

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso Biomedicina

Betina Torrecillas D'Elia

**O USO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL NAS TÉCNICAS DE INJEÇÃO
INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES**

São Paulo

2023

Betina Torrecillas D'Elia- RA: SPGR011702

**O USO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL NAS TÉCNICAS DE INJEÇÃO
INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Biomedicina do
Centro Universitário São Camilo, orientado
pelo Professor Rodrigo Alessandro Riemma
Vela, como requisito parcial para obtenção
do título de Bacharel em Biomedicina

São Paulo

2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

D'Elia, Betina Torrecillas

O uso de inteligência artificial nas técnicas de injeção intracitoplasmática de espermatozoides / Betina Torrecillas D'Elia. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.

52 p.

Orientação de Rodrigo Alessandro Riemma Vela.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Fertilização in vitro 2. Injeções de esperma intracitoplasmáticas 3. Inteligência artificial 4. Técnicas de reprodução assistida I. Vela, Rodrigo Alessandro Riemma II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 573.21

Betina Torrecillas D'Elia- RA: SPGR011702

**O USO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL NAS TÉCNICAS DE INJEÇÃO
INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES**

Prof. Dr. Renato Borges Tesser

Profa. Dra. Katia Ozanic Watanabe

São Paulo, maio de 2023

**Dedico este trabalho a minha mamãe Fabis,
que sempre esteve comigo me ajudando e
incentivando em cada etapa. Aos meus
avos Lili e Didi que sempre priorizaram
minha educação e aos meus irmãos Zé e
Tata torcem por mim. Amo vocês!**

Agradeço todos os docentes do Centro Universitário São Camilo que foram meus professores no decorrer do curso, por todos os ensinamentos que me foram passados. Agradeço especialmente ao professor Rodrigo Vela por ter aceitado ser meu orientador, que fez com que eu concluísse o trabalho com êxito. Aos amigos que criei durante todos esses anos tornando mais leves e engraçadas as vindas para a faculdade.

“If you can dream it, you can do it.”

-Walt Disney

RESUMO

Os casos de infertilidade em mulheres e homens estão crescendo ao longo das últimas décadas, fazendo com que os avanços tecnológicos na área da saúde ofereçam um melhor tratamento para pais que desejam ter um filho por meio da técnicas de Reprodução Humana Assistida, especialmente na Injeção Intracitoplasmática de espermatozoides. Este trabalho tem como objetivo apresentar técnicas de Inteligência Artificial que podem ser utilizadas para na seleção de espermatozoides de melhor morfologia e embriões de boa qualidade. Apresentando as opções disponíveis para determinadas técnicas e seus funcionamentos. A metodologia utilizada para a realização desse trabalho de revisão bibliográfica consistiu na revisão de livros relacionados ao tema, assim como em algumas bases de dados: LILACS, PubMed e Scielo. A Fertilização *in vitro* e a Injeção Intracitoplasmática de espermatozoides estão entre as técnicas preferenciais para o tratamento em casos de infertilidade. O uso da IA está se sobressaindo com as grandes vantagens apresentadas. Esta revisão de literatura contribuiu para indicar s sobre as técnicas disponíveis para reprodução humana assistida com o uso da inteligência artificial.

Palavras-chave: Reprodução humana assistida, Fertilização *in vitro*, Injeção intracitoplasmática de espermatozoide, Inteligência artificial.

ABSTRACT

The cases of infertility in women and men have been growing over the past decades, causing technological advances in health care to offer a better treatment for parents who wish to have a child through the techniques of Assisted Human Reproduction, especially in Intracytoplasmic Sperm Injection. This paper aims to present Artificial Intelligence techniques that can be used for the selection of sperm with better morphology and good quality embryos. Presenting the options available for certain techniques and how they work. The methodology used for this bibliographic review consisted of a review of books related to the theme, as well as some databases: LILACS, PubMed and Scielo. *In vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection are among the preferred techniques for infertility treatment. The use of AI is standing out with the great advantages presented. This literature review contributed to clarify the available techniques for assisted human reproduction using artificial intelligence.

Keywords: Assisted human reproduction, *In vitro* fertilization, Intracytoplasmic sperm injection, Artificial intelligence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Morfologia do espermatozoide.....	16
Figura 2: Classificação dos ovos.....	17
Figura 3: Procedimento de FIV	21
Figura 4: Procedimento do ICSI	23
Figura 5: Desenvolvimento embrionário.....	24
Figura 6: Processo de estimulação oocitária.....	26
Figura 7: Sucção dos folículos.....	27
Figura 8: Líquido folicular.....	28
Figura 9: <i>Cumulus- oophorus</i> – Visão macro e microscópica.....	28
Figura 10: Classificação oocitária.....	29
Figura 11: Transferência embrionária.....	30
Figura 12: Técnica de Assisted Hatching.....	31
Figura 13: Remoção de fragmentos.....	32
Figura 14: Morfologia espermática.....	35
Figura 15: Grad- CAM.....	36
Figura 16: Medida de espessura da Zona Pelúcida.....	40
Figura 17: Evolução do coeficiente de variação.....	41
Figura 18: Avaliação de embriões por embriologistas.....	43
Figura 19: Classificação <i>STORK</i> vs Embriologista.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS

AH	Assisted Hatching
BL	Blastocisto
CFM	Conselho federal de medicina
CID	Classificação Internacional de Doenças
FIV	Fertilização <i>In Vitro</i>
FSH	Hormônio Folículo-estimulante
GnRH	Gonadotrofina
GnRH_a	Agonista de Gonadotrofina
HCG	Gonadotrofina coriônica humana
ICM	Massa celular interna
ICSI	Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide
IUI	Inseminação Intrauterina
LH	Hormônio Luteinizante
MESA	Microaspiração do Epidídimo Direta
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Polymerase Chain Reaction
PESA	Aspiração Percutânea de Espermatozoides do Epidídimo
RA	Reprodução assistida
ROI	Região de interesse
tB	Blastocisto completo
TE	Trofectoderma
tEB	Blastocisto
TEC	Transferência de Embrião Congelado
TESA	Aspiração Percutânea de Espermatozoides do Testículo
TESE	Extração Direta dos Espermatozoides do Testículo
TLM	Time-lapse
ZP	Zona pelúcida

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVO.....	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	14
3	METODOLOGIA.....	15
4	DESENVOLVIMENTO.....	16
4.1	MÉTODO CONVENCIONAL DAS TÉCNICAS DE RA.....	15
4.1.1	Procedimentos de FIV (Fertilização <i>In Vitro</i>)	20
4.1.2	Injeção Intracitoplasmática de espermatozoide (ICI).....	21
4.1.3	Técnicas auxiliares à ICSI.....	31
4.2	INTELIGENCIA RTIFICIAL APLICADA EM ESPERMATOZOIDE.....	35
4.3	INTELIGENCIA ARTIFICIAL APLICADA EM EMBRIÕES.....	41
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
	REFERÊNCIAS.....	49

1. INTRODUÇÃO

Os progressos na medicina, que nos fascinam e surpreendem a cada dia, criam a doce ilusão que tanto homens quanto mulheres podem resolver seus problemas físicos, assim tendo um acesso a situações que desejam. Como por exemplo a vontade de ter um filho, quando dado o diagnóstico de infertilidade. Na Fertilização *in Vitro* (FIV), com o nascimento do primeiro bebê, pela utilização das técnicas deste método, trouxe uma possibilidade de intervenção no processo natural, a reprodução humana, criando uma esperança para os casais com casos de infertilidade, baixas reservas ovarianas, fatores masculinos e femininos (HANSON; et al., 2020).

A Fertilização *in Vitro*, diante de condições específicas consiste na fecundação do oócito pelo espermatozoide fora do corpo, em um laboratório. Após os procedimentos iniciais, o embrião é mantido em incubadoras, checado e analisado durante um período com média de cinco dias e assim, transferido para o útero onde se espera que ele seja implantado e continue se desenvolvendo. (NAGY, et al., 2020).

Nas técnicas de reprodução assistida existem procedimentos que são desgastantes tanto para a mulher como para o homem, como por exemplo as injeções de hormônios para a indução da ovulação, testes laboratoriais, exames de ultrassonografia, uso de medicamentos, anestesia, obtenção da amostra de sêmen por masturbação e a ansiedade diante da transferência dos embriões. Essas etapas geram, para o casal, expectativas de sucesso e satisfação cada vez que se passa para o passo seguinte, mas também uma incerteza do que virá. Mulheres e homens tendem a iniciar o tratamento com expectativas de sucesso, porém quando o procedimento fracassa, surgem vivências de tristeza, decepção e perda. (HANSON; et al., 2020)

O progresso nas técnicas de inteligência artificial (IA), vieram justamente com esse intuito: a melhoria nas taxas dos procedimentos de reprodução humana assistida e dos nascidos vivos, o aprimoramento na avaliação e seleção de embriões. Este método pode ser utilizado em outros aspectos clínicos da fertilização *in vitro*, como avaliar o potencial reprodutivo do paciente e individualizar protocolos de estimulação de gonadotrofina. A aplicação de tecnologias de Inteligência Artificial em andrologia, foi além com o desenvolvimento de aplicativos baseados em smartphones para análise de espermatozoides, bem como viabilidade espermática. A IA tem a

capacidade de analisar um número maior de dados, objetivando a aplicação destas ferramentas à análise de todos os dados embrionários, clínicos e genéticos em um esforço para fornecer tratamentos sob medida para o paciente. (BABAYEV, 2020)

2. OBJETIVO

2.1 GERAL

Apresentar a inteligência artificial na área da Reprodução Humana Assistida para a análise de embriões e espermatozoides, visando analisar sua aplicabilidade, com a finalidade de verificar se é uma solução eficaz para diminuir as taxas de variabilidade na classificação e se é vantajosa em relação à utilização.

2.2 ESPECÍFICO

- Apresentar a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides,
- Apontar os pontos fortes presentes em estudos e testes utilizando a inteligência artificial,
- Mostrar os resultados positivos e negativos do uso da inteligência artificial em Reprodução Humana Assistida,
- Identificar quais as melhorias com o emprego de procedimentos de fertilização *in vitro* com a inteligência artificial.

3. METODOLOGIA

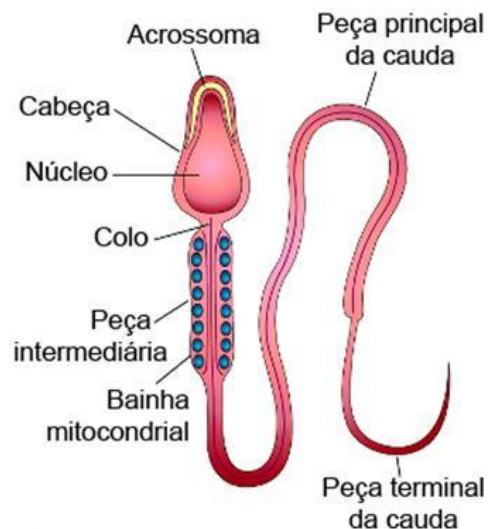
Trata-se de uma pesquisa básica, pois, conforme Appolinário (2011, p. 146), o principal objetivo deste tipo de pesquisa é “[...] o avanço do conhecimento científico, sem nenhuma preocupação com a aplicabilidade imediata dos resultados a serem colhidos”. Quanto aos seus objetivos, a pesquisa classifica-se como exploratória, considerando que, quando a pesquisa é de cunho exploratório, tem caráter descritivo e busca o entendimento do fenômeno como um todo (GODOY, 1995). Assim, também foi descritiva, pois, segundo Bervian; Cervo e Silva (2002, p. 66) neste tipo de estudo se “[...] observa, registra, analisa e correlaciona fatos e fenômenos [...] sem manipulá-lo”. No que diz respeito aos procedimentos, foi realizada uma revisão narrativa da literatura e um levantamento retrospectivo de dados entre os anos de 2014 e 2023 priorizando dados dos últimos 5 anos, por se tratar de uma área em constante desenvolvimento. Utilizando as bibliografias nos idiomas português, inglês e espanhol nas bases de dados: LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências Sociais e da Saúde), PubMed, no portal de revista eletrônica Scielo (Scientific Electronic Libra Online) e em livros relacionados com os temas envolvendo Reprodução humana assistida e inteligência artificial. Assim, este estudo também foi bibliográfico, pois, conforme Boccato (2006, p. 266), “[...] a pesquisa bibliográfica busca a resolução de um problema (hipótese) por meio de referenciais teóricos publicados, analisando e discutindo as várias contribuições científicas. Esse tipo de pesquisa trará subsídios para o conhecimento sobre o que foi pesquisado, como e sob que enfoque e/ou perspectivas foi tratado o assunto apresentado na literatura científica. A abordagem caracterizou-se como qualitativa, pois, conforme Fontelles et al. (2009, p. 6) “É o tipo de pesquisa apropriada para quem busca o entendimento de fenômenos complexos específicos, em profundidade, de natureza social e cultural, mediante descrições, interpretações e comparações [...]”. Para a pesquisa foram utilizados os seguintes descritores: Inteligência artificial, fertilização *in vitro*, reprodução humana assistida, óóitos, embriões e espermatozoides.

4. DESENVOLVIMENTO

De acordo com o novo relatório publicado em 2023 pela Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 17,5% da população adulta (1 em cada 6 pessoas em todo o mundo), sofrem de infertilidade, mostrando a necessidade urgente de aumentar o acesso aos cuidados de alta qualidade e a preços acessíveis para as pessoas que necessitam (KEENAN, 2023). Antes de observarmos, como uma forma simples e clara o processo de inseminação é necessário conhecer os principais gametas, o espermatozoide e o oócito. (JUNIOR; et al, 2002).

Os espermatozoides são constituídos pelas seguintes estruturas: a cabeça, que deve ter um formato oval e lisa, possuindo uma vesícula na ponta chamada de acrossomo, formado pelo complexo de Golgi, e contém as enzimas líticas relacionadas com o processo de fecundação, ele deve ser bem definido e esta região não deve conter grandes vacúolos nem/ ou mais que dois pequenos vacúolos, conforme a figura 1. Além dessa estrutura, na cabeça existe o núcleo, portador do material genético masculino, logo abaixo, em uma região chamada de “pescoço” do espermatozoide existem dois centríolos. A peça intermediária, que deve ser delgada e regular, onde possui a Bainha mitocondrial, as quais produzem o trifosfato de adenosina (ATP), essencial para o movimento dos flagelos, e a cauda que desenvolve-se a partir do centríolo e tem a função de impulsionar o espermatozoide (KUSSLER, 2021).

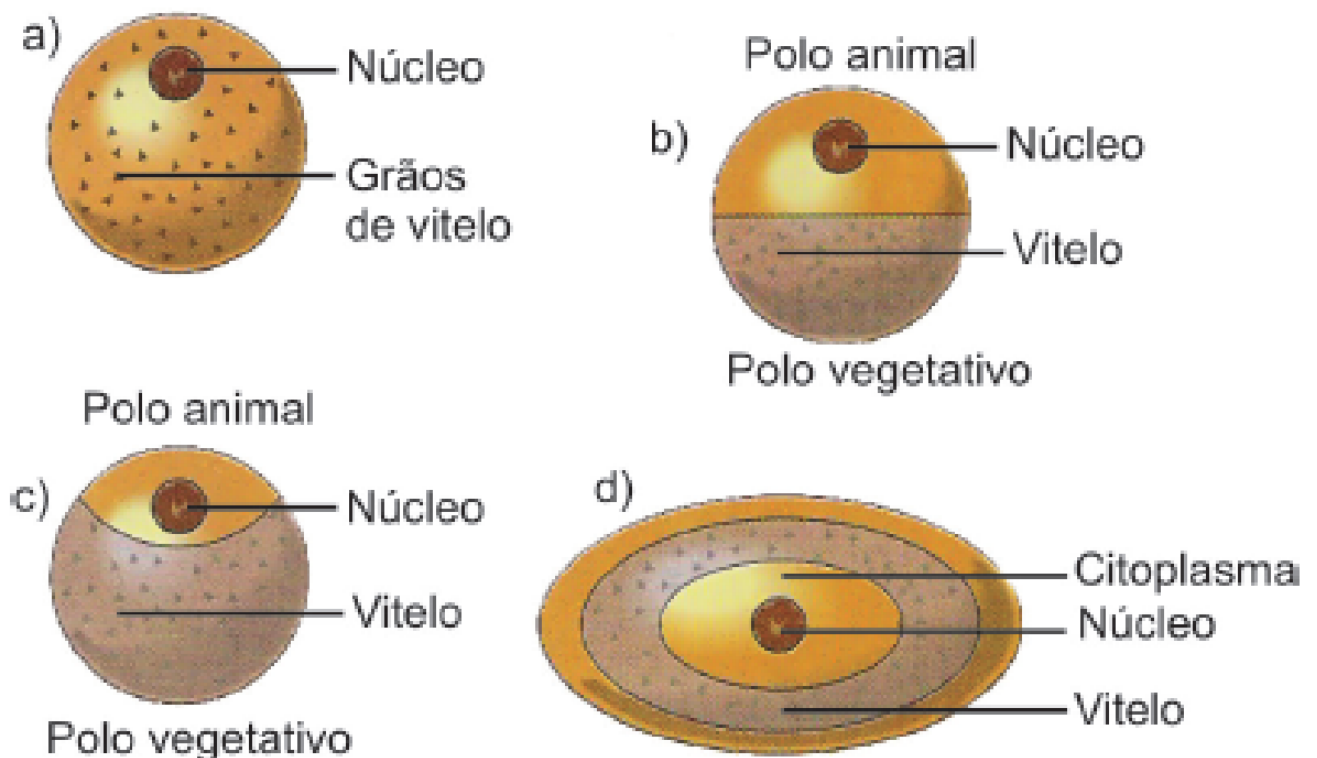
Figura 1- Morfologia do espermatozoide



Fonte: Kussler, 2021. Representação da morfologia detalhada de um espermatozoide, com indicações de suas estruturas na cabeça, peça e cauda.

Ovos de animais possuem um material nutritivo denominado vitelo, cuja concentração e distribuição difere conforme a espécie. É possível classificá-los em quatro principais tipos: heterolécitos, telolécitos, centrolécitos e oligolécitos (figura 2) (DIAS,2020).

Figura 2- Classificação de ovos



Fonte: Batista, 2015. Os tipos de ovos existentes, **a-** Oligolécitos, são ovos que contêm pequena quantidade de vitelo uniformemente distribuído pelo citoplasma; **b-** Heterolécitos, ovos que apresentam cerca de metade do volume citoplasmático ocupado por vitelo, enquanto o núcleo situa-se no polo oposto; **c-** Telolécitos, ovos em que a quantidade de vitelo é tão grande que ocupa quase todo o citoplasma, enquanto o núcleo ocupa um espaço mínimo na periferia; **d-** Centrolécitos são ovos nos quais o núcleo é central, envolvido pelo citoplasma.

O ovo que nos interessa, é o chamado ovo oligolécitos (característico dos mamíferos) que contém pouco vitelo espalhado pelo citoplasma. Os oócitos humanos

são constituídos por membrana plasmática, citoplasma e núcleo, está envolto em uma camada glicoproteica denominada zona pelúcida (ZP), extremamente importante para a ligação do espermatozoide e prevenção da polispermia, além de proteger a célula e o desenvolvimento embrionário inicial, durante o seu crescimento e maturação, o oócito está rodeado por camadas de células foliculares chamadas de corona radiata, derivadas do epitélio germinativo do ovário e ao redor de todas essas estruturas, está o complexo *cumulus-oophorus*, camadas de células da granulosa presentes antes e imediatamente após a ovulação, responsáveis pela transferência de nutrientes (ALBUQUERQUE, 2021).

Desde o final da década de 1990, a acessibilidade aprimorada dos dados biomédicos acelerou a aplicação da inteligência artificial (IA) na medicina reprodutiva. A IA pode orientar o manejo clínico ideal para casais inférteis, melhorando os resultados clínicos e relatados pelos pacientes, além de promover a relação custo-benefício (DYER, 2016).

A fertilização *in vitro* (FIV) é uma das técnicas mais indica para a infertilidade, fatores tuboperitoneais, fatores masculinos e femininos, três ou mais falhas de ciclos de inseminação artificial intrauterina, a aplicação deste tratamento consiste em estimulação ovariana, recuperação de múltiplos oócitos, manuseio dos gametas femininos e masculinos em laboratório, fertilização e cultura de embriões por um a seis dias em condições ambientais controladas (gás, temperatura e ph, mimetizando ao máximo, o útero da mãe). Mesmo com as melhorias das tecnologias de fertilização *in vitro* e transferência de embriões, nos últimos anos, a eficácia da fertilização *in vitro* permanece relativamente baixa (MORISHIMA, 2021).

A avaliação da morfologia visual de embriões usada para avaliação de qualidade, envolve a classificação manual de embriões humanos no estágio de blastocisto (embrião no dia cinco ou seis de desenvolvimento) e selecioná-lo para a transferência após a FIV (MANNA; 2014). Embora esse método de seleção seja usado universalmente na prática clínica, acaba levando ao maior manuseio do embrião, por isso vem sendo cada vez mais questionadas quanto aos resultados, essa classificação introduz subjetividade entre os embriologistas e aumenta a dificuldade do controle de qualidade durante a fertilização *in vitro*. (SAEEDI, 2017). A avaliação de um embrião com base em uma imagem estática representa uma avaliação bruta e subjetiva da qualidade do embrião, que se for incompleta e demorada, irá produzir

resultados, como resultado, a taxa de sucesso da fertilização *in vitro* permanece baixa (HOSRAVI, 2019).

Parâmetros morfocinéticos do embrião estão correlacionados com o potencial de implantação, ou seja, a forma como se desenvolvem e podem ser usados como preditores da qualidade do embrião. Usando de um equipamento conhecido com Time-lapse, este sistema que tem revolucionado a avaliação morfológica embrionária, relacionado ao uso de diferentes modelos ou algoritmos conhecidos para assim melhorar os resultados e prever a viabilidade do embrião. Utilizando esta ferramenta, a avaliação do embrião deixa de ser feita baseada em algumas observações estáticas do embrião e passa a ser feita por monitoramento contínuo do desenvolvimento embrionário (PORTELA, 2021). Esses modelos preditivos de Time-lapse, baseados em uma combinação de análises estatísticas e métodos de IA, podem ser usados para prever a implantação do embrião na clivagem, bem como nos estágios de Blastocisto. Com os estudos iniciais a inteligência artificial representa uma das ferramentas objetivas mais promissoras para seleção de embriões e previsão de gravidez (MIRROSHANDEL, 2018).

Para alcançar uma gravidez bem-sucedida, os fatores embrionários, contribuem com 80% dos elementos necessários e os fatores uterinos os 20% restantes, pode-se dizer que a avaliação de um embrião deve ser baseada nas taxas de implantação embrionária, em vez de nascidos vivos. Em vários estudos, foi comprovada a correlação positiva entre altos resultados de ICSI e morfologia normal do esperma, anormalidades graves da cabeça causam baixas taxas de fertilização, implantação e gravidez. (GHASEMIAN, 2018).

4.1 MÉTODO CONVENCIONAL DE REPRODUÇÃO HUMANA ASSISTIDA

Segundo a Classificação Internacional de Doenças (CID10) da Organização Mundial da Saúde (OMS) sob a resolução CFM 1358/9231 (2023), a infertilidade humana é considerada como um problema de saúde com implicações médicas e psicológicas, e segundo o (SOUZA; ALVES, 2016):

Conselho Federal de Medicina (2013), Resolução 2.013/ 2013:

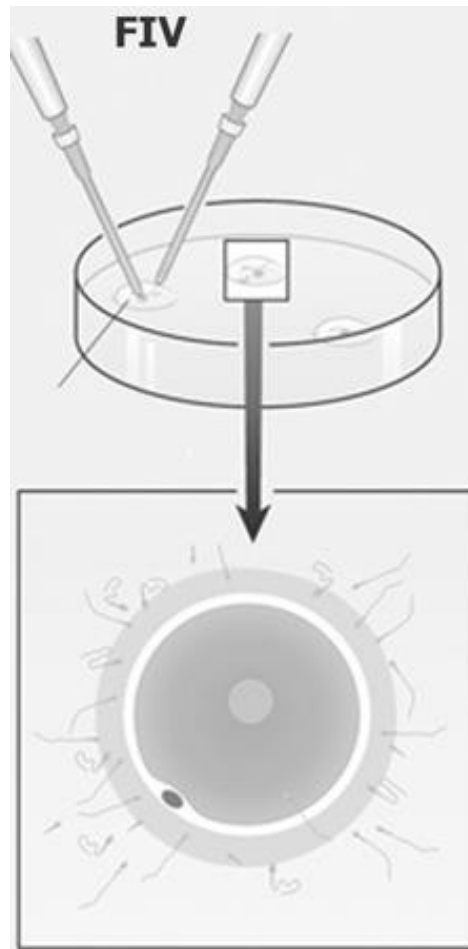
As técnicas de reprodução assistida (RA) têm o papel de auxiliar a resolução dos problemas de reprodução humana, facilitando o processo de procriação. As técnicas de RA podem ser utilizadas desde que exista probabilidade efetiva de sucesso e não se incorra em risco grave de saúde para a paciente ou o possível descendente, e a idade máxima das candidatas à gestação de RA é de 50 anos. (SOUZA; ALVES, 2016)

Com um aumento significativo pela procura de técnicas de Reprodução Humana Assistida, no tratamento da infertilidade, algumas destas técnicas tem se destacado por sua eficácia e qualidade, sendo elas: A inseminação intrauterina (IIU); Fertilização *In Vitro* (FIV); Injeção Intracitoplasmática de espermatozoides (ICIS) e a Transferência de Embrião Congelado (TEC) (DONADIO, 2021).

4.1.1 Procedimentos de FIV (fertilização *in vitro*)

A Fertilização *In Vitro* clássica consiste basicamente no manuseio dos gametas femininos e masculinos em laboratório ocorrendo futuramente (MORISHIMA, 2021). Este processo tem como início a coleta da amostra seminal por aspiração percutânea de espermatozoides do epidídimo (PESA) ou Aspiração percutânea de espermatozoides do testículo (TESA). Após a aspiração será feita a avaliação laboratorial da concentração desta amostra, verificando-se a quantidade de espermatozoides móveis, imóveis ou não progressivos. (SILVA, 2021) Realizada a avaliação, é feito um cálculo do volume que será necessário para inseminar uma quantidade de aproximadamente 100.000 espermatozoides móveis ao redor do oócito (figura 3), por um período de 16 a 18 horas, tempo necessário para a penetração do espermatozoide. (CIM, 2020). Aproximadamente 24 horas após a coleta dos oócitos são examinados para verificação da fecundação, após este tempo o pré-embrião será cultivado ainda em incubadora, que oferece um ambiente similar ao natural, até o período de transferência para o útero (SOUZA, 2016).

Figura 3- Procedimento de FIV



Fonte: Cambiaghi, Leão, 2020. Em uma placa estéril, oócitos (MII) são colocados em contato com os espermatozoides, por cerca de algumas horas para que sejam fertilizados espontaneamente.

4.1.2 Injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)

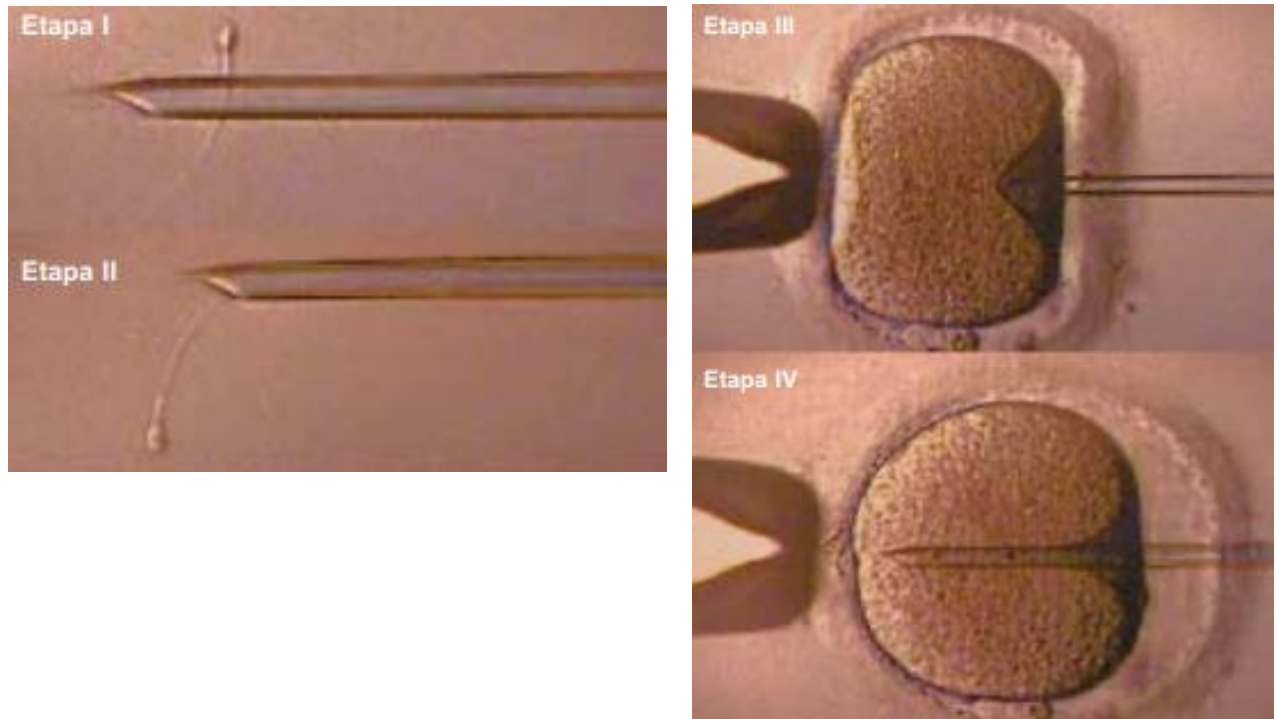
Os espermatozoides poderão ser obtidos diretamente do ejaculado ou de técnicas de micromanipulação conhecidas como técnica de Microaspiração do epidídimo direta (MESA), Extração direta dos espermatozóides do testículo (TESE), PESA ou TESA (SOUZA; ALVES, 2016).

Quando puncionado líquido folicular puro é imediatamente enviado ao laboratório de embriologia para a procura e identificação de oócitos, após identifica-los e classifica-los quanto ao grau de maturidade, os que estiverem em estágio de metáfase II (MII) podem ser injetados num período de 4 horas após a coleta, já os que estão em metáfase I ou Prófase permanecerão em incubação para verificação da extrusão do

primeiro corpúsculo polar, num intervalo entre 4-8 horas após a aspiração, se isto ocorrer poderão ser injetados (LIMA, 2021).

A Injeção Intracitoplasmática de espermatozoide (figura 4) é realizada com a utilização de micropipetas de sucção (*Holdin*) e de injeção. Ocorre uma seleção dos espermatozoides que aparentam melhor morfologia, eles serão imobilizados com uma batida na cauda usando a micropipeta de injeção, após a imobilização a cauda é aspirada primeiro para dentro dela (SOUZA, 2016). Com o espermatozoide dentro da micropipeta de injeção, é feito o posicionamento do oócito, ele deve ser mantido posicionado por leve sucção realizada pela pipeta *Holdin*, o corpúsculo polar é colocado na posição de 6 ou 12 horas (imaginando um relógio), para evitar danos ao fuso. Após posicionamento correto, a pipeta de injeção é colocada próxima à zona pelúcida, às 3 horas, nesse momento é importante assegurar que oócito, a abertura interior da pipeta de *Holdin* e a ponta da pipeta de injeção estejam no mesmo foco. A pipeta de injeção é, então, introduzida vagarosamente, perfurando a zona pelúcida e o oolema (parte interna do oócito), nisto é realizada uma leve sucção para assegurar que o oolema foi perfurado e o espermatozoide é depositado no citoplasma delicadamente, esta leve aspiração do citoplasma consiste em uma parte importante da ICSI, pois é um processo essencial para a ativação do oócito (LIMA, 2021).

Figura 4- Procedimento de ICSI

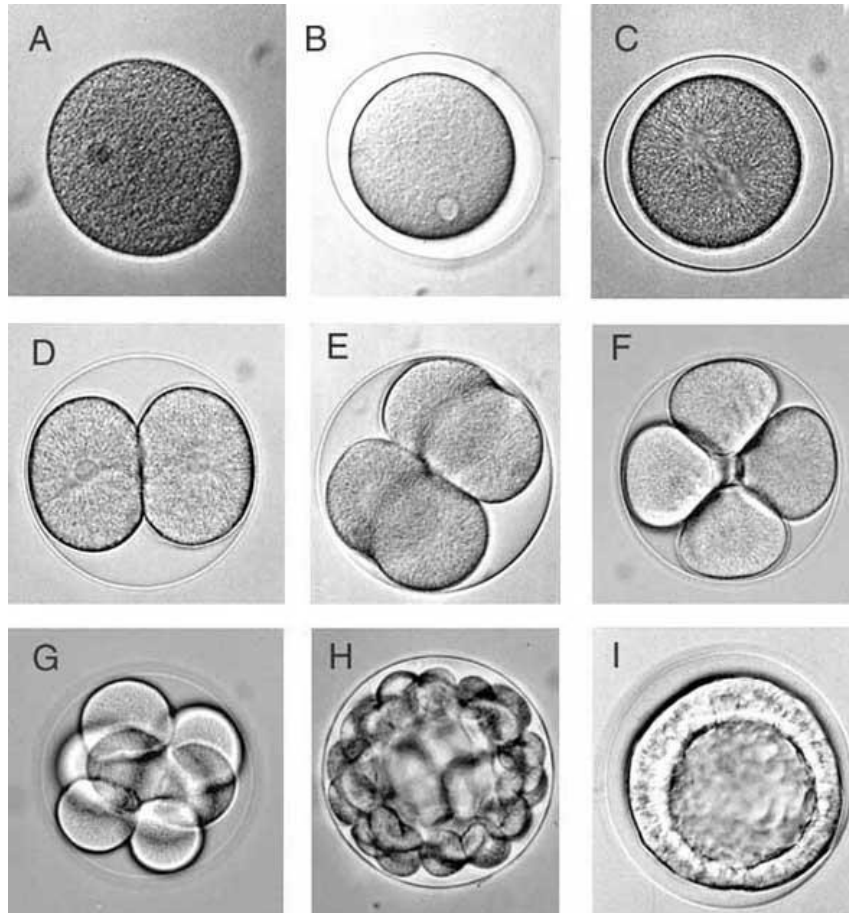


Fonte: Adaptado de Lima, 2021. **Etapa I-** Um único espermatozoide é imobilizado mecanicamente, com uma batida na cauda usando a micropipeta de injeção **Etapa II-** A cauda é aspirada primeiro para dentro da pipeta de injeção. **Etapas III e IV-** O primeiro corpúsculo polar é colocado na posição de 6 ou 12 horas, dependendo da posição da abertura da agulha de injeção. O oócito é fixado com uma pequena pressão exercida pela micropipeta de sucção. O espermatozoide é injetado dentro do ooplasma com a micropipeta na posição de 3 horas.

Após os procedimentos anteriormente descritos os oócitos são colocados em cultura nas incubadoras, a verificação da fertilização é feita entre 16 e 18 horas após a ICSI e é considerada normal quando são visualizados dois corpúsculos polares e dois pronúcleos, 24 horas após a avaliação da fertilização, verifica-se a clivagem embrionária, nesse estágio é importante observar o número de células do embrião, o tamanho e a simetria dos blastômeros (simétricos ou assimétricos) e o índice de fragmentação, podendo assim estabelecer uma possível transferência embrionária que poderá ser realizada no segundo (48 horas após a realização da ICSI), no terceiro (72 horas) e no quinto dia (120 horas), a fertilização é considerada normal quando são

visualizados dois corpúsculos polares e dois pronúcleos (figura 5), os embriões excedentes são preparados para serem congelados e armazenados em nitrogênio líquido (DONADIO, 2021).

Figura 5- Desenvolvimento embrionário



Fonte: Adaptado de Brasil, 2020. **A-** oócito antes de ser fecundado pelo espermatozoide; **B-** Representa o oócito que acabou de ser fertilizado; **C-** Início do desenvolvimento do embrião; **D-** Representa um embrião 24 horas após a fertilização (estágio de 2 células); **E e F-** Representam o embrião 48 horas após a fertilização (estágio de 4 células); **G-** Representa o embrião 72 horas após a fertilização (estágio de 8 células); **H-** Embrião já compactado, no estado chamado de mórula; **I-** Embrião no quinto dia de desenvolvimento (blastocisto).

Os processos de fertilização *in vitro* e injeção intracitoplasmática de espermatozoide, podem ser divididos em fases, sendo elas, estimulação da oocitação, punção folicular, transferência dos embriões, suporte da fase lútea, ambos os processos possuem técnicas auxiliares para garantir a qualidade do embrião. O que difere as duas técnicas é no momento da manipulação dos gametas para o processo de fertilização (PEREIRA, 2021).

Estes procedimentos possuem algumas etapas essenciais, comentando rapidamente sobre cada uma delas entendermos melhor todo o processo:

- **Estimulação da oocitação:**

Por mais que seja possível a obtenção de um folículo a partir de um ciclo espontâneo, ou seja, sem a estimulação da oocitação controlada, é aconselhável realizar a estimulação, para desenvolver os folículos até torná-los maduros e conseqüentemente aumentar o número de oócitos obtidos (CAMBIAGHI, 2019).

Para a estimulação da oocitação, existem dois protocolos, os longos que envolvem o início de medicamentos no ciclo menstrual antes do ciclo de fertilização *in vitro*, isso pode ser feito com um agonista ou antagonista da Gonadotrofina (GnRH), mas geralmente os agonistas (GnRHa) são preferidos aos antagonistas de GnRH para este protocolo, e o outro são os protocolos curtos, onde os medicamentos são iniciados no momento do ciclo menstrual natural, a estimulação será alcançada com gonadotrofinas menopáusicas humanas (hMG) ou Hormônio Folículo-estimulante (FSH) e a oocitação espontânea é bloqueada com GnRHa ou com um antagonista de GnRH, neste protocolo são preferidos os antagonistas de GnRH (ROCHA, 2021).

Conforme a figura 6, o processo terá início no dia da menstruação a mulher e dura cerca de 14 dias, durante os quais exames ultrassonográficos são realizados de três a quatro dias para avaliar o número e desenvolvimento folicular, visando a adequação das doses e momento ideal da aplicação da Gonadotrofina coriônica humana (hCG), cerca de 34 a 36 horas antes da aspiração oocitária. Espera-se que os folículos sejam de tamanhos maiores ou iguais a 18 ao final deste processo (CAMBIAGHI, 2019).

Figura 6- Processo de estimulação oocitária



Fonte: Cambiaghi, 2020. Bloqueio iniciado no 21º dia do ciclo do ciclo anterior, estimulação ovariana por meio de medicação injetável. Após 7 a 15 dias de medicação a paciente deverá menstruar, ultrassom transvaginal deve ser realizado no 2º ou 3º dia da menstruação, caso exames confirmem o bloqueio total dos ovários e dos hormônios do seu organismo, a estimulação poderá ser iniciada.

- **Punção folicular**

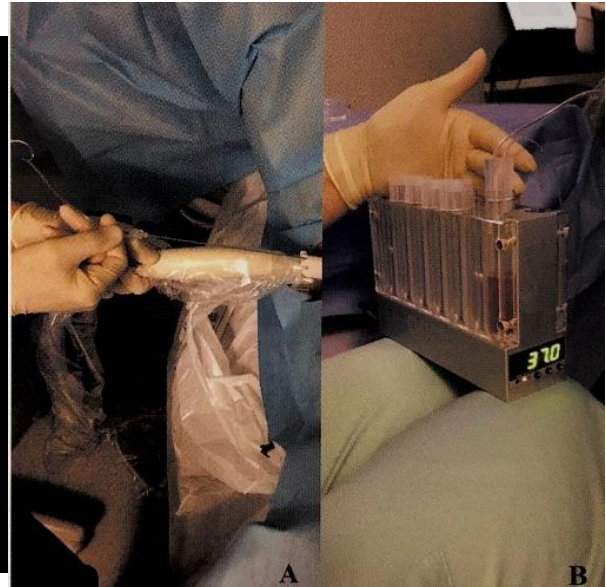
A coleta de oócitos é realizada após 34 a 36 horas após a administração do hCG, sob sedação ou anestesia, por via transvaginal, guiada por ultrassom para captação oocitária. (DONADIO, 2021). Com a paciente já anestesiada é dado o início no procedimento da aspiração folicular e para captura de oócitos com sistema de vácuo (figura 7), realizado com uma agulha especial fixada ao transdutor vaginal e acoplada a um sistema fechado de aspiração, que permite, pela parede vaginal atingir os ovários, esvaziar os folículos e obter o líquido Intrafolicular aspirados em tubos. (ERBERELLI, 2021).

Figura 7- Sucção dos folículos

I -



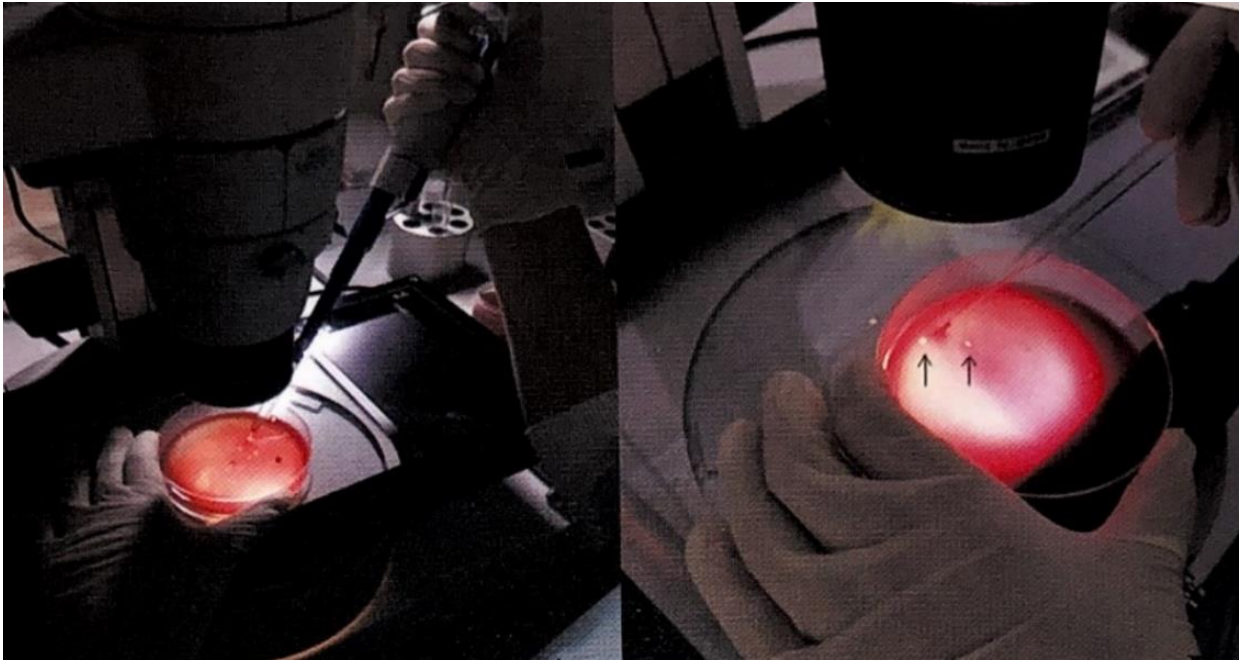
II -



Fonte: Adaptado de Herberelli et al., 2021. I- Representação em 3D do ovário para a aspiração folicular; II- A- Aspiração folicular é guiada por ultrassom transvaginal, utilizando sistema a vácuo, o líquido é aspirado por uma agulha acoplada ao guia no transdutor vaginal; B- A pressão negativa é controlada por um equipamento com calibração centrificada, onde é inserida manualmente a força necessária para a sucção.

Ao final da aspiração retiram-se o transdutor e a agulha, finalizando o procedimento e o material sendo enviado ao laboratório para análise do líquido folicular (figura 8), o líquido despejado em placa de Petri para a checagem e localização de oócitos rodeados pelas células granulosas chamados de complexo *cumulus-oophorus* (figura 9) (ERBERELLI, et al., 2021).

Figura 8– Líquido folicular



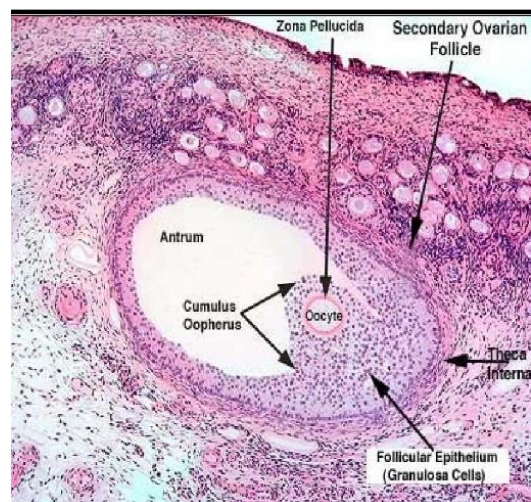
Fonte: Herbenelli et al., 2021. Líquido aspirado é despejado e analisado sob estereomicroscópio, quanto à presença do complexo *cumulus oophorus* (seta - figura B) que seriam os oócitos circundados por células da granulosa. Cada oócito encontrado é retirado por pipeta pasteur de vidro estéril (B) ou por pipetador-ponteira estéril (A), dependendo do protocolo.

Figura 9- *Cumulus- oophorus*, visão macro e microscópica

A



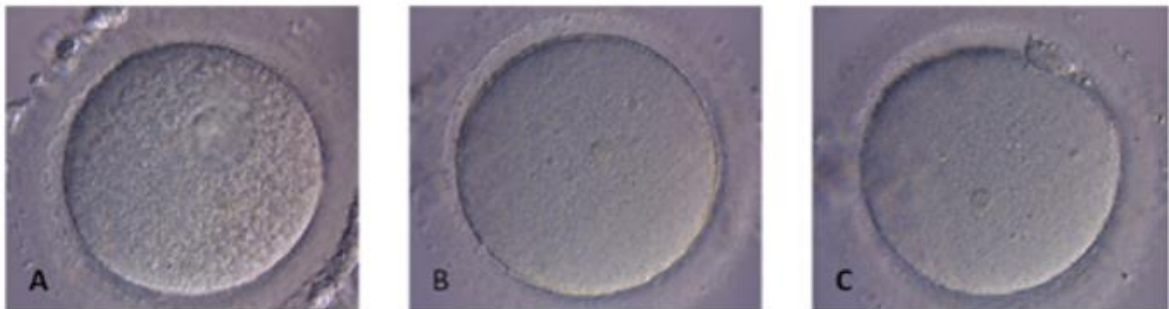
B



A - Fonte: Donadio et al., 2021. Placa de reconhecimento com MHM e óleo contendo vários complexos *cumulus- oophorus* no poço central; **B** - Fonte: Rijdsdijk, 2005. Ilustração de oócito em metáfase II dentro do folículo maduro.

Os tubos com líquido folicular são recebidos no laboratório e seus conteúdos são colocados em uma pequena placa de Petri estéril plástica. Os oócitos serão identificados e classificados quanto à maturidade (Metáfase I, Metáfase II e Prófase) (figura 10) (RUÍZ, 2020). Em Prófase, eles possuem um núcleo relativamente grande chamado de vesícula germinativa, e um arranjo cromossômico diploide ($46n$), a meiose é reiniciada e a estrutura do núcleo alterada, a membrana nuclear desaparece, os cromossomos migram para a periferia e ocorre a extrusão do primeiro corpúsculo polar, que contém a metade dos cromossomos ($23n$), tornando-se metáfase II, este processo é denominado de maturação nuclear do oócito. A formação do primeiro corpúsculo polar é um fator prognóstico e revela que o gameta possui completa maturação nuclear para a realização da fertilização. Logo após a classificação são colocados em meio de cultura previamente preparado e estabilizado, onde permanecem dentro das incubadoras até o momento da fertilização (ALBUQUERQUE, 2021).

Figura 10- Classificação oocitária



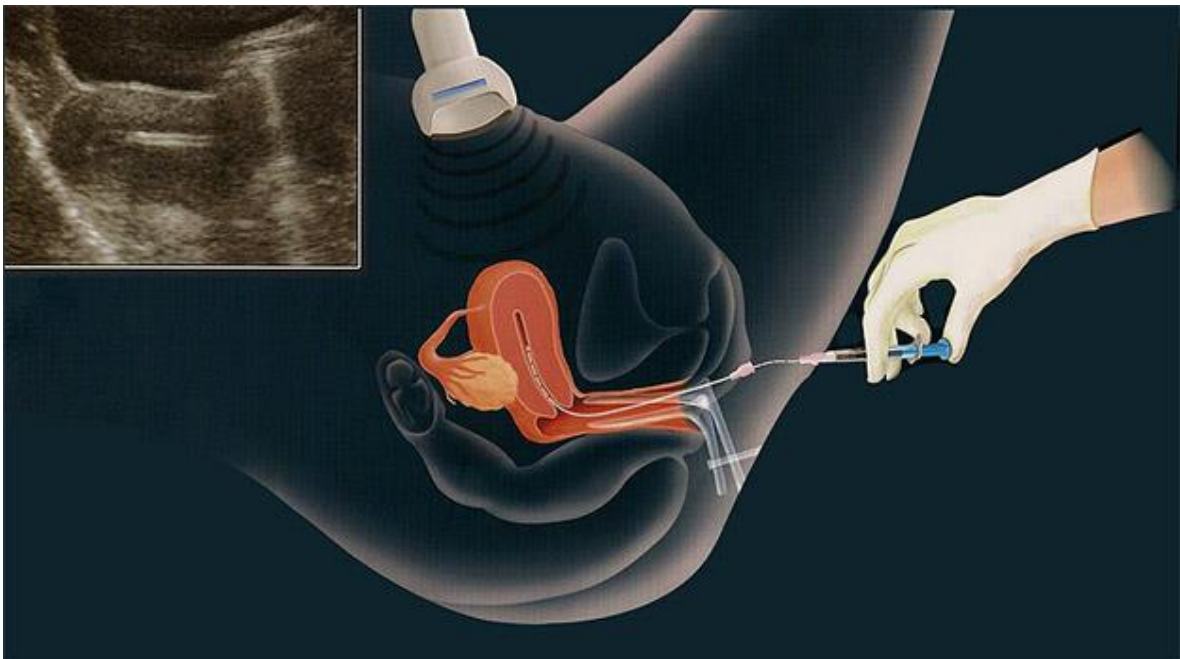
Fonte: Leon, 2017. Oócitos maturados *in vitro* em diferentes estágios; A – Oócito em prófase contendo vesícula germinativa; B – Oócito em Metáfase I; C – Oócito em Metáfase II com presença do corpúsculo polar.

- **Transferência de embriões**

A transferência dos embriões pode ser feita de D+ 2 até D+ 7 (dias de evolução embrionária) (figura 11), mas também pode ser feita transferência depois de semanas, meses ou anos, se realizada a criopreservação dos embriões. (FUJII, et al., 2021)

Neste procedimento é utilizado um cateter de transferência, que será carregado com os embriões, junto com a Inteligência Artificial aplicada para a classificação e seleção do melhor. O cateter deve ser posicionado no interior da cavidade uterina, procedimento acompanhado pela ultrassonografia pélvica. Uma vez posicionado, injetam-se os embriões, delicadamente, mantendo-se o êmbolo pressionado durante alguns segundos, até a retirada do cateter o que evita o retorno dos embriões ao cateter. No 12º dia após a transferência é realizada o exame de Beta do hCG, para o diagnóstico de positividade de gravidez ou não. (FUJII, et al., 2021).

Figura 11- Transferência embrionária



Fonte: Cambiaghi, Leão, 2020. Simulação da inserção do cateter no endométrio da mulher no momento da transferência.

- **Suporte da fase lútea**

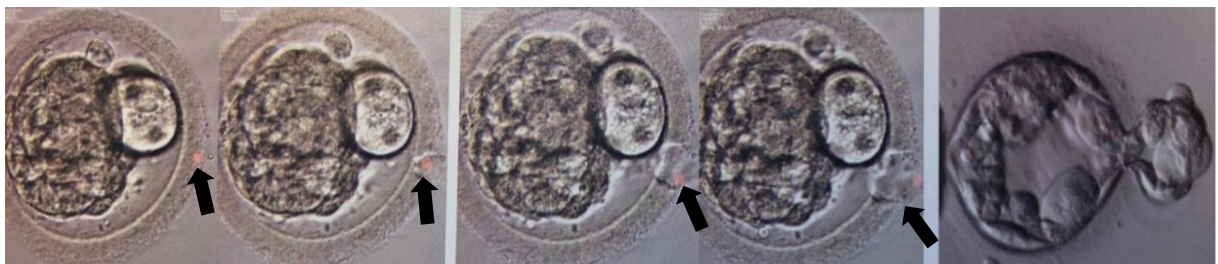
Em raros os ciclos com uso dos agonistas do GnRH α na fase lútea, podem ocorrer falhas nas produções de Progesterona de Estradiol, por conta dessas falhas hormonais, a progesterona plasmática pode cair em níveis mínimos o que pode causar uma descamação e sangramento endometrial, por conta disto é recomendado um suporte hormonal para manutenção dos níveis. (DONADIO, 2021)

4.1.3 Técnicas auxiliares à ICS

- ***Assisted Hatching***

O procedimento do *Assisted Hatching* (AH) foi introduzido no final de 1980. Com o decorrer do tempo foi-se observado que os pré-embriões que se desenvolviam após a PZD (dissecção parcial da zona pelúcida) possuíam algo que aumentava as taxas de implantação, então surgiu a ideia de se criar um furo artificial na zona pelúcida antes da transferência intrauterina. Esta técnica (figura 12) pode ser realizada nos embriões em qualquer estágio de clivagem, de duas células até blastocisto, ainda não sendo definido o melhor estágio celular de desenvolvimento. A maioria dos grupos realiza o procedimento no dia da transferência intrauterina, pode ser realizada tanto com o ácido de Tyrode's, quanto com o laser. (LAMOUNIER, 2021).

Figura 12- Técnica de *Assisted Hatching*



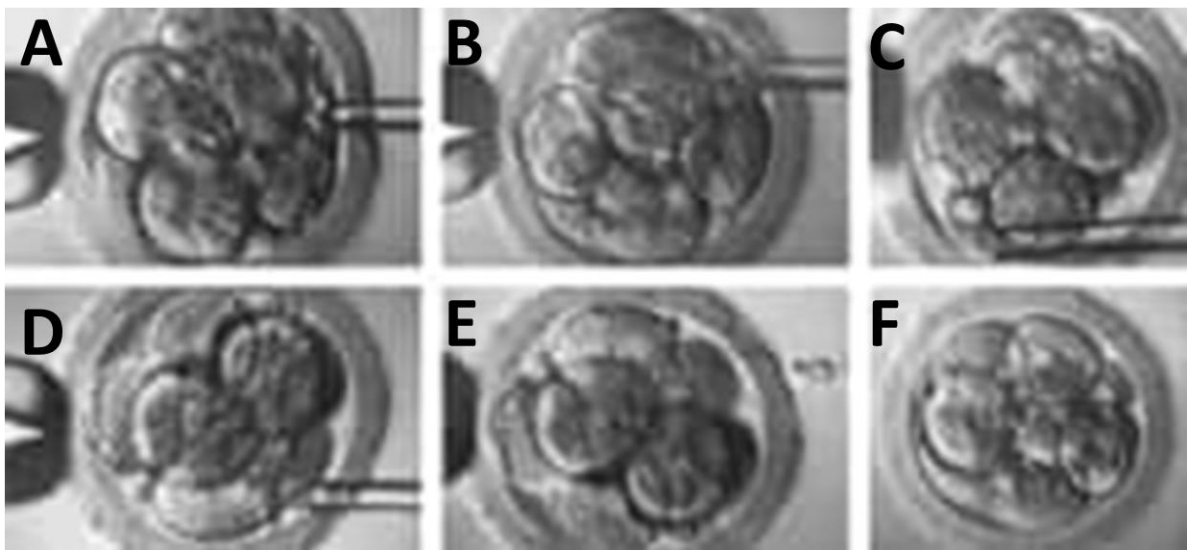
Fonte: Lamounier, Gomes, Guimarães, 2021. Sequência de utilização do laser para *Assisted Hatching* indicadas pelas setas, realizada em blastocisto para a transferência, para aumentar a taxa de gestação em mulheres com idade avançada, bem como para elevar a chance de implantação.

- **Remoção de fragmentos dos embriões**

As fragmentações citoplasmáticas são componentes da membrana do citoplasma que foram expelidos das superfícies dos oócitos fertilizados e blastômeros dos pré-embriões. Os pré-embriões com excessiva fragmentação (>20%) têm uma taxa de implantação mais baixa do que aqueles sem fragmentação, são vários os fatores que podem ser responsáveis pela formação de fragmentos.

Os Fragmentos de citoplasma podem ser removidos (figura 13), por uma sucção delicada, após a abertura de um furo na membrana que protege o embrião, a zona pelúcida, não há evidências de que a remoção de fragmentos interfere no desenvolvimento dos pré-embriões, desde que realizada de modo adequado, pois este processo beneficia o desenvolvimento dos pré-embriões que possuem excesso de fragmentação.

Figura 13- Remoção de fragmentos



Fonte: Adaptado Brasil, 2018. Sequência de remoção de fragmentos em um embrião. Em A vemos a micropipeta atravessando a zona pelúcida para retirar os fragmentos. Em B e C pode-se notar a seleção dos fragmentos a serem removidos. Em D ocorre a extração da micropipeta de dentro do embrião com todos os fragmentos que foram removidos. Em E observa-se o embrião novamente em cultivo e sem fragmentos.

4.2 INTELIGENCIA ARTIFICIAL APLICADA EM ESPERMATOZOIDES

O uso da Inteligência Artificial vem sendo estudada para aplicação na análise de espermatozoides para avaliação espermática, motilidade e seleção dos espermatozoides, sendo considerado ainda um sistema de baixo nível para avaliação automática de espermatozoides. A aplicação desta Inteligência tem como foco pacientes com infertilidade masculina, pois um dos problemas são as anormalidades na morfologia. A qualidade espermática é um dos critérios mais importantes para a fertilização oocitária e qualidade embrionária, pois anormalidades no espermatozoide se correlacionam com a morfologia do embrião. Problemas na maturação do espermatozoide causam anormalidades em sua morfologia e na funcionalidade na hora da fertilização no oócito, estudos mostram que há uma correlação positiva entre os resultados de ICSI e morfologia do espermatozoide. (ZANINOVIC; ROSENWAKS, 2020)

A avaliação da morfologia espermática é definida desde antigamente usando os critérios de Tygerberg, definido de acordo com o manual de 2010 da OMS, no qual a cabeça do espermatozoide deve ter forma oval e lisa, o comprimento de uma cabeça de um espermatozoide normal é entre 4 e 5 micrômetros e a largura da cabeça do espermatozoide está entre 2 e 3 micrômetros. Em relação a peça intermediária, ela deve ser delgada, retangular, medindo um e meio do comprimento da cabeça, com 1um de largura axialmente. A cauda deve ser uniforme e mais fina que a peça intermediária, seu comprimento deve ser cerca de dez vezes o da cabeça (aproximadamente 45 micrometros), ela pode apresentar uma volta entre si, desde que não tenha um ângulo agudo que indique quebra na cauda (FEIJÓ et al., 2015). Nos procedimentos de ICSI, os espermatozoides são selecionados nos microscópios de laboratórios, comumente com uma ampliação baixa (entre 400x e 600x) e a avaliação visual dos espermatozóides também é realizada manualmente e baseada apenas no julgamento dos embriologistas, mesmo existindo o método de injeção intracitoplasmática de espermatozóides morfologicamente selecionados (IMSI ou Super ICSI), que tem o auxílio das imagens em alta resolução (ampliação geralmente de 6000x), recurso que permite uma seleção ainda mais apurada dos melhores espermatozoides para a potencial gravidez, já existente nas clínicas de reprodução humana do Brasil. (MIRROSHANDEL, 2018).

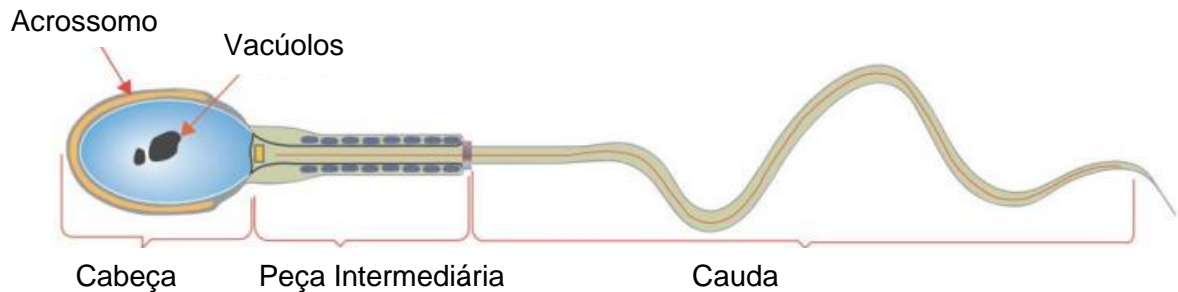
Devido às falhas nas técnicas manuais, as automáticas são estudadas para a implantação essencial na análise da morfológica do espermatozoide humano, estes métodos de seleção dos melhores espermatozoides durante o processo de ICSI serão mais desejáveis para os embriologistas, o que levará a taxas mais altas de fertilização e gravidez. Projetar algoritmos eficientes e precisos para análise e classificação de espermatozoides e selecionar o melhor antes da ICSI é uma tarefa desafiadora e de tendência. (Kelleher, 2019).

Em um estudo realizado por Soroush Javadi e colaboradores, em 2019, eles propuseram um novo algoritmo de aprendizado, baseado em aprendizados de máquina para detectar anormalidade na morfologia espermática, onde foi treinada uma Rede Neural Artificial Profunda (ou Deep Learning, é uma sub-área da aprendizagem de máquina, que emprega algoritmos para processar dados e imitar o processamento feito pelo cérebro humano, o aprendizado profundo é baseado no conceito de redes neurais artificiais, ou sistemas computacionais) para classificar as imagens de espermatozoides em normais (positivas) ou anormais (negativas), para diferentes características morfológicas.

A primeira etapa deste estudo foi introduzir um novo conjunto de dados, que é composto por imagens (tiradas dos dados disponíveis na internet *Human Sperm Morphology Analysis (HSMA-DS)*), que foram manualmente marcadas a posição da cabeça dos espermatozoides e usaram destas marcações como centros para recortar as imagens em imagens menores, chamado de *Modified Human Sperm Morphology Analysis (MHSMA)* para o aprendizado das Redes Neurais Artificiais Profundas. A versão do HSMA-DS utilizada contém cerca de 1.540 imagens em escalas de cinza, cada uma destas imagens captura um único espermatozoide (JAVADI, 2019). Especialistas rotularam essas imagens por acrosomo dos espermatozoides, normal (positivo) ou anormal (negativo), no caso dos vacúolos, as classes positivas e negativas são consideradas como ausência e presença deles, cabeça, cauda e pescoço, compondo assim o conjunto de dados MHSMA. Foram selecionadas aleatoriamente e embaralhadas, 240 imagens como conjunto de validação e 300 imagens como conjunto teste, as 1.000 restantes formam o conjunto de treinamento. Dentre essas imagens apenas 69 deram anormalidade para cauda e pescoço, mesmo esta detecção sendo fácil para os embriologistas e a detecção de anormalidades na cabeça (figura 15) do espermatozoide mais complicada, para tais conjunto de dados,

a maioria dos classificadores é tendencioso para a classe majoritária, ou seja, normal, mostrando baixa precisão na classe minoritária (anormal) (SHAKER, 2017).

Figura 14- Morfologia espermática



Fonte: Javadi, 2019. Diagrama de uma célula espermática humana, indicando os três rótulos importantes que serão utilizados para a detecção de anormalidade (cabeça, acrossomo e vacúolo).

Para combater esse problema de desequilíbrio nas classes, os pesquisadores treinaram o modelo de Rede Neural usando minilotes balanceados gerados a partir do conjunto de treinamento já citado antes, composto pelas 1.000 imagens das 1.540 (minilote é um pequeno lote de amostras de treinamento usado para calcular o erro do modelo). Para criar um minilote equilibrado eles empregaram o método de subamostragem, que funciona da seguinte forma: Amostras de treinamento positivas e negativas são mantidas em duas listas separadas, para adicionar uma amostra a um minilote, uma das listas é escolhida aleatoriamente e a amostra no topo dessa lista é selecionada para ser adicionada ao minilote. Depois que todas as amostras em uma lista forem usadas, a lista será embaralhada novamente, usando este método, as classes em cada minilote serão balanceadas, independentemente da distribuição real das amostras. (MIRROSHANDEL, 2018)

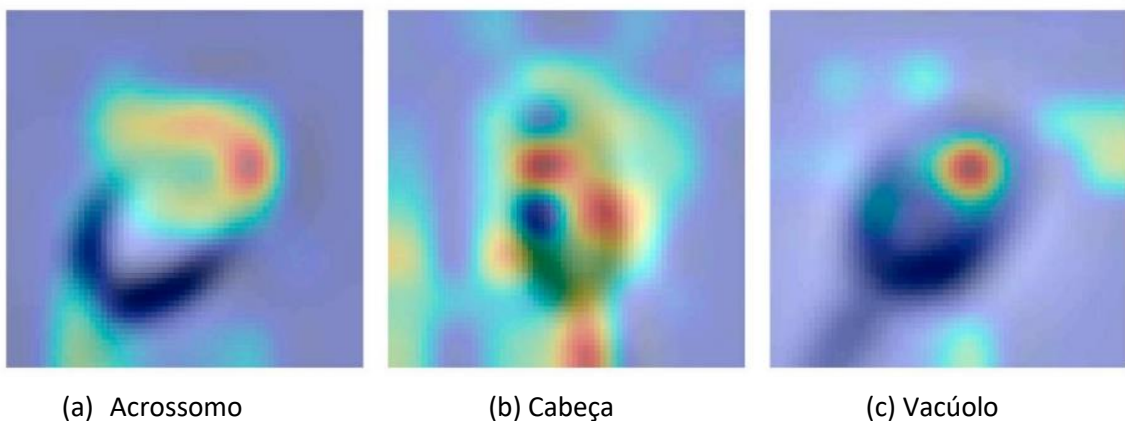
Os parâmetros da Rede Neural artificial são ajustados de forma que o modelo mapeie a entrada da imagem de um espermatozoide a um rótulo (normal ou anormal), conforme o número de parâmetros aumenta a rede neural precisa de mais exemplos de treinamento para ser ajustada adequadamente aos parâmetros, mesmo o MHSMA sendo o maior conjunto de dados disponível neste campo de estudo, coletar imagens de espermatozoide humano é uma tarefa muito difícil e cara. Para combater o problema da escassez de exemplos de treinamento, os pesquisadores empregaram uma técnica de aumento de dados, que funciona da seguinte forma: Antes de

alimentar a rede com imagens, eles extraem um corte das imagens processadas com várias modificações aleatórias (girando, aumentando o brilho, recortando), mas evitando distorcer muito a imagem para poder manter as características morfológicas do espermatozoide (JAVADI, 2019).

Todos estes treinamentos são feitos nas três partes, cabeça, vacúolo e acrossomo, porém a única exceção é que para o vacúolo não é utilizado o método de subamostragem. Para o acrossomo e a cabeça do espermatozoide este método melhora a exatidão/ precisão, ao mesmo tempo em que prejudica a recuperação, porém a precisão é muito mais importante do que a recuperação, sendo uma compensação aceitável. (SHAKER, 2017).

Um mapeamento de ativação de classe ponderado por gradiente (Grad CAM) (figura 16) foi empregado na Rede Neural para gerar explicações visuais, ou seja, visualização de regiões das imagens de entrada que são "importantes" para as previsões da morfologia, isso irá ajudar a entender melhor os modelos de classificação de imagens. A figura 15 mostra explicações visuais de algumas amostras que foram classificadas corretamente pela máquina. Essas explicações visuais mostram que os modelos realmente aprenderam a prestar atenção às regiões (acrossomo, cabeça e vacúolo dos espermatozoides) da imagem que são realmente importantes para a tarefa de classificação. (GHASEMIAN, 2015)

Figura 15- Gram-CAM



Fonte: Javadi, 2019. Explicações visuais Grad-CAM para **a-** acrossomo; **b-** cabeça; **c-** vacúolo, cores mais quentes, ou seja, vermelho e laranja, indicam mais atenção por conta de uma possível alteração a morfologia, que não é vista normalmente em um microscópio tradicional do laboratório.

Neste método de aprendizado da Rede Neural Artificial uma das principais características é a capacidade de trabalhar com imagens que foram não coradas para a avaliação em microscópios de baixa ampliação, este método é capaz de processar cada imagem de espermatozoides em tempo real (em menos de um segundo), sendo desejável nas aplicações de tratamentos de infertilidade masculina. Conforme mencionado anteriormente, a posição da cabeça do espermatozoide em cada imagem é marcada manualmente como o primeiro passo na preparação dos dados. Para ter um sistema totalmente automático para avaliação de imagens de espermatozoides humanos, esta etapa também deveria ser automatizada, embora o método proposto não resolva esse problema, o conjunto de dados introduzido fornece uma oportunidade para desenvolver tal sistema, tópico que ainda está sendo trabalhado para ser empregado futuramente. (JAVADI, 2019).

A extração de características morfológicas da peça intermediária e da cauda é outra tarefa importante que ainda não foi desenvolvida, tendo seus testes muito pioneiros ainda, como dito, comparando com a análise de cabeça, vacúolo e acrossomo, esses dois problemas são tarefas mais fáceis. Além disso, este método não pode medir a motilidade de cada espermatozoide, pois o objetivo proposto é a análise morfológica dos espermatozoides a partir de imagens, não de vídeos, mesmo a motilidade sendo um parâmetro importante para medir a qualidade de cada espermatozoide. (MIRROSHANDEL, 2018). Semelhante com o método da Rede Neural Artificial para a análise morfológica do espermatozoide, existe o método SMA, que também é capaz de trabalhar com espermatozoides humanos não corados em tempo real com um microscópio de baixa ampliação (400 x e 600 x) e pode ser usado no processo de ICSI, mas o método aqui proposto utiliza de algoritmos de aprendizado profundo totalmente automático, ele precisa apenas de um conjunto de dados (imagens como entrada) e todo o processo a seguir será feito automaticamente, sem qualquer intervenção humana. Um método de aprendizado profundo de Redes Artificiais Neurais para selecionar os melhores espermatozóides no procedimento ICSI foi apresentado como uma forma de melhorar a seleção de espermatozoides a partir da morfologia. (JAVADI, 2019).

Foi preparado um conjunto de dados exclusivo que contém 1.540 imagens de diferentes tipos de espermatozoides (conjunto de dados está disponível gratuitamente ao público). Este é um modelo de aprendizado compacto e preciso para classificação

de espermatozoides, ele extrai características de acrossomo, forma da cabeça e vacúolo de imagens de esperma, na maioria dos estudos já realizados anteriormente, utilizavam de espermatozoides que foram fixados e corados em lamina e fotografados, esses espermatozóides não são úteis para fins de tratamento no procedimento de ICSI, por isso este método seleciona os melhores espermatozóides frescos, que poderão ser usados no procedimento, ele também possui a capacidade de trabalhar com baixas ampliações (400 x e 600 x) e imagens com ruído, conseguindo medir o nível de acrossomo na cabeça do espermatozoide, uma vez que o tamanho e a forma do acrossomo são particularmente importante para a ligação do espermatozoide ao oócito. (MIRROSHANDEL, 2018)

4.3 Inteligência Artificial aplicada em Embriões

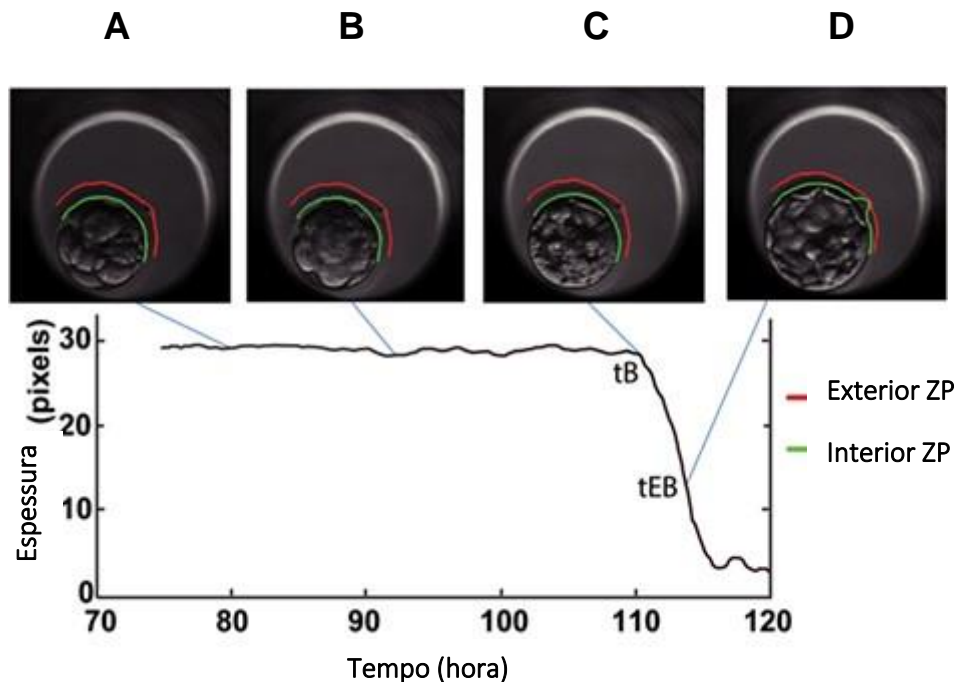
No setor da embriologia, visam aplicar a Inteligência Artificial para algumas funcionalidades, como: automática do desenvolvimento do embrião (estágios celulares e ciclos celulares), classificação do embrião (principalmente no estágio BL) e seleção do embrião para implantação. O uso de sistemas de monitoramento de lapso de tempo (Time-Lapse ou TLM), podem trazer eficácia no ambiente laboratorial, pois eles permitem a anotação contínua e dinâmica do desenvolvimento do embrião individual, mantendo-se as condições ideais de cultura (temperatura, ph e gás das incubadoras). Os dados gerados pelo sistema de TLM são chamados de parâmetros morfocinéticos, pois combinam características morfológicas e avaliação cinética do desenvolvimento do embrião. Essa tecnologia visa correlacionar características morfológicas e parâmetros cinéticos, como o tempo de clivagens celulares ou intervalos e com o potencial de implantação do embrião, com a avaliação precisa do tempo das divisões celulares, o embriologista pode anotar o tempo preciso de cada evento de clivagem, processo este que em muitos laboratórios ainda é feito manualmente, o que conseqüentemente depende de muita precisão, experiência e capacidade de cada embriologista, para que ele consiga distinguir entre os eventos característicos sendo elas normais e/ou anormais (fragmento x célula) do desenvolvimento do embrião (PORTELA, 2021).

Mesmo com o sistema de *Time-lapse*, sendo eficaz, ainda ocorre a interferência humana, por conta disto o sistema de anotação automática deve atender requisitos,

sendo eles: rapidez, precisão, reprodutividade e especificidade, ou seja, esse sistema precisa ser capaz de fazer o que é feito manualmente, distinguir uma célula de um fragmento, devem reconhecer desenvolvimentos celulares anormais como clivagens desiguais, devem incluir a capacidade de distinguir características morfológicas do embrião (tamanho irregular, vacúolos, granularidade), bem como anormalidades nucleares (blastômeros multinucleares) (ZANINOVIC, 2021). Em um estudo realizado em 2020, nos Estados Unidos, foi feito um levantamento com 10 embriologistas, mostrando um grau muito alto de variabilidade na classificação de embriões humanos para biópsia e congelamento, as máquinas de IA aprendem a partir de um conjunto de imagens de embriões, chamados de conjunto de treinamento, que foram avaliadas e classificadas por embriologistas. Mesmo as máquinas aprendendo a partir do que é fornecido pelo humano, algoritmos treinados baseados em IA conseguem superar a avaliação e seleção humana. (BORMANN, 2020).

Por meio de estudos e pesquisas feitas por Feyeux, alcançou-se a anotação automática de classificação dos embriões até o estágio de Blastocisto (BL), usando uma ferramenta de segmentação para quantificar a espessura da zona pelúcida e assim identificar a expansão do BL, sendo classificado como, mórula totalmente compactada (tM), o início de cavitação (tSB), blastocisto (tB), ou seja o último quadro antes da ZP começar a diminuir e blastocisto expandido (tEB), quando a zona pelúcida é 50% mais fina do que no início do processo de clivagem. O pipeline ou segmentação de instruções -técnica de implementação de processadores que permite a sobreposição de diversas fases de execução das instruções técnicas, ou seja, permite que a CPU realize a busca de uma ou mais instruções além da próxima a ser executada- de anotação automática, possui como entrada os vídeos 2D gerados pelo TML, este pipeline consiste em duas etapas, a de pré-processamento e a de anotação automática (processamento), a primeira constitui-se na extração de metadados e regiões de interesse (ROI), para a medição destas regiões é extraído automaticamente do primeiro quadro (poço onde a célula embrionária é detectada), sua posição é rastreada ao longo do tempo por correlação cruzada de imagem, a fim de corrigir qualquer desvio. (FEYEUX,2021).

Figura 16- Medida de espessura da Zona Pelúcida

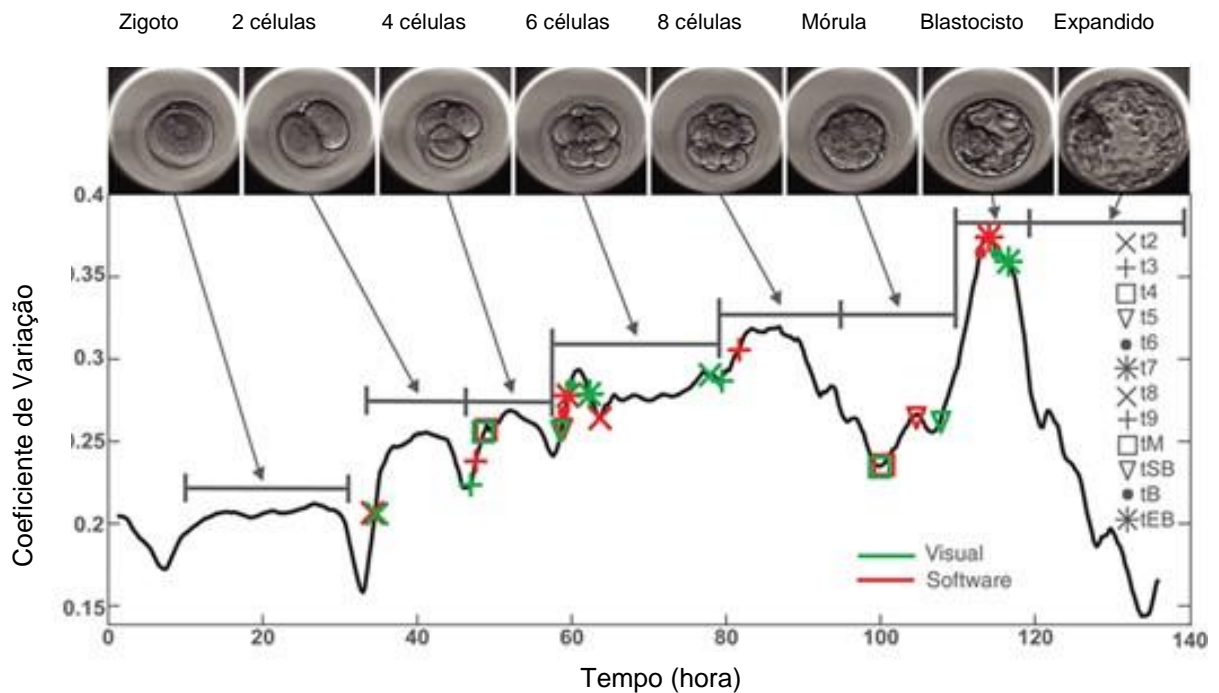


Fonte: Zaninovic, 2020. Ilustração representativa da medição da espessura ZP do embrião humano, linhas verdes indicam a parte interna da ZP e as vermelhas, parte externa, conforme a evolução do desenvolvimento embrionário, **a**- embrião em dia 3 do desenvolvimento com cerca de 7 células, **b**- início de cavitação, **c**- Blastocisto e **d**- Blastocisto expandido, é perceptível a diminuição da zona pelúcida, nos estágios de tB e tEB, sendo Blastocisto expandido o estágio com menor espessura, indica pelo gráfico Espessura da zona x Tempo.

Já a etapa de processamento pode ser dividida em duas tarefas, a primeira que permitiu uma detecção de tB e tEB, a ZP foi segmentada por um método automático que consiste em separar uma imagem, em regiões de interesse e não interesse pela escolha de um ponto, podendo assim identificar a ZP interna e externa e consequentemente, rastrear sua espessura ao longo do tempo. A segunda tarefa consiste na identificação de tempos anteriores a Blastocisto expandido e Blastocisto, ou seja, tempos exatos de clivagem, tM e tSB, para a detecção desses tempos foi medido o coeficiente de variação (CV) da intensidade dos níveis de cinza na ROI do embrião, fornecendo assim uma curva de variação ao longo do tempo (figura 18), baseada em curvas de referência (desenvolvimento embrionário regular e ideal, sem fragmentação, sem variação de luminosidade e sem deslocamento da posição do embrião), o diferentes estágio-chave (Zigoto, 2 células, 4 células, 6 células, 8 células,

Mórula, Blastocisto e Blastocisto expandido) do desenvolvimento embrionário são derivados desta curva (ZANINOVIC, 2021).

Figura 17- Evolução do coeficiente de variação



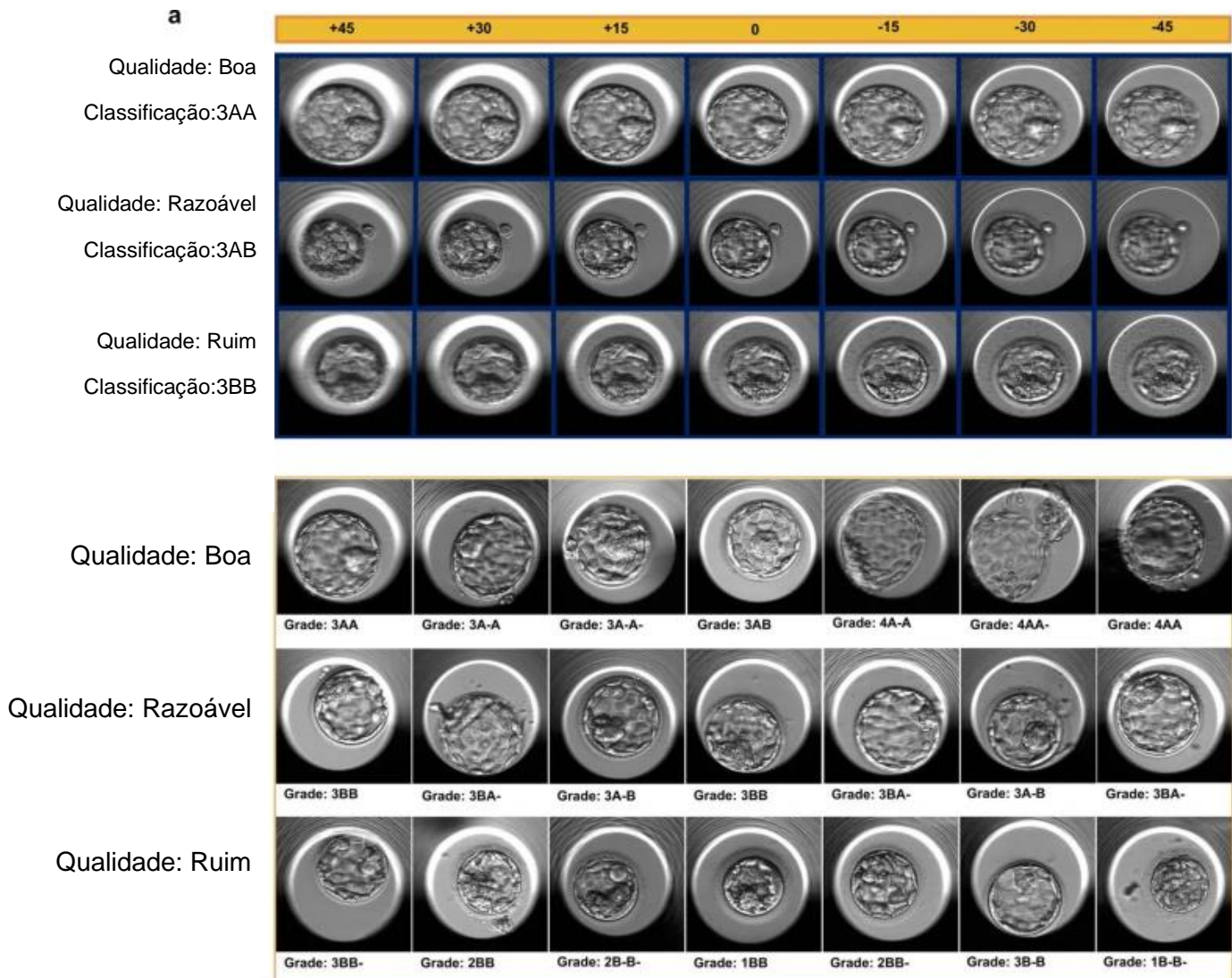
Fonte: Zaninovic; Rosenwaks, 2020. Ilustração representativa da evolução do coeficiente de variação do nível de cinza ao longo do desenvolvimento do embrião humano, desde a fertilização, como zigoto, até o estágio de blastocisto expandido (ampliação de 40x). O gráfico mostra a análise em cada estágio de clivagem representados por asteriscos de t2 até tEB, fazendo uma comparação da análise visual pelo embriologista (verde) e pelo *software* que foi desenvolvido (vermelho), mostrando justamente a diferença na análise humana e mecânica.

Porém um método criado por Khosravi outros pesquisadores, se concentra na classificação da qualidade do blastocisto humano com base em características específicas, como a área de massa celular interna (ICM), área do trofotoderma (TE) e espessura da zona pelúcida (assim como Feyeux, porém medindo e classificando de outro modo). Ele busca usar o aprendizado profundo para prever com precisão a qualidade dos blastocistos e ajudar a selecionar o melhor embrião para a transferência, serão utilizadas redes neurais artificiais convolucionais, que ao contrário das redes neurais artificiais regulares, estas redes contêm neurônios organizados em

três dimensões (largura, altura e profundidade) e alcançam uma classificação altamente precisa de embriões (KHOSRAVI, 2021).

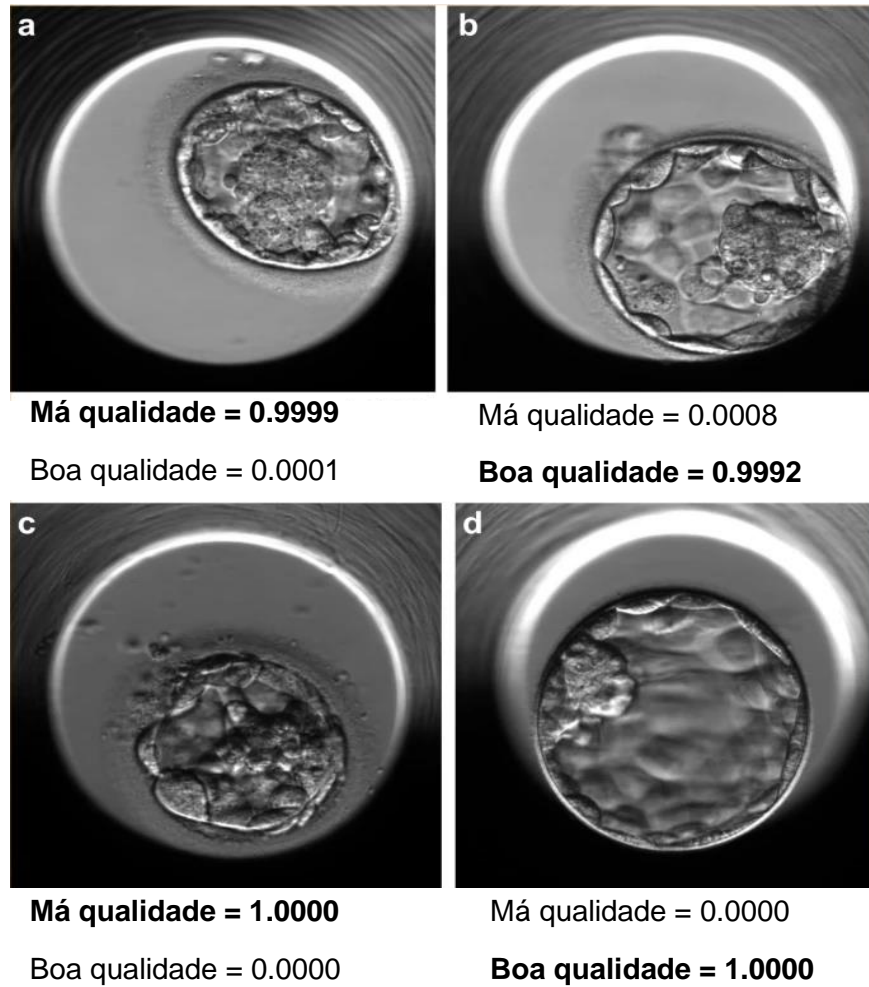
Para este método são usadas 12.001 imagens de TML após o pré-processamento e remoção das imagens com problemas de legibilidade, de 10.148 embriões, obtidas do Centro de Medicina Reprodutiva de *Well Cornell Medicine* para treinar e validar as redes neurais, será feita uma classificação em três grupos principais de qualidade: boa qualidade, qualidade razoável e qualidade ruim, em seguida o algoritmo é treinado usando apenas dois dentre os três grupos de qualidade (boa e baixa qualidade), acabado o treinamento, será feito uma avaliação do desempenho do algoritmo desta rede neural, utilizando um método chamado de *STORK*, que classificara imagens aleatoriamente selecionadas em boa e baixa qualidade, o que foi comprovado de que o algoritmo treinado é capaz de fazer essa identificação com 96,94% de precisão, pois com a análise a maioria das imagens do mesmo embrião foram previstas como boa qualidade, em um grupo de 640 imagens de embriões de qualidade razoável, *STORK* classificou como 82% de boa qualidade e 18% de má qualidade, o que produziu uma previsão relevante dentro deste grupo de qualidade, os 18% que foram classificados com má qualidade embrionária, tiveram uma probabilidade menor de nascido vivo do que aqueles classificados como de boa qualidade. Mesmo que o *STORK* não possa estimar a taxa de gravidez, ele pode detectar uma associação entre a qualidade do embrião e taxa de gravidez com base na classificação morfológica. O *STORK* supera embriologistas individuais nas seleções dos embriões! (KHOSRAVI, 2021).

Figura 18- Avaliação dos embriologistas



Fonte: Zaninovic; Rosenwaks, 2020. Avaliação dos embriologistas: **a**- Esta figura mostra três exemplos de graus de Veeck e Zaninovich e seus rótulos de qualidade correspondentes em sete profundidades focais. **B**- Os embriologistas avaliam a qualidade do embrião usando um sistema de pontuação interno e subsequentemente os classificam em três grupos principais (boa qualidade, qualidade razoável, qualidade ruim) com base na taxa de gravidez.

Figura 19- Classificação *STORK* vs Embriologista



Fonte: Zaninovic, Rosenwaks, 2020. Classificação *STORK* vs. embriologistas: *STORK* classifica as imagens de boa qualidade em classes existentes de boa e baixa qualidade. Por exemplo, as imagens “A” e “B” são rotulados como 3A-B (qualidade razoável) de acordo com os embriologistas, enquanto a *STORK* os classificou “A” com má qualidade e “B” de boa qualidade, respectivamente. Além disso, as imagens “C” e “D” são rotuladas como 3BB (qualidade razoável) pelos embriologistas.. No entanto, o algoritmo classificou corretamente a imagem “C” como de má qualidade e a “D” como de boa qualidade. Os embriões em “B” e “D” é nascido vivo positivo, enquanto é nascido vivo negativo em “A” e “C”.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atentando no explanado ao longo deste trabalho, há um aumento na taxa de infertilidade tanto nos homens quanto nas mulheres e com os progressos na medicina e avanços na tecnologia, conseqüentemente surgem novas técnicas, como as de inteligência artificial, que foram explicadas. A partir da pesquisa realizada pode-se afirmar que será possível uma anotação totalmente automática em relação aos espermatozoides e embriões, aumentando e melhorando as taxas de fertilização.

É possível verificar que métodos de aprendizado de uma Rede Neural Artificial, à qual consegue trabalhar com imagens em tempo real, analisando a morfologia da cabeça e vacúolo e acrossomo, o que se torna desejável nas aplicações de tratamentos de infertilidade masculina. Mesmo a extração de características morfológicas da peça intermediária e da cauda sendo uma tarefa importante ainda não foi desenvolvida, tendo seus testes muito pioneiros ainda. Em relação à análise morfológica dos espermatozoides a partir de imagens, não de vídeos, mesmo a motilidade sendo um parâmetro importante para medir a qualidade de cada espermatozoide, existem outros métodos muito semelhantes com o apresentado, mas nenhum que trabalhe com imagens em tempo real, igual a este, método utiliza de algoritmos de aprendizado profundo totalmente automático, precisando apenas de um conjunto de dados (imagens como entrada) e todo o processo a seguir será feito automaticamente, sem qualquer intervenção humana, possuindo a capacidade de trabalhar com baixas ampliações (400 x e 600 x) e imagens com ruído, conseguindo medir o nível de acrossomo na cabeça do espermatozoide, uma vez que o tamanho e a forma do acrossomo são particularmente importante para a ligação do espermatozoide ao oócito, selecionando o melhor morfológicamente para a ICSI.

Em relação aos embriões, foi mostrado que a partir da análises de TML, por um sistema desenvolvido de Rede Neural é possível medir a espessura a Zona Pelúcida, fazendo uma classificação correta do estágio em que se encontra o embrião, e o método *STORK*, que consegue classificar as imagens em boa e má qualidade com base em características específicas, como a área de massa celular interna (ICM), área do trofotoderma (TE), a partir de imagens de embriões retirada de um banco, mesmo que este sistema não possa estimar a taxa de gravidez, ele pode detectar uma associação entre a qualidade do embrião e taxa de gravidez com base na classificação morfológica. O *STORK* supera embriologistas individuais nas seleções dos embriões!

A técnica de seleção de embriões que ainda feita manualmente em muitos lugares, infelizmente ocorre muita discrepância entre os embriologistas na checagem e análise, portanto a inclusão destes sistemas, mesmo que ainda pioneiros aqui no Brasil, nos mostram uma melhoria necessária nesta área.

Com isso, é possível afirmar que o uso da Inteligência Artificial na Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides é algo factível e de grandes perspectivas para a área, uma vez que promove uma padronização mais eficiente das técnicas, promovendo assim uma melhora nas taxas de sucesso nessa área.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, Maria; COLLIER, Maria; FUJIHARA, Litsuko; OLIVEIRA, Ticiania. Reprodução Assistida e Genética: Morfologia oocitária. Edição 1, cap. 12, p.141–152. SBRH – Sociedade Brasileira de Reprodução Humana: GeneOne, 2021.

ALEGRETTI, José; ERBENELLI, Renata, JACOBS, Catherine. Reprodução Assistida e Genética: Classificação Morfológica de Pronúcleos. Edição 1, cap. 171, p. 171 – 180. SBRH – Sociedade Brasileira de Reprodução Humana: GeneOne, 2021.

ARNAL, Lorena; VILORIA, Thamara; MESEGUER, Marcos. Reprodução Assistida e Genética: Inteligencia artificial em el Laboratorio de Fecundación *in vitro*. Edição 1, cap. 26, p. 267 – 278. SBRH – Sociedade Brasileira de Reprodução Humana: GeneOne, 2021.

BABAYEV, E. **Man versus machine *in vitro* fertilization-can artificial intelligence replace physicians?. Elsevier- Fertility and Sterility.** Nov, 2020. Disponível em: <[https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(20\)30695-6/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(20)30695-6/fulltext)>. Acesso em: 07 de junho de 2022.

BORI, et. al. **Novel and conventional embryo parameters as input data for artificial neural networks: an artificial intelligence model applied for prediction of the implantation potential.** Fertility and Sterility. Setembro, 2020. V. 114, Cap. 6, p. 1232 – 1241. Disponível em: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(20\)30777-9/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(20)30777-9/fulltext). Acesso em: 0 de mar. de 2023.

BORMANN, Charles; THIRUMALARAJU, Prudhvi; KANAKASABAPATHY, Manoj; KANDULA, Hemanth; SOUTER, Irene; POONIWALA, Rohan; SHAFIEE, Hadi. **Consistency and objectivity of automated embryo assessments using deep neural networks.** Elsevier, Fertility and Sterility. Volume 113, I. 4, P. 781- 787, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.12.004>. Acesso em: 07 de abril de 2023.

CAMBIAGHI, Arnaldo; LOURENÇO, Caroline; SOARES, Katia. **Manual prático de reprodução assistida para a enfermagem - Os cuidados na pesquisa e tratamento da infertilidade**. Brasil. Centro de Reprodução Humana – IPGO, Medicina da Reprodução. Fevereiro, 2021. Disponível em: <https://ipgo.com.br/wp-content/uploads/2021/02/Manual-Pratico-de-Reproducao-Assistida-para-Enfermagem.pdf>. Acesso em: 03 de mar. de 2023.

CURCHOE, Carol; BORMANN, Charles. **Artificial intelligence and machine learning for human reproduction and embryology presented at ASRM and ESHRE 2018**. PubMed Central. Abril, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6504989/>. Acesso em: 03 de mar. de 2023.

DIAS, Paulo. Universidade aberta do Brasil – Ciências Biológicas. Capítulo 3, 2020. Disponível em: https://uab.ufsc.br/biologia/files/2020/08/Capitulo_03.pdf. Acesso em: 24 de abril de 2023.

DONADIO, Nilka, et al. Reprodução Assistida e Genética: Fertilização *in vitro* clássica. Edição 1, cap. 13, p. 25 – 38. SBRH – Sociedade Brasileira de Reprodução Humana: GeneOne, 2021.

ERBERELLI, Renata; ROCHA, Claudia; LOPES, Débora; Wolf, Philip. Reprodução Assistida e Genética: Aspiraço Folicular. Edição 1, cap. 8, p. 113 – 120. SBRH – Sociedade Brasileira de Reprodução Humana: GeneOne, 2021.

FEIJÓ, C. M. et al. Espermograma. In: DZIK, A. et al. Atlas de reprodução humana. São Paulo: Segmento Farma, 2015, p-45-54.

FIV Convencional. Rio de Janeiro. Centro de Infertilidade. c2020. Disponível em: <https://www.centrodeinfertilidade.com.br/tratamentos/fiv-convencional/>. Acesso em: 16 de jan. de 2023.

GHASEMIAN, Fatemeh; MIRROSHANDEL, Seyed Abolghasem; MONJI-AZAD Sara; AZARNIA Mahnaz; ZAHIRI Ziba. **An efficient method for automatic morphological abnormality detection from human sperm images**. Elsevier. V. 122, i. 3, p. 409-420. Dezembro, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2015.08.013>. Acesso em: 03 de mar. de 2023.

HANSON, Brent; KASER, Daniel; FRANASIAK Jason. **Male Infertility and the Future of *In Vitro* Fertilization**. North America. ScienceDirect, Elsevier. May. 2020; V. 47, I. 2, p. 257 – 270. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0094014319301193?via%3Dihub>. Acesso em: 24 de nov. de 2022.

KEENAN, Laura. OMS alerta que 1 em cada 6 pessoas é afetada pela infertilidade em todo o mundo. OMS- Organização Mundial da Saúde. 04 de abril de 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/4-4-2023-oms-alerta-que-1-em-cada-6-pessoas-e-afetada-pela-infertilidade-em-todo-mundo#:~:text=todo%20o%20mundo,OMS%20alerta%20que%201%20em%20cada%206%20pessoas%20%C3%A9,infertilidade%20em%20todo%20o%20mundo&text=Genebra>. Acesso em: 24 de abril de 2023.

KELLEHER, John. **Deep Learning**. United States: Mit Press, 10 de setembro de 2019.

KHOSRAVI, P., KAZEMI, E., ZHAN, Q. *et al.* **Deep learning enables robust assessment and selection of human blastocysts after *in vitro* fertilization.. *NPJ – Digital medicine.*, 2, n° 21. 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41746-019-0096-y#citeas>. Acesso em: 03 de mar. de 2023.**

LETTERIE, G.; MAC DONALD, A. Artificial intelligence *in vitro* fertilization: a computer decision support system for day-to-day management of ovarian stimulation during *in vitro* fertilization. **Elsevier- Fertility and Sterility**. V.114, P.1026-1031. Nov 01, 2020. Disponível em: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(20\)30542-2/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(20)30542-2/fulltext). Acesso em: 07/06/2022.

M FEYEUX, A REIGNIER, M MOCAER, J LAMMERS, D MEISTERMANN, P BARRIÈRE, P Paul-GILLOTEAUX, L DAVID, T FRÉOUR. **Development of automated annotation software for human embryo morphokinetics**. *Human Reproduction*, Volume 35, Issue 3, March 2020, Pages 557–564, <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa001>. Acesso em: 03 de mar. de 2023.

MANNA, C., NANNI, L., LUMINI, A. & PAPPALARDO, S. **Técnicas de inteligência artificial para classificação de embriões e ovócitos.** *Reprod. Biomed. On-line* **26**, 42–49 (2014). Disponível em: [https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(12\)00586-X/fulltext](https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(12)00586-X/fulltext). Acesso em: 03 de mar. de 2023.

Marcia C. INHORN, Pasquale PATRIZIO, **Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements.** 21st century, *Human Reproduction Update*, Volume 21, Issue 4, July/August 2015, Pages 411–426. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv016>. Acesso em: 03 de mar. de 2023.

MIRROSHANDEL, F. GHASEMIAN, **Detecção automatizada de morfologia a partir de imagens de esperma humano, Injeção intracitoplasmática de esperma,** Springer, 2018, pp. 99–122. Disponível em: [Automated Morphology Detection from Human Sperm Images | SpringerLink](#). Acesso em: 23 de mar de 2023.

MIRROSHANDEL, S.A., Ghasemian, F. (2018). Automated Morphology Detection from Human Sperm Images. In: Palermo, G., Sills, E. (eds) *Intracytoplasmic Sperm Injection*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70497-5_8. Acesso em 03 de mar. de 2023.

MOURA, Bernado; GOMES, Luiz; GUIMARÃES, Fernando. *Reprodução Assistida e Genética: Laser e suas aplicações.* Edição 1, cap. 19, p. 217 – 222. SBRH – Sociedade Brasileira de Reprodução Humana: GeneOne, 2021.

NAGY, Zsolt; SHAPIRO, Daniel; CHANG, Ching-Chien. **Vitrification of the human embryo: a more efficient and safer *in vitro* fertilization treatment.** *Atlanta, Georgia. Fertility and Sterility.* Feb. 2020; V. 113, p. 241 – 247. Disponível em: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(19\)32610-X/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(19)32610-X/fulltext) Acesso em: 24 de nov. de 2022.

OLIVEIRA, Norma; KULMAN, Marcos; ROSÁRIO, Guilherme; ISER, Betina. *Reprodução Assistida e Genética: Maturação *in Vitro*.* Edição 1, cap.11, p. 133 – 130. SBRH – Sociedade Brasileira de Reprodução Humana: GeneOne, 2021.

P. SAEEDI, D. YEE, J. AU and J. HAVELOCK. **Automatic Identification of Human Blastocyst Components via Texture.** *IEEE- Transactions on Biomedical*

Engineering, vol. 64, no. 12, pp. 2968-2978, Dec. 2017. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/8059868>. Acesso em: 03 de mar. de 2023.

PATEL, D. P.; GROSS, K. X.; HOTALING, J. M. Can artificial intelligence drive optimal sperm selection for *in vitro* fertilization?. **Elsevier- Fertility and Sterility**. V.115, P.883. Apr, 2021. Disponível em: <[https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(21\)00121-7/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(21)00121-7/fulltext)>. Acesso em: 07/06/2022.

PORTELA, Rafael. Reprodução Assistida e Genética: Time-lapse. Edição 1, p. 203 – 2016. SBRH – Sociedade Brasileira de Reprodução Humana: GeneOne, 2021.

ROCHA, Karinne Nancy Sena et al. Updates on *in vitro* fertilization for human reproduction. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 1, p. 3081-3100, 2022.

ROSENWAKS, Z.; ZANINOVIC, N. Artificial intelligence in human *in vitro* fertilization and embryology. **Elsevier- Fertility and Sterility**. V.114, P.914-920. Nov, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33160513/>>. Acesso em: 07/06/2022.

RUÍZ, Nuria. **Ovocitos: Tipos y capacidad de desarrollo embrionario**. Espanha. Instituto Bernabeu. Marzo, 2020. Disponível em: <https://www.institutobernabeu.com/es/foro/tipos-de-ovocitos-y-su-capacidad-de-desarrollo-embrionario/>. Acesso em: 24 de fev. de 2023.

S. Dyer, G.M. Chambers, J. de Mouzon, K.G. Nygren, F. Zegers-Hochschild, R. Mansour, O. Ishihara, M. Banker, G.D. Adamson, **International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: Assisted Reproductive Technology 2008, 2009 and 2010**, *Human Reproduction*, Volume 31, Issue 7, July 2016, Pages 1588–1609. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/humrep/dew082>. Acesso em: 03 de mar. de 2023.

SHAKER, Fariba; MONADJEMI, Amirhassan; ALIREZAIE, Javad; NAGHSH-NILCHI, Ahmad Reza. **A dictionary learning approach for human sperm heads classification**, *Computers in Biology and Medicine*, Elsevier. Volume 91, P 181-190. Dezembro, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2017.10.009>. Acesso em: 03 de mar. de 2023.

SILVA, Ellen; FIGUEIRA, Rita; VERZA, Sidney; ESTEVES, Sandro. Reprodução Assistida e Genética: Espermograma. Edição 1, cap. 2, p. 25 – 38. SBRH – Sociedade Brasileira de Reprodução Humana: GeneOne, 2021.

SIRISTATIDIS, C.; STAVROS, S.; DRAKELEY, A.; BETTOCCHI, S.; POULIAKIS, A.; DRAKAKIS, P.; PAPAPANOU, M.; VLAHOS, N. **Omics and Artificial Intelligence to Improve *In Vitro* Fertilization (IVF) Success: A Proposed Protocol**. Maio, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8143333/>>. Acesso em: 07/06/2022.

SOUZA, Karla; ALVES, Oslânia. **As principais técnicas de Reprodução Humana Assistida**. Editora Alfredo Nasser, Saúde e Ciência em ação. 2016, v. 2, n. 1. Disponível em: [https://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaICS/article/view/182#:~:text=A%20reprodu%C3%A7%C3%A3o%20humana%20assistida%20pode,de%20embri%C3%B5es%20congelados%20\(TEC\)](https://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaICS/article/view/182#:~:text=A%20reprodu%C3%A7%C3%A3o%20humana%20assistida%20pode,de%20embri%C3%B5es%20congelados%20(TEC).). Acesso em: 16 de jan. de 2023.

ZANINOVIC, Nikica; ROSENWAKS, Zev. **Artificial intelligence in human *in vitro* fertilization and embryology**. V. 114, edição 5, p. 914 – 920. United States. Fertility na Sterility. Novembro, 2020. Disponível em: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(20\)32399-2/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(20)32399-2/fulltext). Acesso em: 03 de mar. de 2023.