 2.5%	65 55.1%	95.6% 4.4%
		93.8% 6.3%	92.9% 7.1%	93.2% 6.8%
		Classe alvo		

Figura 33 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 24 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

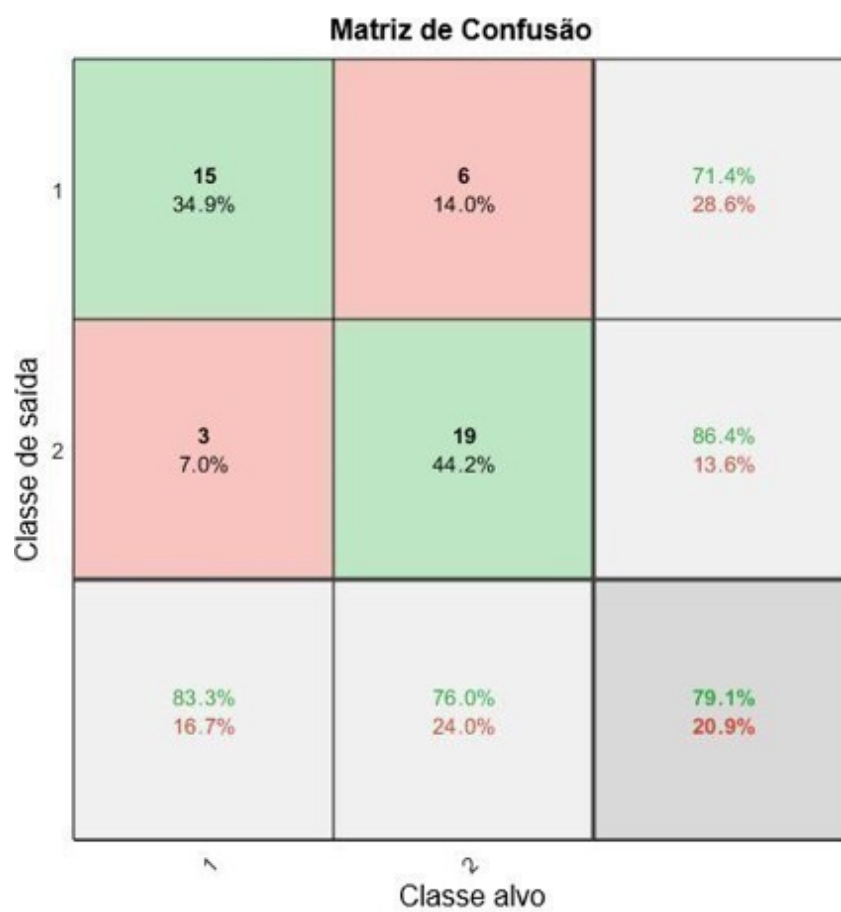


Figura 34 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 24 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

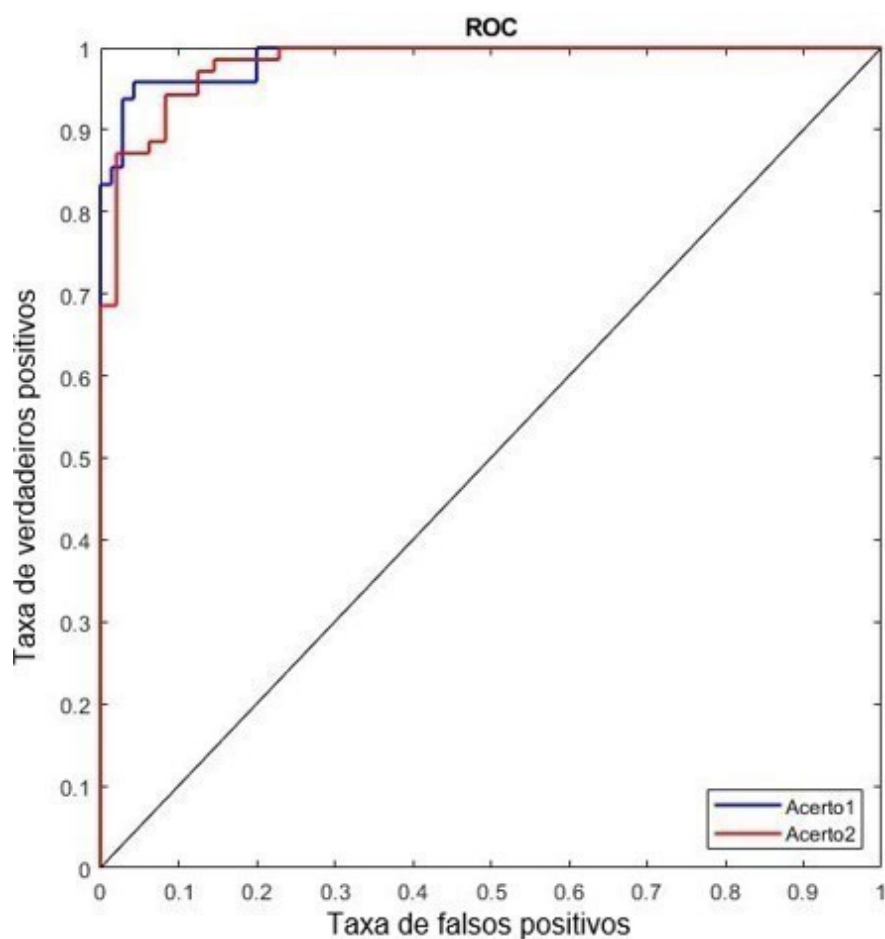


Figura 35 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 24 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

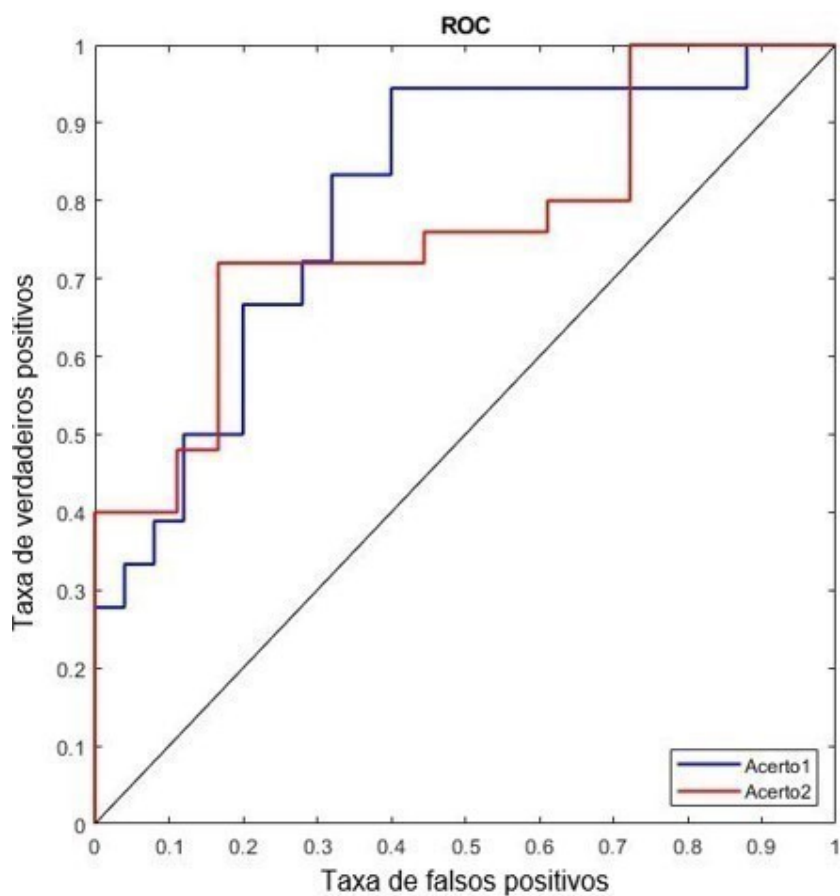


Figura 36 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 24 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1);

Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 9 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 24 variáveis de entrada referente à morfologia com colinearidade e paciente para a predição de batimento cardíaco fetal.

AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para a ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia Com Colinearidade e Paciente (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	98,8%
AUC 2 Treinamento	98,2%
AUC 1 Simulação	80,2%
AUC 2 Simulação	76,4%

Morfologia (Com Colinearidade), Morfocinética e Paciente

Matriz de Confusão

Classe de saída	1	41 39.4%	5 4.8%	89.1% 10.9%
	2	4 3.8%	54 51.9%	93.1% 6.9%
		91.1% 8.9%	91.5% 8.5%	91.3% 8.7%
		Classe alvo		

Figura 37 Matriz de confusão para os dados de treinamento considerando as 40 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

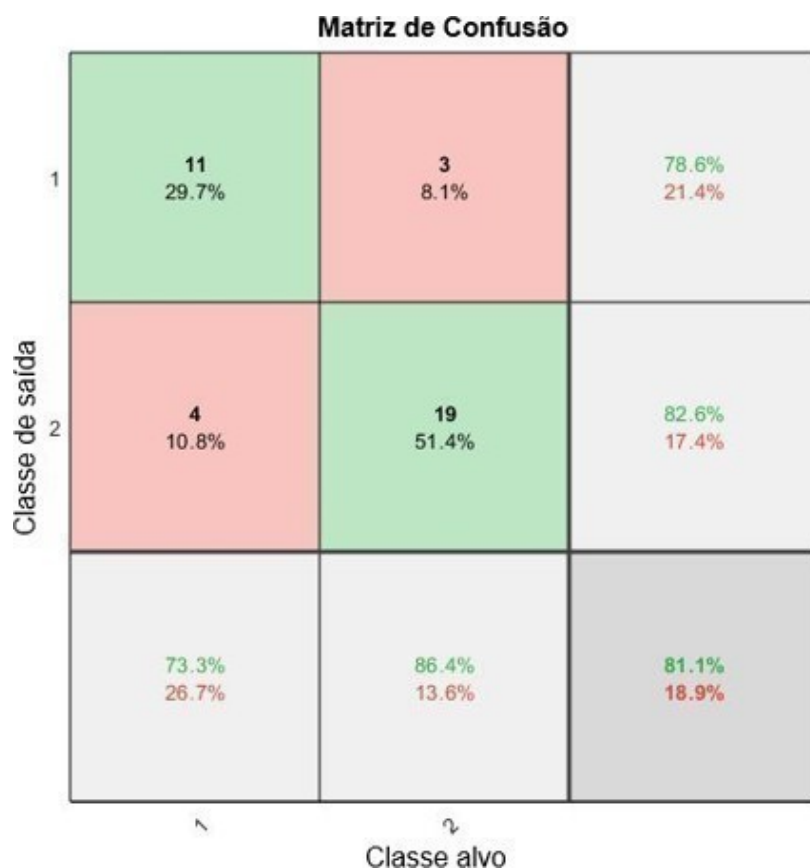


Figura 38 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 40 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal.

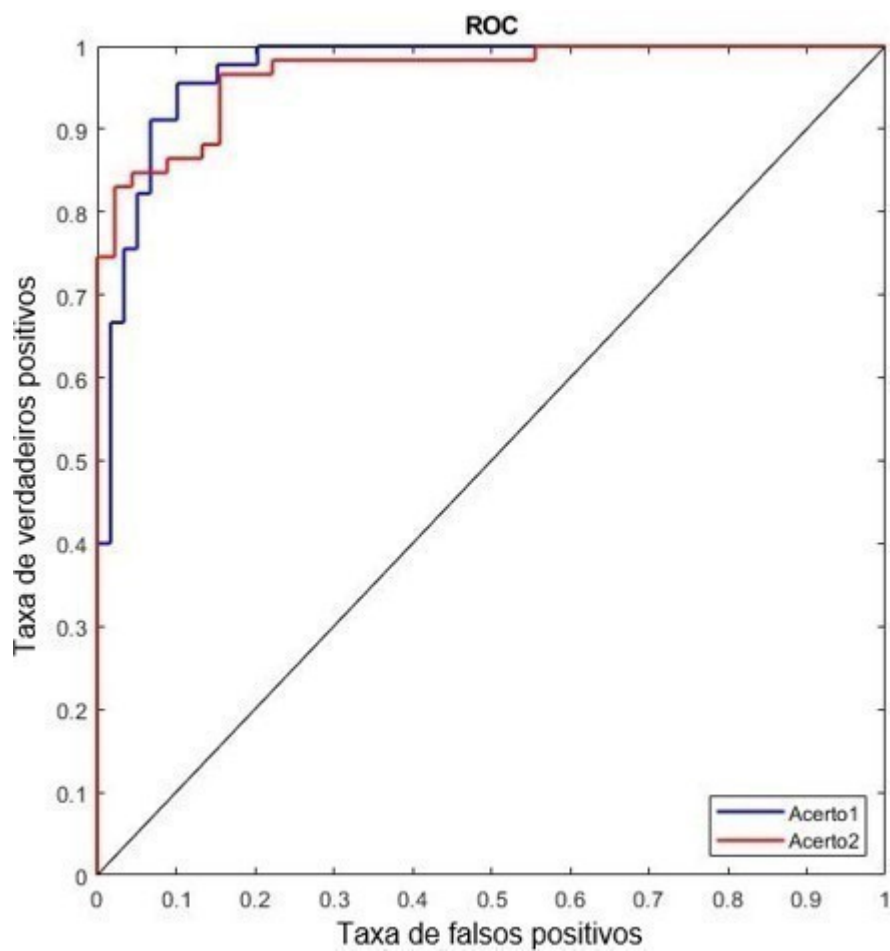


Figura 39 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 40 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal. Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1); Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

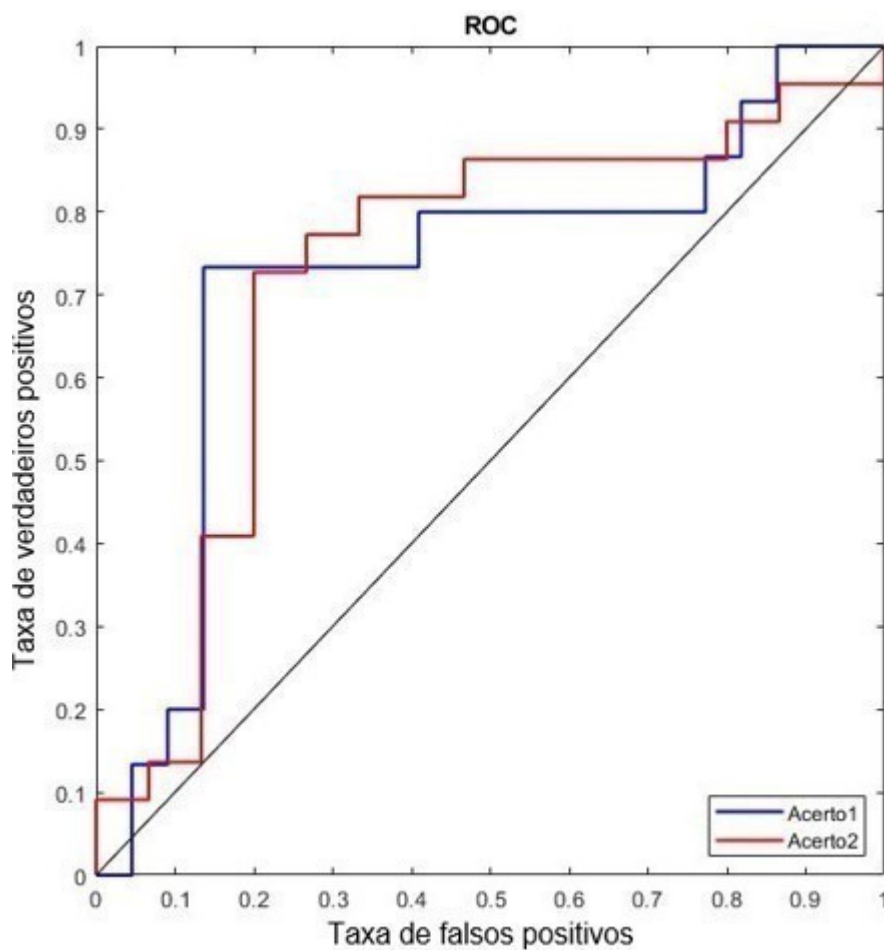


Figura 40 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 40 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de batimento cardíaco fetal. Acerto para a presença de batimento cardíaco fetal (Acerto 1); Acerto para a ausência de batimento cardíaco fetal (Acerto 2).

Tabela 10 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 40 variáveis de entrada referente à morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente para a predição de batimento cardíaco fetal.

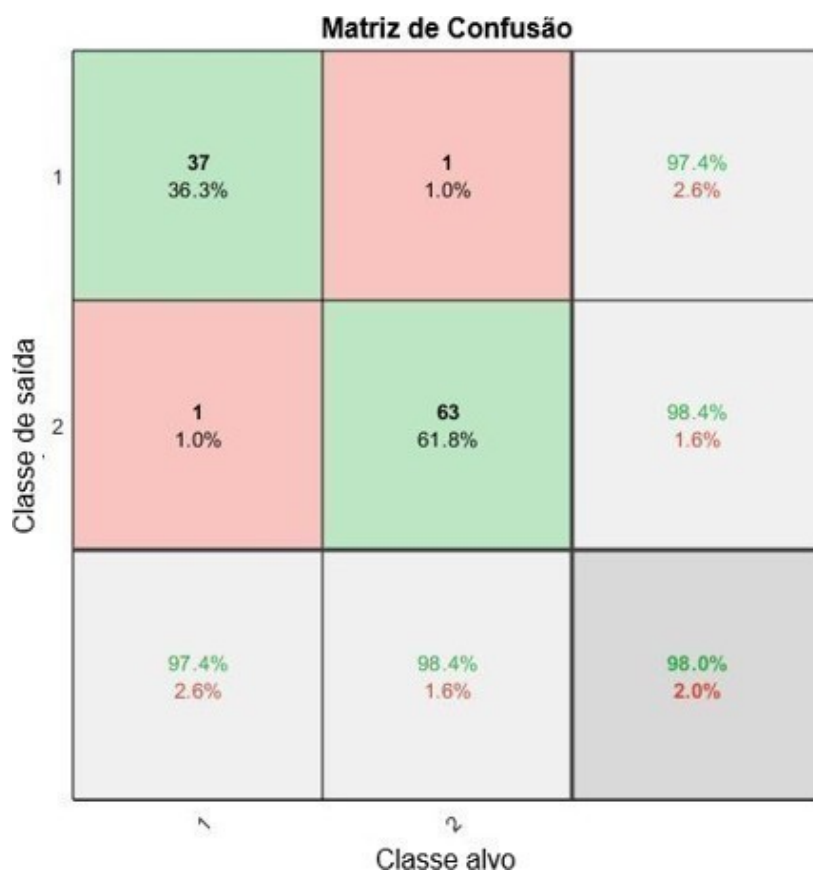
AUC para a presença de batimento cardíaco fetal (AUC 1);

AUC para a ausência de batimento cardíaco fetal (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia Com Colinearidade, Morfocinética e Paciente (predição de batimento cardíaco fetal)
AUC 1 Treinamento	97,1%
AUC 2 Treinamento	96,7%
AUC 1 Simulação	72,4%
AUC 2 Simulação	72,7%

Predição de nascimento vivo

Morfologia (Com Colinearidade) + Morfocinética + Paciente



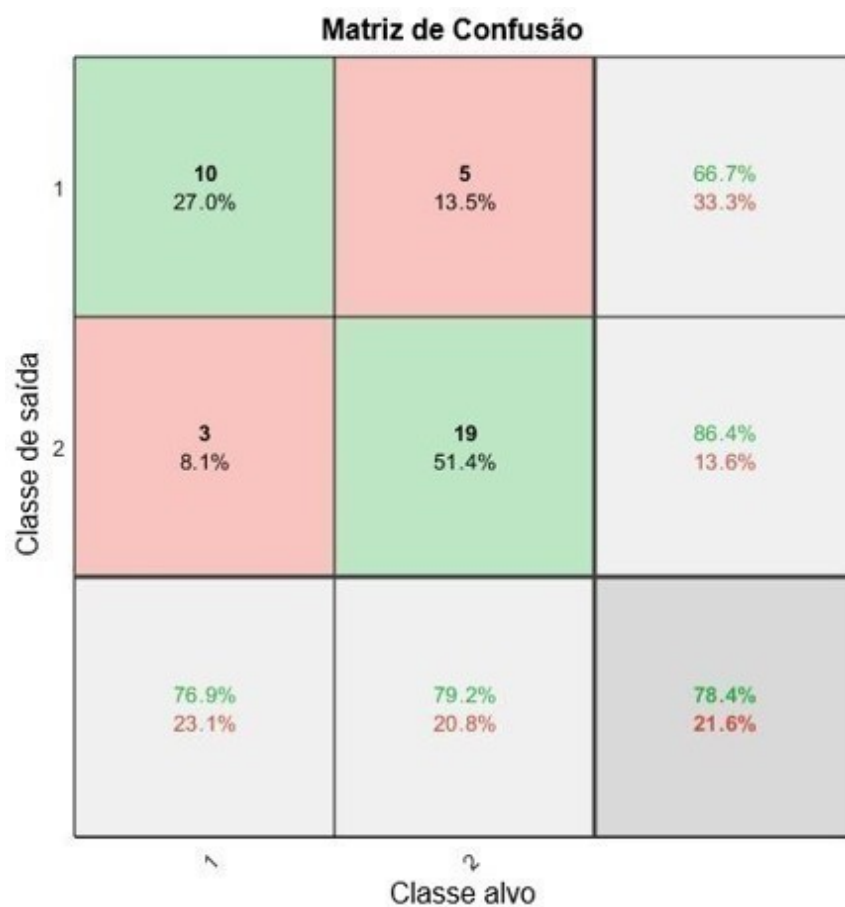


Figura 42 Matriz de confusão para os dados de simulação considerando as 40 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de nascimento vivo.

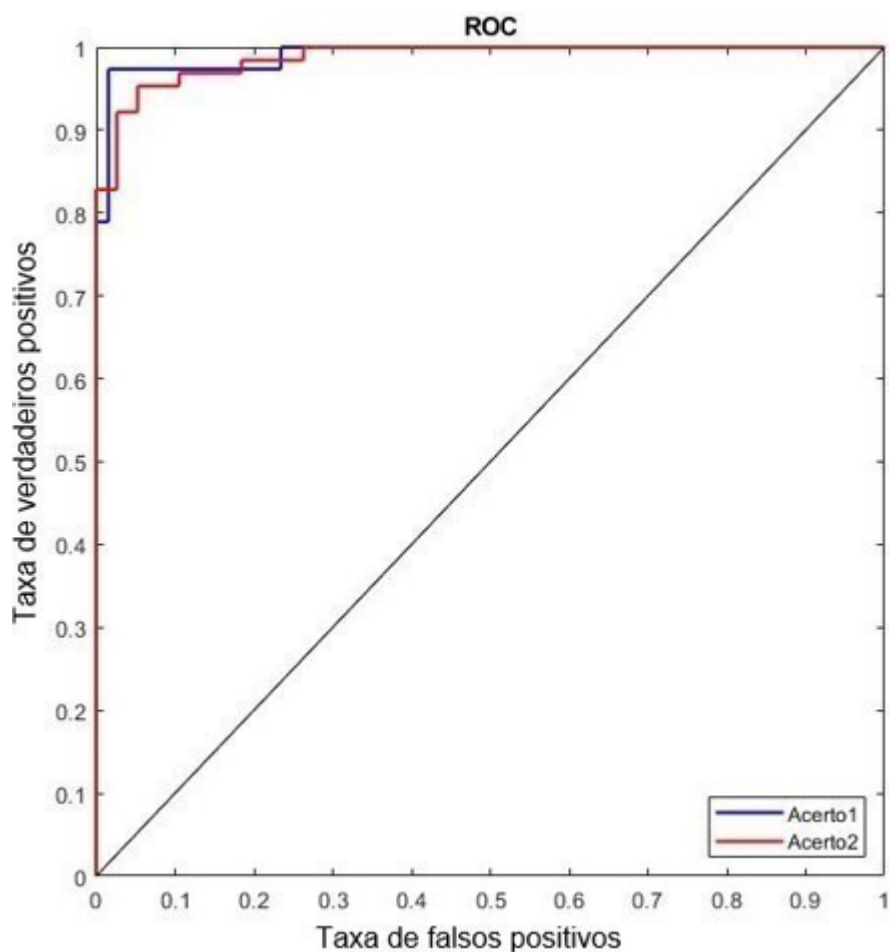


Figura 43 Curva ROC obtida para os dados de treinamento considerando as 40 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de nascimento vivo.

Acerto para a presença de nascimento vivo (Acerto 1);

Acerto para a ausência de nascimento vivo (Acerto 2).

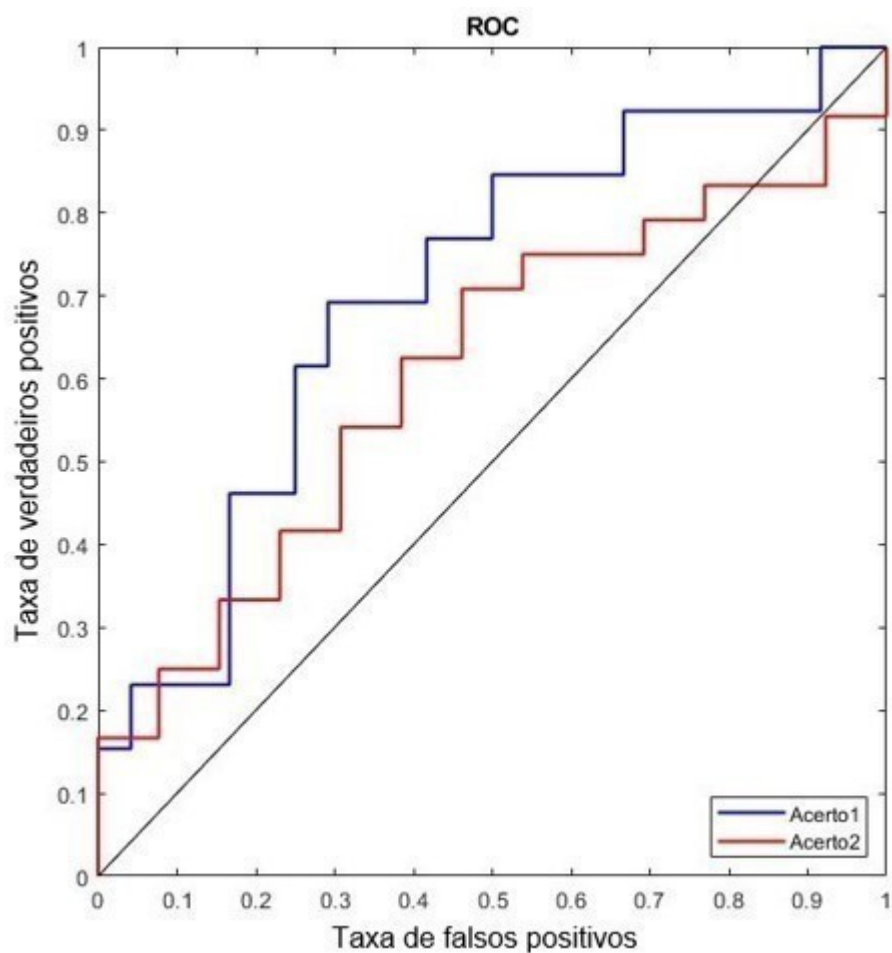


Figura 44 Curva ROC obtida para os dados de simulação considerando as 40 variáveis de entrada da morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente referente à melhor RNA encontrada para a predição de nascimento vivo.

Acerto para a presença de nascimento vivo (Acerto 1);

Acerto para a ausência de nascimento vivo (Acerto 2).

Tabela 11 Valores de AUC para o treinamento e simulação da melhor RNA encontrada para o conjunto de 40 variáveis de entrada referente à morfologia com colinearidade, morfocinética e paciente para a predição de nascimento vivo.

AUC para a presença de nascimento vivo (AUC 1);

AUC para a ausência de nascimento vivo (AUC 2).

Valores de AUC	Morfologia Com Colinearidade, Morfocinética e Paciente (predição de nascimento vivo)
AUC 1 Treinamento	99,1%
AUC 2 Treinamento	98,7%
AUC 1 Simulação	70,5%
AUC 2 Simulação	60,9%

7.3 Relação do número de melhores RNAs obtidas

Nesta seção, encontra-se a relação do número de melhores RNAs obtidas para cada conjunto de entrada.

Tabela 12 Número de melhores redes encontradas para cada combinação de conjunto de variáveis de entrada para as RNAs considerando a predição de batimento cardíaco fetal e a predição de nascimento vivo. O traço (-) significa que não foram treinadas RNAs para a predição de nascimento vivo considerando os conjuntos de variáveis separadamente e em duplas.

Conjuntos de entradas para as RNAs	Número de melhores RNAs para a predição de batimento cardíaco fetal	Número de melhores RNAs para a predição de nascimento vivo
Morfologia (sem colinearidade)	2	-
Morfocinética	2	-
Paciente	-	-
Morfologia + Morfocinética (sem colinearidade)	2	-
Morfologia + Paciente (sem colinearidade)	1	-
Morfocinética + Paciente	3	-
Morfologia + Morfocinética + Paciente (sem colinearidade)	4	3
Morfologia (com colinearidade)	2	-
Morfologia + Morfocinética (com colinearidade)	2	-
Morfologia + Paciente (com colinearidade)	1	-
Morfologia + Morfocinética + Paciente (com colinearidade)	9	1

8 ANEXO 2

Normas de publicação – Human Reproduction

Disponível em https://academic.oup.com/humrep/pages/Basic_Science_Studies

Basic Science Studies

Studies involving animals should be reported according to the ARRIVE (Animal Research: Reporting In Vivo Experiments) guidelines. The relevant ethical review permissions, relevant licences (e.g. Animal [Scientific Procedures] Act 1986), and national or institutional guidelines for the care and use of animals must be included in the manuscript.

Studies involving human material should have appropriate ethical approval and, where relevant, the patients' written informed consent. The editors reserve the right to refuse publication where the required ethical approval/patient consent is lacking.

Structure (listed in order of appearance in the published manuscript)

1. Title	Page
----------	------

Title: Should not exceed 25 words and should be specific and informative. Trademarks and proprietary terms are not allowed in the title.

Running title: Should not exceed 50 characters.

Authors: Give initials and family name of all authors.

(Please refer to the section 'To accompany manuscript at submission' for more details regarding authorship entitlements)

NB - A declaration of Author's roles is required at submission and this information MUST be included in the manuscript (after the discussion, before the Acknowledgements).

Author affiliations and addresses: The department, institution, city and

country should be given with postal code for each author. An e mail address will be published for the corresponding author, who should be clearly identified with an asterisk. Current addresses should be provided for all authors.

ORCID iDs are required for corresponding authors of all manuscripts submitted to Human Reproduction and are recommended for all other authors. The Journal will include all supplied iDs in the published paper. ORCID provides a persistent digital identifier that is unique to individual authors. Learn more at orcid.org. ORCID iDs can be requested at ORCID.org and linked to User Accounts on the journal's submission website.

2. Abstract

All original research articles published in Human Reproduction are now required to have an extended abstract. The aim behind the change to this new format is to capture the essence, novelty and importance of each study, making the information more instantly available to readers. The abstract should clearly set out the research question, study design, findings, implications, funding and competing interests. An editable template with further instructions is available. Please complete all sections.

3. Key words

Up to ten key words must be supplied by the author. The key words, together with the title and abstract, are used for online searches. They should therefore be specific and relevant to the paper.

4. Introduction

The introduction should be limited to the specific background necessary to

show the importance and context of the current study. The objective of the study should be clearly stated in the final paragraph of the Introduction.

5. Materials and methods

The names and country of origin of all suppliers should be included. Please use subheadings. The study population and participants should be described. A separate subheading within the materials and methods should describe the statistical analyses. A further separate subheading should detail any ethical approval for the use of animals or for the collection and use of human tissue.

6. Results

Unnecessary overlap between tables, figures and text should be avoided. Please use subheadings for different sections.

7. Discussion

The discussion should begin with a succinct statement of the principal findings, outline the strengths and weaknesses of the study, discuss the findings in relation to other studies and the wider (clinical) relevance of the findings, provide possible explanations and indicate questions which remain to be answered in future research.

8. Author's roles

Manuscripts must include details for the contributions of each of the authors, including participation in study design, execution, analysis, manuscript drafting and critical discussion (refer to 'Authorship' section).

9. Acknowledgements

Personal acknowledgements should precede those of institutions or agencies.

10. Funding

With respect to funding of research, in line with the World Association of Medical Editors (WAME) guidelines, the journal considers it the responsibility of the author to protect the integrity of the research record from bias related to the source of funding by fully declaring all sponsorships, the roles played by sponsors in the research as well as institutional affiliations and relevant financial ties. These should be listed in the manuscript in the Funding section. Grant numbers should be given. Where no specific funding was sought for the study, and departmental funds were used to support the authors throughout the study period and manuscript preparation, this should be acknowledged, giving department names.

11. Conflict of interest

Authors should include a conflict of interest statement on the manuscript detailing any potential conflicts of interest of any of the authors due to relationships with commercial/corporate interests – or that they have none to declare.

12. Reference citations within the text

Authors are responsible for the accuracy of the references. Each reference should be cited by author and date. If there are two authors please list both, if more than two please use first author then et al. Permission to cite personal communications (J.Smith, personal communication) should be

obtained by the corresponding author. Unpublished data should be cited as (unpublished data) and should not be included in the reference list. Either of the above should be used only when essential.

References to papers accepted for publication, but not yet published, should be cited as such in the reference list e.g. Bloggs A (2007) In vitro fertilization. *Hum Reprod*. In press.

13. Reference list

References should be listed alphabetically. Please use the following style. Note that correct punctuation and journal abbreviations must be used in order to run the search programs used to edit the manuscript. Incorrectly typed references take a lot of time to correct, for which we reserve the right to charge. Up to 10 authors should be included after which et al. should be used. Refer to the following examples.

Authors. Title. *Journal*. Date; **issue** : pg-pg

Biggers JD, McGinnis LK. Evidence that glucose is not always an inhibitor of mouse preimplantation development in vitro. *Hum Reprod* 2001; **16** :153-163.

Gekas J, Thepot F, Turleau C, Siffroi JP, Dadaoune JP, Briault S, Rio M, Bourouillou G, Carre Pigeon F, Wasels R *et al* . Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberrations in women and men. *Hum Reprod* 2001; **16** : 82-90.

Elliot WH, Elliot DC. *Biochemistry and Molecular Biology* . 2nd edn, 2001.Oxford University Press, Oxford, UK.

Warren MA, Li TC, Klentzeris D. Cell biology of the endometrium: histology, cell types and menstrual changes. In Chard T and Grudzinskas JG (eds) *The Uterus* . 1994. Press Syndicate of the University of

Cambridge, Cambridge, UK, pp.94-125.

14. Tables

Tables should be uploaded as a separate document in an editable format. Each table should be numbered consecutively with Roman numerals. Please avoid complex constructions. Each item of data should be in a separate cell and should be produced using Word or Excel format. Each table should be self-explanatory and include a brief descriptive title. Footnotes to the table indicated by superscript lowercase letters are acceptable but should not include extensive experimental detail. Reference to the tables in the text should be sequential (i.e. Table I, II etc). Do not include more tables than is absolutely necessary - non-essential tables may be judged as being suitable for online-only publication.

15. Figure legends

Each legend must be self-contained, with all symbols and abbreviations used in the figure defined.

16. Figures

Figures should be uploaded as a separate file (or files) as .jpg or .tif files.

Full instructions on preparing the figures are available as part of the online submission instructions. Please follow these instructions carefully as failure to do so will delay publication of your manuscript (please note: the editors reserve the right to charge for extensive changes). In preparing graphs authors should avoid background tints and 3D effects and maintain a consistent label size and aspect ratio (the x/y axis ratio) throughout a paper. Figure and axes titles should be clear and NOT in bold text. Do not include more figures than is absolutely necessary - non-essential figures may be judged as being suitable for online-only

publication.

17. Additional material to accompany the submission

- ARRIVE checklist (for research using animals)
- Covering letter