

Využitie umelej inteligencie v embryológii

Pavel Svitok, Patrik Šranko, Gabriela Kaňová, Peter Harbulák

Laboratórne metódy používané v asistovanej reprodukčii sa neustále vyvíjajú. Cieľom je zvýšiť efektivitu a úspešnosť liečby. Pre zjednodušenie, ako aj objektivizáciu práce v laboratóriu vzniká veľké množstvo softvérových riešení. V rámci asistovanej reprodukcie sa v súčasnosti takýto softvér používa najmä pri analýze spermií, posúdení kvality embryí a oocytov a na vytvorenie predikčného modelu pre predpovedanie úspešnosti liečby.

KLúčové slová: umelá inteligencia, spermie, oocyt, embryo

Use of artificial intelligence in embryology

The laboratory methods used in assisted reproduction are constantly evolving. The aim is to increase the effectiveness and success of treatment. Many software solutions are created to simplify and objectify work in the laboratory. In assisted reproduction, such software is currently used mainly in sperm analysis, assessment of embryo and oocyte quality, and creating a predictive model for predicting treatment success.

Keywords: artificial intelligence, sperms, oocyte, embryo

Gynekol. prax 2022; 20 (3): 152 – 155

Asistovaná reprodukcia (AR) ako medicínska disciplína sa začala mimoriadne rozvíjať v sedemdesiatych rokoch dvadsiateho storočia. Dôležitým míľnikom však bolo až narodenie Louisy Brownovej v júni 1978, prvého dieťaťa počatého technikami in vitro fertilizácie (IVF). Podľa súčasných odhadov sa vďaka technikám IVF narodilo viac ako 6 miliónov detí. Do roku 2100 by počet jedincov po oplodnení v cykloch IVF mohol predstavovať až 3,5 % svetovej populácie, čo je asi 400 miliónov ľudí⁽¹⁾.

AR zahŕňa širokú škálu rôznych techník a postupov používaných na liečbu neplodnosti alebo genetických problémov, ktoré môžu brániť prirodzenému počatiu dieťaťa. Tieto postupy zahŕňajú manipuláciu a spracovanie pohlavných buniek – gamét, ich oplodnenie, kultiváciu embryí a metódy kryokonzervácie gamét a embryí. Zložitosť a náročnosť týchto techník sa však značne líši⁽²⁾. Významnú úlohu pri manipulácii a hodnotení kvality gamét a embryí má embryológ, ktorý subjektívne, na základe zadefinovaných kritérií, volí optimálny postup práce s biologickým materiálom. Na zjednodušenie voľby optimálneho postupu a tiež na objektivizáciu práce laboratórií vzniká veľké množstvo softvérových riešení.

Umelá inteligencia (AI, artificial intelligence) je definovaná ako schopnosť strojov učiť sa a zobrazovať inteligenciu, čo je v ostrom kontraste s prirodzenou inteligenciou, ktorá je charakteristická najmä pre ľudí, ale aj zvieratá. Umelá inteligencia sa rýchlo rozvíja a postupne preniká do nášho osobného a spoločenského života. Schopnosť počítačov ukladať a spracovávať veľké množstvo dát a riešiť zložité úlohy sa každý rok zvyšuje⁽³⁾. V rámci AR sa v súčasnosti AI používa najmä pri analýze spermií, posúdení kvality embryí a oocytov a na vytvorenie predikčného modelu na predpovedanie úspešnosti liečby. Aktuálnym cieľom je definovať také neinvazívne markery, ktoré dokážu zvýšiť účinnosť liečby IVF. AI schopná analyzovať obraz by mohla znížiť chybovosť a zvýšiť efektivitu práce embryológa poskytovaním automatickej analýzy spermií, oocytov a embryí. Väčšina súčasných klinických štúdií však využíva obmedzené množ-

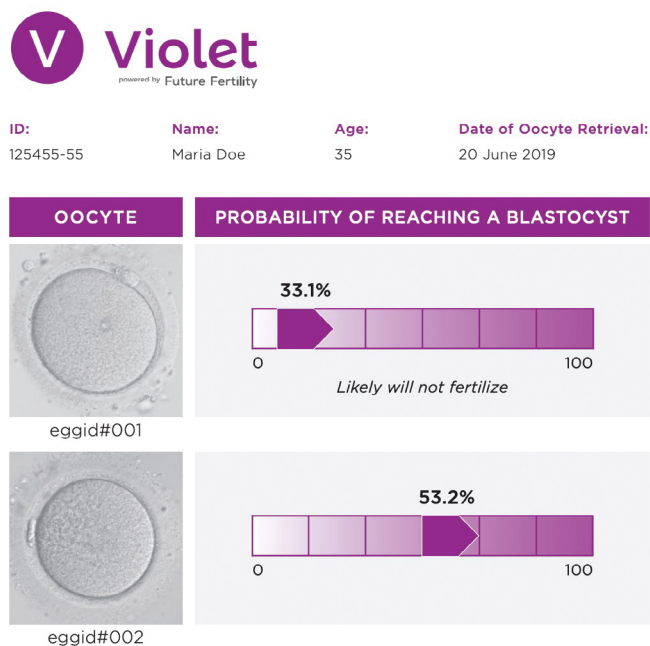
stvo dát s rôznou kvalitou. Preto je použiteľnosť jednotlivých softvérov často obmedzená, napríklad pre konkrétnu populáciu. Pre overenie funkcie jednotlivých algoritmov je nevyhnutné vykonávať rozsiahle randomizované kontrolné štúdie, ktoré by mohli jednoznačne potvrdiť ich globálnu účinnosť. Okrem toho sa väčšina výskumu obmedzuje na aplikáciu algoritmov na klasifikáciu a predikciu, chýba hlbšia integrácia získaných údajov v následnej liečbe. Preto v súčasnosti zostávajú aplikácie AI v reprodukčnej medicíne relatívne obmedzené a väčšinou poloautomatické⁽⁴⁾.

Využitie AI pri hodnotení kvality oocytov

Súčasný klinický hodnotenie kvality gamét sa zameriava na identifikáciu skorých markerov ich kvality. To najčastejšie zahŕňa priamu vizualizáciu a hodnotenie gamét vo svetelnom mikroskope. Alternatívou predstavuje posudzovanie statických obrázkov či videí. Za markery kvality oocytov je považovaná veľkosť folikulov, morfológia oocytov a charakteristika ich cytoplazmy. Použitie bodovacieho systému s AI na selekciu oocytov má v cykle IVF svoje limitácie. Na oplodnenie sú často použité všetky oocyty, ktoré dosiahli morfológickú zrelosť, pretože aj menej kvalitné oocyty môžu byť úspešne oplodnené a môže z nich vzniknúť kvalitné embryo⁽⁵⁾.

Za najväčšiu výhodu systémov využívajúcich umelú inteligenciu na hodnotenie kvality oocytov sa považuje ich prediktívna schopnosť určiť šance danej pacientky na otehotnenie. Na základe 2D analýzy obrázkov denudovaných (zbavených kumulárných buniek) zrejých oocytov je softvér schopný predpovedať pravdepodobnosť oocytu dosiahnuť po oplodnení štádium blastocysty. Navyše aplikácia AI na analýzu oocytov môže odlíšiť oocyty s vyšším reprodukčným potenciálom s takou úspešnosťou, ako to nedokážu v súčasnosti ani skúsení embryológovia. Neinvazívny systém klasifikácie oocytov by bolo možné použiť ako informatívnu formu vo viacerých prístupoch asistovanej reprodukcie, napr. pri mrazení oocytov (social/medical free-

Obrázok 1. Výstupný protokol z analýzy oocytov s využitím softvéru na hodnotenie 2D snímok Violet™(7).



zing), v cykloch s darčovskými oocytmi, ako aj v procese liečby IVF ako pomoc lekárom pri poradenstve a rozhodovaní(6). Preto sa takéto programy pomaly začínajú uplatňovať aj v klinickej praxi (obrázok 1).

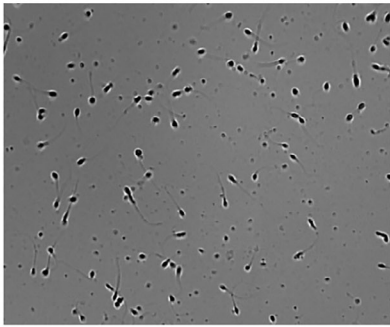
Využitie AI v analýze spermíí

Výber správnych spermíí môže byť základným faktorom na dosiahnutie vyššej miery úspešnosti cyklu IVF, najmä v prípadoch neplodnosti, kde je prítomný mužský faktor. To viedlo k vývoju niekoľkých systémov zameraných na zlepšenie výbehu kvalitných spermíí(8). Parametre ako morfológia, motilita alebo pohybové charakteristiky spermíí sa považujú za dôležité prediktívne faktory mužskej plodnosti. Niekoľko analýz ukázalo významný vplyv morfológie najmä na úspešnosť cyklov IVF(9). Systémy na automatickú analýzu spermíí boli vyvinuté s cieľom objektivizovať výsledky a eliminovať ľudskú chybu(10). Tieto technológie sú pomerne široko používané a poskytujú veľké množstvo premenných pre motilitu a morfológiu každej spermie(11). Súčasne môže novovytvorená umelá inteligencia kvantifikovať morfológiu spermíí s vysokou špecifitou a citlivosťou (obrázok 2).

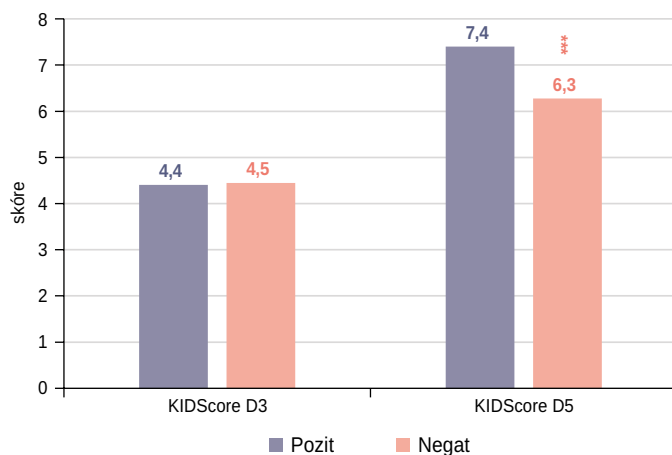
Charakteristickým znakom intracytoplazmatickej injekcie spermíí (ICSI) je výber vhodnej spermie na oplodnenie na základe jej morfológických a kinetických vlastností. Je potrebné subjektívne zhodnotiť veľké množstvo pohyblivých spermíí, čo môže byť dôvodom vysokej individuálnej variability. Hoci sa v posledných desaťročiach uskutočnil rozsiahly výskum na zvýšenie efektivity ICSI, výsledkom boli aj zvýšené náklady na technické vybavenie a kvalifikovaný personál(12). Vzniklo viacero systémov schopných odhaliť morfológické abnormality (IMSI), zrelosť (PICSI) alebo dokonca integritu chromatinu spermíí (MACS), čím sa získajú spermie s vyšším fertilizačným potenciálom. Doteraz vyvinuté metodiky sa však nepreukázali ako dostatočne účinné na rutinné použitie v klinickej praxi a ja-

Obrázok 2. Výstupný protokol z analýzy spermíí pacienta s využitím prístroja LensHooke X1 PRO Semen Quality Analyzer.

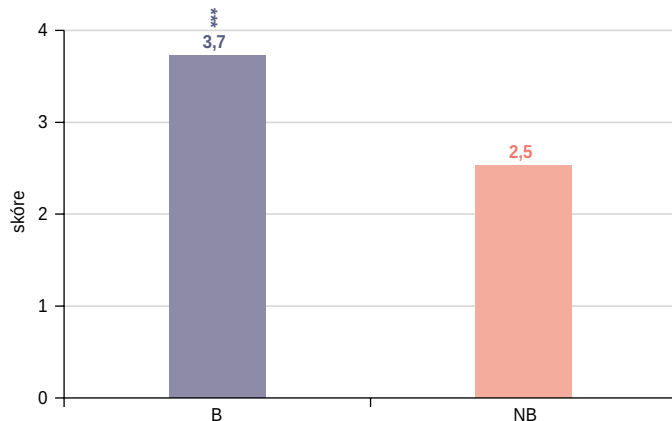
Patient ID: ████████ System Version: X1.C004		Test Time: 2020/01/15 13:15 Device Series: X10SE21M10025	
I. Key Parameter:		Normal Morphology: 4 %	
Parameter	Result	Reference range of WHO 5 th	
pH	8.0	? 7.2	
Concentration	73.3 M/ml	? 15 M/ml	
Normal Morphology	4%	? 4%	
Total Motility	50% (MSC:36.6 M/ml)	? 40%	
Progressive (PR)	44% (PMSC:32.2 M/ml)	? 32%	
Note:		Assessed parameters	
MSC: Motile Sperm Concentration.		Head Length:	5.61 µm 56.52 %
PMSC: Progressive Motile Sperm Concentration.		Head Width:	3.32 µm 46.09 %
		Head Perimeter:	13.80 µm 47.83 %
		Head Area:	14.06 µm ² 47.83 %
		Tail Length:	14.39 µm 19.20 %
II. Detail Parameter:		Other Reference Parameter:	
Total Motility: 50 %		Parameter	Result
Progressive (PR): 44 %	Motile (VAP ? 25µm/s): 16 %	Volume	6.0ml
Non-Progressive (NP): 6 %	Local Motile (5µm/s ? VAP < 25µm/s): 28 %	Color	Yellow
Immotility (IM) : 50 %		Liquefaction Time	30 ~ 60 min
		Total Sperm number	439.8M
			? 39M
(µm/s)	(%)	(µm, Hz)	
VAP (Mean) 19 µm/s	LIN (Mean) 67 %	ALH (Mean) 1.49 µm	
VSL (Mean) 17 µm/s	STR (Mean) 87 %	BCF (Mean) 7.12 Hz	
VCL (Mean) 25 µm/s	WOB (Mean) 75 %		
VAP Distribution	STR Distribution	ALH Distribution	
[0-5µm/s] 8	[0-10%] 3	[0-2µm] 75	
[5-15µm/s] 10	[10-20%] 0	[2-4µm] 25	
[15-25µm/s] 50	[20-30%] 3	[4-6µm] 0	
[25-35µm/s] 32	[30-40%] 0	[6-8µm] 0	
[35-45µm/s] 0	[40-50%] 3	[8-10µm] 0	
[45+µm/s] 0	[50-60%] 3	[10-12µm] 0	
Total 100 %	[60-70%] 7	[12+µm] 0	
	[70-80%] 0	Total 100 %	
	[80-90%] 10		
	[90-100%] 71		
	Total 100 %		
VSL Distribution			
[0-5µm/s] 12			
[5-15µm/s] 25			
[15-25µm/s] 46			
[25-35µm/s] 17			
[35-45µm/s] 0			
[45+µm/s] 0			
Total 100 %			



Obrázok 3. Priemerné skóre embryí na 3. deň vývinu (KIDScore D3) a na 5. deň vývinu (KIDScore D5), ktorých transfer viedol k pozitívnemu (pozit) alebo negatívnemu (negat) tehotenskému testu.



Obrázok 4. Priemerné skóre 3-dňových embryí (KIDScore D3), ktoré na 5. deň vývinu dosiahli (B), resp. nedosiahli štádium blastocysty (NB)



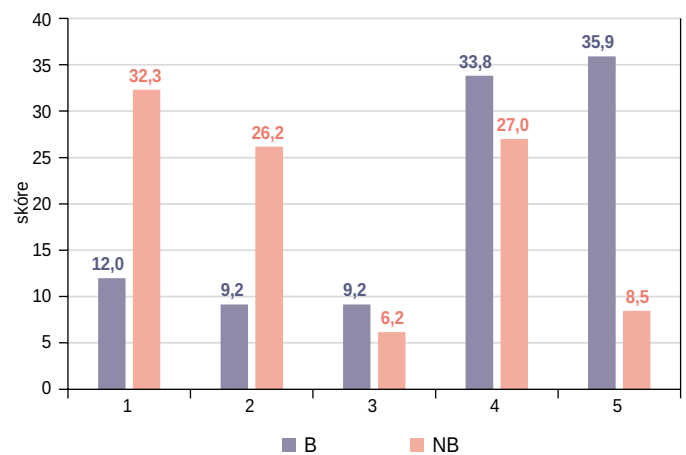
via sa ako použiteľné len v špecifických prípadoch mužskej neplodnosti⁽⁹⁾.

AI sa čiastočne používa v „robotických ICSI“, automatizovaných systémoch oplodnenia oocytov. Softvér v týchto systémoch musí byť schopný vybrať spermie potrebné na ICSI. Takéto mechanizmy však majú tendenciu zanedbávať niekoľko parametrov vrátane morfológie spermií a robiť výbery iba na základe ich pohybu⁽¹²⁾. Kontinuálna analýza parametrov spermií použitých pri ICSI by mohla v budúcnosti zlepšiť úspešnosť IVF cyklov.

Využitie AI v hodnotení kvality embryí

Primárnou úlohou asistovanej reprodukcie je u pacientky dosiahnuť tehotenstvo, a to v čo najkratšom čase. Jedným z hlavných faktorov zodpovedných za úspech IVF cyklu je správny výber embrya na embryotransfer. Postupný vývoj technológií, ktoré umožňujú kultivovať embryá dlhší čas, viedol k zavedeniu nových morfológických znakov do systému hodnotenia. Veľký prelom predstavovalo zavedenie time-lapse systémov. Tie dovoľovali sledovať každé embryo individuálne počas celej jeho kultivácie 24 hodín denne. Ku klasickému hodnoteniu morfológie sa tak pridal nový parameter – kinetika. Vďaka tomuto prístupu

Obrázok 5. Podiel embryí dosahujúcich skóre 1 – 5 na 3. deň vývinu (KIDScore D3), ktoré mali potenciál dosiahnuť štádium blastocysty (B) alebo sa zastavili v delení do 5. dňa vývinu (NB).



bolo možné prepojiť jednotlivé deje prebiehajúce v deliacom sa embryu s pravdepodobnosťou jeho implantácie^(13,14).

Zaviedlo sa veľké množstvo parametrov súvisiacich s kvalitou embrya. Väčšina z nich sa zameriava na čas od oplodnenia oocytu potrebný na dosiahnutie konkrétneho vývinového štádia. Medzi tie najvýznamnejšie patrí čas splynutia prvoadier, čas prvého delenia, čas potrebný na prechod z 2. do 3. bunkového či z 3. do 4. bunkového štádia, čas začiatku kompaktácie buniek, čas potrebný na vytvorenie blastocysty atď. Zároveň je možné pozorovať javy spájané s nižšou kvalitou embrya, ako je fragmentácia cytoplazmy, multinukleácia či vakuolizácia buniek. Všetky tieto parametre, ako aj mnohé ďalšie je nutné pre každé jedno embryo zaznamenávať vo forme anotácií⁽¹³⁻¹⁵⁾.

Niekoľko štúdií skúmalo algoritmy AI a ich použitie v rámci IVF. Selektia embryí predstavuje v súčasnosti najaktívnejšiu výskumnú oblasť aplikácie AI v rámci IVF, pričom len v roku 2020 bolo publikovaných viac ako 10 prác. V posledných rokoch sa však mnohé publikácie zamerali viac na komercializáciu než na metodologické novinky a technické detaily AI. Primárne sa zameriavajú na vyhodnocovanie veľkých súborov údajov, čím sa snažia prekonať výsledok práce embryológov⁽¹⁶⁾. Presnosť týchto modelov sa však môže líšiť medzi rôznymi IVF klinikami. Preto by modely selektie embryí mali byť pred použitím validované. Jednu z výnimiek predstavuje KIDScore™, všeobecný morfokineticý model na predpovedanie implantácie (Vitrolife, Švédsko), ktorý bol vyvinutý na základe veľkého súboru údajov z veľkého počtu kliník s rôznymi populáciami pacientov, kultivačnými podmienkami a klinickými postupmi. KIDScore™ predstavuje nástroj na podporu rozhodovania, ktorý má byť všeobecne použiteľný na výber embrya v rôznych klinických podmienkach⁽¹⁷⁾.

Vzhľadom na to, že naše pracovisko disponuje takýmto hardvérovým aj softvérovým vybavením, rozhodli sme sa retrospektívne overiť verziu modelu KIDScore D5 pre hodnotenie blastocýst a KIDScore D3 pre hodnotenie 3-dňových embryí. Ako vzorka nám poslúžili pacientky zo 100 cyklov (10/2017 – 8/2018), ktoré absolvovali čerstvý transfer 1 blastocysty. V súbore pacientok bola známa pregnancy rate (57 %). V prvom kroku sme sledovali celkové skóre dosiahnuté u embryí na 3. deň (KIDScore D3; skóre 1 – 5) a 5. deň (KIDScore D5; skóre 1 – 10), ktoré viedli k pozitívnemu tehotenskému testu, respektíve

nebola u ich príjemkyne pozorovaná klinická gravidita. Pozorovali sme významne vyššie skóre u implantovaných embryí na 5. deň, nie však na 3. deň (**obrázok 3**).

Napriek tomu, že sa KIDScore D3 neuplatnilo ako dostatočne účinný nástroj na predikciu dosiahnutia gravidity, rozhodli sme sa analyzovať jeho schopnosť určiť potenciál embrya dosiahnuť štádium blastocysty. Preto sme v ďalšom kroku vybrali z daného súboru pacientky, ktoré mali z jedného odberu aspoň 4 embryá, ktoré dosiahli štádium blastocysty (50 pacientov, 276 embryí). Naším cieľom bolo zistiť potenciál KIDScore D3 predikovať vznik blastocysty (**B**), respektíve predpovedať zastavenie embrya vo vývine pred dosiahnutím tohto štádia (**NB**).

Dokázali sme, že takáto analýza dokáže už na 3. deň predpovedať vývinový potenciál embrya (**obrázok 4**). To sa potvrdilo aj po zatriedení embryí podľa schopnosti vyvinúť sa do blastocysty, kde sme dokázali, že takmer 70 % vyvinutých embryí malo na 3. deň skóre 4/5, zatiaľ čo takmer 65 % embryí, ktoré sa v delení zastavili, mali skóre 3 a menej (**obrázok 5**).

Záver

Umelá inteligencia či iné algoritmy založené na strojovom učení predstavujú veľmi dôležité nástroje pre objektivizáciu a zvýšenie kvality poskytovanej zdravotnej starostlivosti. Zvý-

šenie výpočtovej sily a kapacít vo vývoji softvérových riešení urýchlilo expanziu autonómnych systémov do viacerých oblastí medicíny a postupne preniká aj do metód asistovanej reprodukcie. Viacero štúdií ukázalo významný prínos týchto systémov v hodnotení kvality gamét a embryí s potenciálom prediktívne posúdiť šance konkrétneho páru dosiahnuť tehotenstvo. Z dlhodobého hľadiska budú takéto systémy čoraz častejšie zasahovať do všetkých oblastí asistovanej reprodukcie na všetkých úrovniach, čo by mohlo zefektívniť jednotlivé procesy a maximalizovať potenciál na úspešnú liečbu.

Vyhlasenie o bezkonfliktnosti: Nemám potenciálny konflikt záujmov.

Adresa pre korešpondenciu:

Mgr. Pavel Svitok
GYN-FIV, a. s., Centrum pre gynekológiu, urológiu
a asistovanú reprodukciu, Bratislava
Trnavská cesta 106, 821 01 Bratislava
e-mail: pavel.svitok@gyn-fiv.sk

Mgr. Patrik Šranko, MVDr. Gabriela Kaňová, PhD.,
MUDr. Peter Harbulák, PhD.
GYN-FIV, a. s., Centrum pre gynekológiu, urológiu
a asistovanú reprodukciu, Bratislava

Literatúra

- Ledford H. IVF at 40: revisiting the revolution in assisted reproduction. *Nature* 2018; <https://doi.org/10.1038/d41586-018-05792-9>
- Fernandez EI, Ferreira AS, Cecílio MHM, et al. Artificial intelligence in the IVF laboratory: overview through the application of different types of algorithms for the classification of reproductive data. *J Assist Reprod Genet* 2020; 37: 2359-2376.
- Deo RC. Machine learning in medicine. *Circulation* 2015; 132: 1920-1930.
- Wang R, Pan W, Jin L, et al. Artificial intelligence in reproductive medicine. *Reproduction* 2019; 158(4): 139-154.
- Manna C, Nanni L, Lumini A, et al. Artificial intelligence techniques for embryo and oocyte classification. *Reprod Biomed Online* 2013; 26(1): 42-49.
- Nayot D, Mercuri N, Krivoi A, et al. A novel non-invasive oocyte scoring system using ai applied to 2-dimensional images. *Fertil Steril* 2021; 116(3): 474. <https://www.olivefertility.com/blog/can-ai-predict-egg-quality>
- Oseguera-López I, Ruiz-Díaz S, Ramos-Ilbeas P, et al. Novel techniques of sperm selection for improving ivf and icsi outcomes. *Front Cell Dev Biol* 2019; 7: 298.
- Coetzee K, Kruger TF, Lombard CJ. Predictive value of normal sperm morphology: a structured literature review. *Hum Reprod Update* 1998; 4(1): 73-82.
- Lammers J, Barrière P, Jean M, et al. Double-blind prospective study comparing two automated sperm analyzers versus manual semen assessment. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31: 35-43.
- Amann RP, Waberski D. Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments. *Theriology* 2014; 81: 5-17.
- Lu Z, Zhang X, Leung C, et al. Robotic ICSI (intracytoplasmic sperm injection). *IEEE Trans Biomed Eng* 2011; 58: 2102-2108.
- Wong CC, Loewke KE, Bossert NL, et al. Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage 2010. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 1115-1121.
- Meseguer M, Herrero J, Tejera A, et al. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Hum Reprod* 2011; 26(10): 2658-2671.
- Chen AA, Tan L, Suraj V, et al. Biomarkers identified with time-lapse imaging: discovery, validation, and practical application. *Fertil Steril* 2015; 99(4): 1035-1043. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4283765/>
- Kragh MF, Karstoft H. Embryo selection with artificial intelligence: how to evaluate and compare methods? *J Assist Reprod Genet* 2021; 38: 1675-1689.
- Kato K, Ueno S, Berntsen J, et al. Comparing prediction of ongoing pregnancy and live birth outcomes in patients with advanced and younger maternal age patients using KIDScore™ day 5: a large-cohort retrospective study with single vitrified-warmed blastocyst transfer. *Reprod Biol Endocrinol* 2021; 19: 98.