

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390491** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.06.05

(22) Дата подачи заявки
2021.08.03

(51) Int. Cl. **G06K 9/00** (2022.01)
C12N 5/073 (2010.01)
G01N 33/483 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)
G06K 9/62 (2022.01)
G06T 7/00 (2017.01)

(54) ОЦЕНКА ЭМБРИОНОВ НА ОСНОВЕ ВИДЕО В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

(31) **63/060,554**

(32) **2020.08.03**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/044423**

(87) **WO 2022/031765 2022.02.10**

(71) Заявитель:

ЭМДЖЕНЕЗИС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

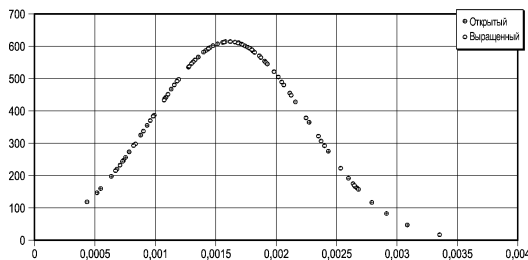
Уэсселс Уэллс Кара Элизабет (US)

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(57) Система и способ прогнозирования вероятности успешного переноса целевого эмбриона женщине-реципиенту путем обработки данных видеоизображения эмбриона. В данном способе использована модель, обученная с помощью машинного обучения и искусственной нейронной сети. Кроме того, способ включает получение данных изображения, созданных на основе видеозаписи целевого эмбриона, сделанной со скоростью практически реального времени в течение определенного периода времени. Разрешение видео достаточно для записи морфокинетического движения клеточной активности эмбриона, происходящего в течение снятого на видео периода времени, и при этом указанное движение представлено в полученных данных изображения. Полученные данные изображения обрабатываются с помощью модели, обученной с использованием (1) машинного обучения, (2) искусственной нейронной сети и (3) коррелированных данных об успешной беременности. Модель определяет вероятность успешного переноса целевого эмбриона женщине-реципиенту.

Морфокинетическая активность как важный прогностический биомаркер у преимплантационных эмбрионов



202390491
A1

202390491
A1

ОЦЕНКА ЭМБРИОНОВ НА ОСНОВЕ ВИДЕО В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0001] Пользователями описанной в настоящем документе технологии являются репродуктивные эндокринологи, специализированные акушеры-гинекологи, эмбриологи, ветеринары, животноводы и, среди прочих, обученный персонал лабораторий. В области репродукции человека пользователями данной технологии являются директора эмбриологических лабораторий и клинические эмбриологи, практикующие вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ). Пациенты ВРТ, в частности, пациенты программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), оказывают влияние и оплачивают данную технологию, поскольку играют значительную роль в принятии решения об использовании различных технологий на своих гаметах, ооцитах и эмбрионах. В ходе зимней когорты 2018 года Национального научного фонда I-Corps National Atlanta Winter Cohort были проведены интервью с 231 респондентом. В результате был сделан вывод, что за почти четыре десятилетия не было создано никаких преобразующих технологий для прогнозирования жизнеспособности эмбрионов, что почти эквивалентно времени, за которое родился первый ребенок в результате ЭКО в 1978 году. Клинические эмбриологи и обученный персонал отвечают за выбор эмбриона, который переносят пациенту, и часто неосознанно переносят нежизнеспособные эмбрионы пациентам из-за отсутствия точных средств оценки здоровья и качества эмбрионов. Репутация эмбриологов в значительной степени основана на показателях успешной беременности, и лаборатории и соответствующие врачи конкурируют за высокие показатели беременности. Эти показатели успешности публикуются, поэтому влияют на их репутацию, и чем они позитивнее, тем больше укрепляют их репутацию и способность привлекать новых клиентов. Первоначально описываемая технология нацелена на сектор ВРТ для лечения клинического бесплодия в США, но в дальнейшем она будет активно распространяться на растущий мировой рынок бесплодия, объем которого составляет 37,7 миллиарда долларов. Данная технология является первым и единственным в своем классе инструментом оценки эмбрионов, который является не субъективным, неинвазивным и позволяет в режиме реального времени оценивать морфокинетику эмбрионов для немедленной выдачи результатов пользователю. Наиболее часто используемым методом выбора эмбриона для переноса является визуальный осмотр эмбриона под световым микроскопом.

[0002] Бесплодие классифицируется Всемирной организацией здравоохранения как заболевание и затрагивает 48,5 миллионов пар во всем мире или каждую восьмую пару. ЭКО является наиболее эффективным методом лечения бесплодия, однако в 2018 году показатель живорождения составил всего 26%. Не менее примечательно и то, что только 57% женщин, страдающих бесплодием, обращаются за лечением в США. ЭКО славится дороговизной, стрессом, безнадёжностью и безуспешностью. Это психологически болезненный процесс для пациентов, которые обычно чувствительны к биологическому и социальному давлению и чувствуют, что время работает против них и они «не молодеют», чтобы вырастить ребенка. По этим причинам пациенты, страдающие бесплодием, не чувствуют уверенности в процессе, и многие так и не получают медицинской помощи для создания своей семьи.

[0003] В дополнение к значимости для лечения бесплодия, ВРТ представляют ценность как средство сохранения фертильности путем криоконсервации яйцеклеток, спермы и эмбрионов, позволяя одиноким людям и гомосексуальным парам создавать семьи. Кроме того, ВРТ позволяют сохранять здоровые клетки/гаметы больных раком до прохождения химиотерапии, что позволяет использовать их в будущем. В этих целях ВРТ становятся обычным методом создания семьи.

[0004] С момента рождения Луизы Браун в 1978 году в результате ЭКО и интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) в мире родилось более 10 миллионов детей. В США дети, рожденные в результате ЭКО/ИКСИ, составляют почти 2% от ежегодного числа рождений. Для проведения этой процедуры женщине назначают гормоны для суперовуляции, чтобы стимулировать развитие большего количества яйцеклеток в яичниках. За развитием фолликулов женщины внимательно следят, чтобы вовремя провести забор яйцеклеток, во время которого специалист по бесплодию берет яйцеклетки из яичника. Каждая яйцеклетка оплодотворяется сперматозоидом, а оплодотворенные яйцеклетки развиваются в эмбрионы и их культивируют в течение 5-6 дней. Вполне вероятно, что несколько эмбрионов разовьются в здоровые на вид бластоцисты. Эмбриологи отвечают за выбор эмбрионов, которые будут пересажены пациенту. Все оставшиеся эмбрионы обычно замораживают и могут быть использованы для последующих попыток переноса. Этот процесс считается «раундом» ЭКО и стоит примерно 23000 долларов. Если беременность не наступает, пациент может выбрать перенос замороженных эмбрионов, при котором один из оставшихся замороженных эмбрионов размораживают и переносят пациенту. Замороженные эмбрионы можно переносить до тех пор, пока не

останется свободных эмбрионов, и тогда весь процесс придется начинать сначала. В среднем пациенты проходят 2,7 цикла ЭКО и тратят 60000 долларов, чтобы добиться беременности, которая сохраняется до конца срока. Основной причиной низкого процента успеха ЭКО является неспособность выбрать здоровые, жизнеспособные эмбрионы для переноса.

[0005] В соответствии с настоящим описанием, оценку проводят для всех имеющихся эмбрионов до переноса, чтобы лучше прогнозировать здоровье эмбрионов и потенциал развития, что в конечном итоге уменьшает количество переносов, необходимых для достижения успешной беременности. Это дает пациентам значительную экономию средств и времени, что также приводит к психологическим преимуществам. Прямыми потребителями являются доктора-репродуктологи (REI), директора лабораторий клинической эмбриологии, эмбриологи и обученный лабораторный персонал. Клиники по лечению бесплодия по всей стране конкурируют за самые высокие показатели беременности, поскольку пациенты могут посмотреть данные о беременности в отчетах Общества вспомогательных репродуктивных технологий (SART), на сайтах врачебных клиник и в других средствах массовой информации и выбрать для лечения клинику и специалиста по своему усмотрению. Косвенными пользователями технологии являются пациенты, проходящие процедуру ЭКО. В большинстве случаев пациент берет на себя расходы на процедуру, независимо от того, наступит беременность или нет. Многие пациенты платят из собственных средств, поскольку лечение бесплодия не покрывается большинством страховых планов в США. Однако в настоящее время растет требование о страховом покрытии лечения бесплодия. Страховые компании настаивают на внедрении новых технологий для снижения стоимости лечения. REI и эмбриологи часто предлагают пациентам различные варианты лечения и дополнительные варианты диагностики, чтобы пациент мог самостоятельно выбирать репродуктивные результаты и бюджет лечения.

[0006] В США в 2018 году было проведено 271398 циклов. Любая технология, которая позволяет эмбриологам отбирать наиболее здоровые эмбрионы для переноса и которая может помочь в определении выживаемости эмбрионов при криоконсервации, обеспечит улучшение исходов беременности. Улучшение исходов беременности всего на 3% позволяет ежегодно экономить более 187 миллионов долларов для пациентов в США. Кроме того, технологии, позволяющие повысить успешность беременности в расчете на один перенос, будут способствовать переносу одного эмбриона (а не нескольких), что снижает затраты, а главное — осложнения для матери и ребенка при многоплодной беременности.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] Эта инновационная технология использует увеличение видео движения для усиления клеточной морфокинетики, чтобы показать изменения в росте и развитии эмбриона, наличие генетических признаков, или смерть и распад в режиме реального времени. Усиленные видео могут быть использованы для разработки алгоритмов глубокого обучения для создания программного пакета искусственного интеллекта, чтобы обеспечить неинвазивный, количественный, бессубъективный метод для различения высококачественных, жизнеспособных эмбрионов, способных привести к здоровой беременности. В настоящее время эмбриологи имеют ограниченные возможности для оценки здоровья и жизнеспособности эмбрионов, что делает распространенной практику неосознанного переноса мертвых или нежизнеспособных эмбрионов пациентам. Эта технология позволит пользователю принимать более обоснованные решения о том, какой эмбрион (эмбрионы) переносить пациентам, и сократить перенос низкокачественных эмбрионов, из которых НЕ наступает беременность. Технологии, направленные на улучшение результатов беременности при ЭКО, улучшают как психологическое, так и финансовое воздействие бесплодия на пациентов. Еще одна цель технологии — улучшить рабочий процесс эмбриолога за счет возможности сканирования нескольких эмбрионов и немедленной обратной связи посредством анализа в режиме реального времени. Улучшение результатов ЭКО снижает затраты пациентов и страховых компаний, повышает эффективность работы клиники, улучшает подготовку эмбриологов и снижает стресс, который испытывают пациенты с бесплодием, эмбриологи и врачи.

[0008] Объединяя современные системы искусственного интеллекта, машинного обучения, обработки графических изображений и оптики, практические идеи клинических эмбриологов и научный вклад инженеров по обработке данных, данная технология обеспечивает наиболее полную в мире систему оценки эмбрионов, измеряющую морфокинетику, жизнеспособность и развитие эмбрионов в единой, простой в использовании системе. Технология использует увеличение видео движения, которое «берет стандартную видеопоследовательность в качестве входного сигнала, применяет к кадрам пространственное разложение, а затем фильтрацию по времени. Полученный сигнал затем усиливается для выявления скрытой информации». С помощью этой технологии пользователь может исследовать рост и развитие и выявить наличие генетических

отклонений. Наше программное обеспечение глубокого обучения измеряет эти изменения для ранжирования эмбрионов, чтобы эмбриолог мог выбрать наиболее здоровые эмбрионы для переноса пациентам с наибольшей вероятностью выживания до окончания срока беременности. Эта технология превосходит золотой стандарт оценки эмбрионов в отрасли и требует меньше времени и затрат.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0009] На ФИГ. 1 изображена морфокинетическая активность как важный прогностический биомаркер у предимплантационных эмбрионов;

[0010] На ФИГ. 2 изображены морфокинетические модели эмбрионов, которые привели к успешной беременности.

[0011] На ФИГ. 3 изображен диапазон движения эмбриона в пределах субзонального пространства, что является важным показателем компетентности эмбриона.

[0012] На ФИГ. 4 изображено расстояние между внешними контурами площади массы и zona pellucida, которые измеряли;

[0013] На ФИГ. 5 изображены компоненты и ось измерения бластоцисты;

[0014] ФИГ. 6 демонстрирует движение клеточной массы внутри zona pellucida бластоцисты;

[0015] ФИГ. 7 представляет собой серию из 12 кадров, извлеченных из видеозаписи бластоцисты при 150-кратном увеличении; и

[0016] На ФИГ. 8 изображены те же 12 кадров, что и на ФИГ. 7, но после увеличения движения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0017] Решения, ставшие возможными благодаря настоящей технологии, ориентированы, в частности, на рынок клинического бесплодия человека в США, объем которого составляет 6,2 миллиарда долларов. Технология также будет использоваться на мировом рынке бесплодия, объем которого составляет 37,7 миллиарда долларов. По статистике, 95% бесплодных людей не обращаются за медицинской помощью, а технологии, позволяющие снизить затраты и увеличить успех, будут способствовать росту рынка

бесплодия. Анализ рынка показывает, что снижение цены на услуги ЭКО на 50% приведет к увеличению использования услуг по лечению бесплодия на 160%.

[0018] Первоначальное выявление клиентов было проведено с помощью сбора данных первичных маркетинговых исследований. Сорок шесть интервью с потенциальными клиентами были проведены в рамках когорты Regional Southwest Node I-Corps. Дальнейшее выявление клиентов было проведено в ходе National I-Corps Node с номером решения 1444045 в Атланте в январе 2018 года. Было проведено 231 интервью с клиентами в Джорджии, Калифорнии, Колорадо, Техасе и Аризоне. На сегодняшний день было проведено более 750 интервью. Из этих интервью были получены сведения о наблевших проблемах клиентов от специалистов REI (врачей репродуктивной эндокринологии и бесплодия), директоров лабораторий, управляющих лабораториями ЭКО, старших эмбриологов, младших эмбриологов, медсестер по лечению бесплодия, акушеров-гинекологов, пациентов с историями успеха ЭКО, пациентов с неудачными попытками ЭКО и текущих пациентов ЭКО. Хотя возможности рынка были подтверждены в общем секторе бесплодия, было установлено, что директора лабораторий, контролирующие работу и безопасность эмбриологических лабораторий, являются непосредственными пользователями и лицами, принимающими окончательное решение о том, какие биомедицинские устройства и диагностические инструменты будут использоваться в их клинике(ах).

[0019] Исследованные данные и научная литература свидетельствуют о том, что за почти четыре десятилетия в способ сортировки и отбора эмбрионов для переноса было внесено очень мало изменений, а многие технологии, обещающие повысить частоту наступления беременности при ЭКО, являются успешными, но при этом увеличивают частоту выкидышей, поэтому показатель успешных родов не улучшился. Шокирует тот факт, что показатели успешности ЭКО в последние годы снизились и демонстрируют отрицательную зависимость с протоколами мягкой стимуляции, селективным переносом одного эмбриона, преимплантационным генетическим тестированием, всеми циклами заморозки, банком эмбрионов и расширенным культивированием. Индустрия использует ежегодный национальный сводный отчет SART для получения точных клинических результатов, количества запусков циклов и разбивки показателей живорождения в зависимости от типа лечения и возраста пациента. Директора лабораторий поделились, что существует много новых технологий визуализации, таких как замедленная визуализация, но

оборудование слишком дорогостоящее и занимает много места для использования в обычной клинической эмбриологии.

[0020] Во время опроса директора лабораторий и эмбриологи выразили мнение, что неинвазивные технологии, помогающие стандартизировать отбор эмбрионов, могут уменьшить человеческий фактор, поскольку хорошо известно, что существующие процедуры отбора эмбрионов очень субъективны и зависят от усмотрения эмбриолога в отношении визуального морфологического вида эмбриона. Кроме того, неинвазивные технологии, помогающие прогнозировать здоровье эмбрионов, могут повысить надежность прогнозов, позволить принимать обоснованные решения и повысить уровень просвещения и ожиданий пациентов. Существует потребность в снижении психологического воздействия лечения бесплодия. Многие пациенты говорят о том, что чувствуют, будто им не хватает времени для создания семьи. Они хотят быть активными родителями и чувствуют, что время работает против них. Многие пациенты потратили годы на попытки завести ребенка. Когда они, наконец, решаются на лечение, их часто ставят в очередь на посещение выбранной ими клиники. Каждый неудачный раунд ЭКО отнимает драгоценное время. Технологии, позволяющие сократить время наступления беременности, облегчат психологическую нагрузку на пациентов.

[0021] Было подтверждено, что в секторе клинического бесплодия существует легкодоступная рыночная возможность. В США существует 448 клиник ЭКО, а также банки донорских яйцеклеток, которые сотрудничают с более чем 150 клиниками ЭКО. Спектр клиник ЭКО быстро меняется. Стартап Prelude Fertility с капиталом в 200 миллионов долларов, объединивший множество клиник по всей стране, предлагает пациентам ЭКО, а также поощряет молодых женщин замораживать свои яйцеклетки для сохранения фертильности. Prelude считается «самой быстрорастущей сетью клиник по лечению бесплодия в стране и крупнейшим поставщиком комплексных услуг по лечению бесплодия». Цель Prelude — снизить первоначальные затраты на лечение бесплодия. Другие национальные бренды следуют этому примеру, чтобы помочь стандартизировать индустрию лечения бесплодия, открывая возможности для технологий, помогающих улучшить качество и последовательность услуг и опыт пациентов. В ходе этого изучения клиентов было подтверждено, что подписка на аренду программного обеспечения и продажа совместимых расходных материалов является наиболее масштабируемой и устойчивой моделью получения дохода, основанной на тестировании.

[0022] Рынок технологий скрининга эмбрионов ограничен требованием, что эмбрионы должны пережить процесс диагностики невредимыми. Многие существующие способы оценки, такие как окрашивание, электронная микроскопия и генетическое тестирование, используют только в исследовательских условиях, поскольку эти процессы приводят к летальному исходу. Наиболее часто используемым способом оценки качества эмбрионов и ооцитов является морфологический анализ с помощью светового микроскопа. При такой оценке специалист изучает клетки на предмет визуально видимых характеристик, таких как форма, размер, симметрия, цвет и скорость развития клеток. Хотя этот способ является неинвазивным и экономически эффективным, он субъективен и зависит исключительно от усмотрения эксперта и не включает информацию о биохимическом содержании эмбриона или его генетическом составе. Для усовершенствования морфологического анализа доступны системы визуализации с замедленной съемкой, такие как EmbryoScope®, позволяющие в контролируемой культуре связать события развития и конкретные временные точки. В исследовании, опубликованном в журнале «Journal of Reproduction and Genetics», только 17% опрошенных лабораторий имели систему для получения изображений в замедленном режиме, и большинство опрошенных директоров лабораторий утверждают, что «визуализация в замедленном режиме не станет стандартом лечения, потому что технология слишком дорогая, нет доказательств того, что она дает дополнительные преимущества, и она слишком трудоемка и непрактична». Другие утверждают, что единственное преимущество замедленной визуализации заключается в том, что она позволяет получить ненарушенную культуру.

[0023] Мир фертильности начинает внедрять технологии, использующие искусственный интеллект, в свои лабораторные системы. Эти системы, как правило, являются функцией временной визуализации или компьютерного анализа неподвижных изображений. В частности, компания-новичок под названием Life Whisperer добилась успехов в области анализа состояния эмбрионов с помощью искусственного интеллекта. Life Whisperer — австралийская компания, которая обрабатывает двухмерные статические изображения эмбрионов через систему для анализа морфологических характеристик эмбрионов. Согласно исследованиям, проведенным совместно с Ovation Fertility, технология искусственного интеллекта Life Whisperer показала улучшение прогноза успешной имплантации на 50%. Другие компании также используют искусственный интеллект для отбора эмбрионов. Однако настоящая технология является уникальной и отличной,

поскольку в ней искусственный интеллект используется для анализа морфокинетики, движения и изменения эмбрионов в видеосистемах, а не морфологии клеток из статических или временных изображений.

[0024] Методы генетической оценки включают биопсию клеток эмбриона. Биопсированные клетки затем отправляют в лабораторию для проведения генетического тестирования, а оставшийся эмбрион должен быть заморожен до получения результатов. Преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ) включает в себя как преимплантационный генетический скрининг, так и преимплантационную генетическую диагностику, которые могут информировать эмбриологов и пациентов о генетических аномалиях (таких как анеуплоидия или трисомия), генетических заболеваниях и поле эмбриона. ПГТ было разработано для пациентов высокого риска с известным заболеванием или генетическим признаком, а не для обычных пациентов ЭКО/ВРТ. Недостатки ПГТ обусловлены инвазивным характером теста, который повышает риск гибели клеток, требованием дорогостоящего оборудования и высококвалифицированного персонала, а также дорогостоящими расходами в размере от 4000 до 7500 долларов США сверх платы, связанной с ЭКО. Данные ПГТ свидетельствуют об отсутствии разницы в частоте наступления беременности у пациенток моложе 36 лет. Другие отчеты утверждают, что ПГТ значительно увеличивает количество беременностей, но многие врачи предупреждают, что оно также увеличивает количество выкидышей, что указывает на то, что показатель успешных родов не улучшился. Неинвазивная система анализа эмбрионов настоящего описания может быть использована в качестве стандарта лечения в лабораторном протоколе.

[0025] Конкурентное преимущество настоящей технологии заключается в том, что она является неинвазивной, бессубъектной, использует количественный анализ, включающий алгоритмы искусственного интеллекта и глубокого обучения, оценивает рост и развитие эмбриона в режиме реального времени и предлагает немедленную обратную связь пользователям по доступной цене для клиницистов, лабораторий и пациентов. Технология не подвергает эмбрион ненужным рискам, не требует биопсии клеток или манипуляций, позволяет сканировать несколько эмбрионов одновременно и получать прогнозируемые данные менее чем за 2 минуты. Благодаря этой технологии пользователь может наблюдать изменения в морфокинетики эмбриона в режиме реального времени. Предварительные данные были собраны на 150 эмбрионах крупного рогатого скота. Были отмечены значительные изменения в морфокинетики эмбрионов, их движении, росте и развитии в

режиме реального времени. Ожидается, что эта технология будет иметь быстрый успех на рынке, так как она является безопасным и эффективным средством анализа здоровья эмбрионов в режиме реального времени, что является прогрессом по сравнению с существующими методами.

[0026] Касательно морфокинетической активности, ссылка сделана на ФИГ. 1, на которой были определены средние субзональные изменения, чтобы представить движение эмбриона или морфокинетическую активность. Для стандартизации морфокинетической активности эмбриона на отдельный эмбрион этот показатель делили на площадь массы, чтобы представить процент (%) движения. Процент (%) морфокинетической активности был проранжирован и отображен на графике для 94 бычьих эмбрионов ($n=94$). У 24 эмбрионов (25%) морфокинетические изменения находились за пределами 2 стандартных отклонений от среднего значения, что показано на левом и правом хвостах диаграммы рассеяния. Из этих 24 эмбрионов 17 эмбрионов не привели к беременности (70%). Данные 17 эмбрионов составляют 18% от общего числа 94 эмбрионов. Установлено, что по своей сути 20% эмбрионов 1 и 2 класса являются некомпетентными на момент переноса. Данные этого исследования показывают, что эмбрионы за пределами 2 стандартных отклонений от среднего значения могут представлять эти некомпетентные эмбрионы, таким образом, предполагая, что данная технология эффективна для прогнозирования компетентности эмбрионов в культуре *in vitro*.

[0027] На ФИГ. 2 изображены морфокинетические модели эмбрионов, которые привели к успешной беременности. В данном случае были определены средние субзональные изменения, чтобы представить движение эмбриона или морфокинетическую активность. Для стандартизации морфокинетической активности эмбриона на отдельный эмбрион этот показатель делят на площадь массы, чтобы представить процент (%) движения. Процент (%) морфокинетической активности был ранжирован и отображен на гистограмме для 94 бычьих эмбрионов ($n=94$). 50 эмбрионов в данном исследовании привели к беременности. Из этих 50 эмбрионов 42 эмбриона (84%) продемонстрировали морфокинетическую активность (процент, %) от 0,07%-0,23%. Количество эмбрионов, продемонстрировавших процентную морфокинетическую активность от 0,07%-0,12%, 0,12%-0,18% и 0,18%-0,23%, не было статистически значимым ($p > 0,05$). 6 эмбрионов (12% эмбрионов, которые привели к беременности) продемонстрировали процентную морфокинетическую активность 0,23%-0,29% и 1 эмбрион (2%) продемонстрировал процентную морфокинетическую активность

0,29-0,34%. Количество эмбрионов, которые имели эти процентные морфокинетические изменения, было значительно меньше, чем эмбрионов с меньшей морфокинетической активностью.

[0028] ФИГ. 3 отражает диапазон движения эмбриона в пределах субзонального пространства, что является важным показателем компетентности эмбриона. При этом расстояние между внешними контурами площади массы и *zona pellucida* измеряли в определенных местах с интервалом в 5 секунд в течение 35-секундного периода наблюдения. Диапазон каждого расстояния рассчитывали в течение 35 секунд и усредняли для всех 12 конкретных мест для всех 94 эмбрионов ($n=94$), которые были перенесены реципиентам. Эмбрионы с меньшим диапазоном субзональной активности приводили к беременности с большей частотой, чем эмбрионы с высоким диапазоном субзональной активности ($P < 0,05$). 48 из 50 эмбрионов (96%) продемонстрировали диапазон движения от 1,6 до 12,7 мкм, в то время как только 2 эмбриона (4%) продемонстрировали диапазон движения в субзональном пространстве выше 12,7 мкм.

[0029] ФИГ. 4 отображает расстояние между внешними контурами площади массы и *zona pellucida* измеряли в определенных местах с интервалом в 5 секунд в течение 35-секундного периода наблюдения. Диапазон каждого расстояния рассчитывали в течение 35 секунд и усредняли для всех 12 конкретных мест для всех 94 эмбрионов ($n=94$), которые были перенесены реципиентам. 9 эмбрионов (9,57%) продемонстрировали диапазон субзональной активности более 12,5 мкм. 7 из 9 эмбрионов, продемонстрировавших диапазон более 12,5 мкм, не привели к беременности, что указывает на то, что эмбрионы с высоким диапазоном субзональной активности в течение 35 секунд менее склонны к наступлению беременности, чем эмбрионы с более умеренным диапазоном движения.

[0030] В качестве усовершенствования, технология увеличения видео движения (VMM) использует стандартную видеопоследовательность в качестве входного сигнала и применяет пространственное разложение, а затем фильтрацию по времени к кадрам. Полученный сигнал затем усиливают, чтобы выявить скрытую информацию. Данную технологию использовали в различных физиологических целях, включая дистанционное и неинвазивное измерение частоты сердечных сокращений и дыхания младенцев. По сути, данное программное обеспечение может снимать видео, казалось бы, статичных изображений и визуально выявлять их микродвижения. Как хорошо известно, развивающиеся эмбрионы подвергаются митозу с экспоненциальной скоростью. Первоначально была выдвинута

гипотеза, что применение к эмбрионам программного обеспечения увеличения видео движения позволит увидеть развитие эмбриона, его распад и выявить наличие генетических отклонений. Теперь известно, что такая визуализация и лежащие в ее основе данные позволяют определить статус жизнеспособности эмбриона непосредственно перед переносом, используя относительно короткое видео, снятое в это время в режиме реального времени. Продолжительность видеозаписи небольшая, обычно несколько минут или меньше. Преимуществом является то, что продолжительность видео может быть менее минуты, что облегчает рабочий процесс техника. Такая технология позволяет оценить здоровье и жизнеспособность эмбрионов и отвечает потребностям клинического эмбриолога, поскольку позволяет проводить сканирование нескольких эмбрионов, является неинвазивной и совместима со стандартным видеооборудованием. Расходные материалы будут совместимы с оптической системой для повышения эффективности графической обработки изображений, идентификации эмбрионов и обеспечения стабильного получения прибыли.

[0031] В экспериментальном исследовании для определения эффективности увеличения видео движения для усиления ранее не обнаруживаемой морфокинетики эмбриона, видео бластоцисты крупного рогатого скота записывались при увеличении $\times 150$ в течение двух минут лицензированным ветеринаром с помощью инвертированного микроскопа. После записи видео фильтровали с помощью системы увеличения видео движения платформы Lambda Vue (более подробно рассматривается ниже), визуально были очевидны движения как внутренней клеточной массы, так и *zona pellucida*. Наблюдались выступы, выпуклости, впадины, пульсации и изменения формы эмбриона. Данная технология стала первой в своем классе, позволяющей усиливать и анализировать микродвижения и морфокинетику роста и развития эмбриона в реальном времени, без использования замедленной визуализации. С помощью программного обеспечения ImageJ, разработанного Национальным институтом здравоохранения, были проведены измерения эмбрионов крупного рогатого скота в определенные моменты времени, чтобы оценить изменения формы и размера эмбриона с течением времени. Эти измерения будут использованы для создания алгоритмов глубокого обучения для последующей разработки программного обеспечения для использования увеличения видео движения для прогнозирования здоровья эмбриона. Все эмбрионы 1 и 2 класса, которые были зарегистрированы, были перенесены в реципиентов, и предварительные данные о беременности будут получены с помощью ректального УЗИ. В данном экспериментальном исследовании на бычьей модели предварительные данные

свидетельствуют о том, что программное обеспечение для увеличения видео эффективно демонстрирует изменения в морфокинетике эмбрионов в режиме реального времени без использования замедленной визуализации и может генерировать значимые данные для визуального подтверждения активного роста эмбрионов, чтобы предположить жизнеспособность и генетическую компетентность за короткие периоды наблюдения.

[0032] Данная технология обеспечивает комплексную, портативную платформу, включающую инвертированную оптическую систему, приложение к хосту для запуска увеличения видео движения, программное обеспечение для прогнозирования эмбрионов и сопутствующий лабораторный расходный материал одноразового использования. Расходный материал будет состоять из одноразового полистиролового контейнера, который является специфическим и совместимым с оборудованием. Каждый расходный материал будет иметь уникальный QR-код, совместимый с программным обеспечением поставщика. Например, контейнер может состоять из 8 предварительно промаркированных лунок, чтобы легко поместить эмбрионы в поле зрения, идентифицировать и сортировать пост-результаты и повысить точность обработки графических изображений.

[0033] Данные, полученные на бычьей модели, показывают, что предимплантационные эмбрионы двигаются и претерпевают видимые физические изменения при усилении микродвижений. Наблюдаются выступы, выпуклости, впадины и сдвиги во внутренней клеточной массе, трофэктодерме и *zona pellucida*.

[0034] Бластомеры активно делятся, увеличивая массу эмбриона, пока не произойдет дифференциация на стадии развития бластоцисты, на которой бластомеры начинают организовываться в отдельную внутреннюю клеточную массу (развивающийся плод) и трофэктодерму (развивающаяся плацента). Человеческая яйцеклетка развивается от одной клетки до бластоцисты (~300 клеток) в течение 5-6 дней. Незначительные изменения в расположении бластомеров, их размере, количестве и ориентации клеток можно визуально наблюдать каждые несколько часов под световым микроскопом, а замедленная съемка помогает документировать эти изменения. Несмотря на то, что специалисты по эмбриологии понимают, что эмбрион постоянно растет и развивается, увидеть микроскопические изменения в реальном времени в большинстве систем микроскопии не представляется возможным.

[0035] Хорошо известно, что умирающие клетки также претерпевают физические изменения. Когда клетка умирает, мембранные белки теряют структурную целостность и не

могут осморегулировать внутриклеточную среду. Компоненты из внешней среды проникают в клетку через осмос, а внутриклеточные компоненты вытекают из клетки. Было замечено, что нежизнеспособные эмбрионы остро поглощают воду при попытке установления равновесия. Вода притягивается к внутриклеточной среде клетки, что может вызвать небольшую степень набухания клетки. После того как клетка стала нежизнеспособной в течение нескольких часов, более крупные внутриклеточные компоненты, такие как соли и белки, начали выходить из клетки и просачиваться через мембранные белки. Это можно наблюдать как фрагментацию и деградацию клеток. Эти свойства вызывают физические изменения во внешнем виде эмбриона, которые можно наблюдать с течением времени. Однако изменения роста и развития здорового эмбриона, а также гибель или распад эмбриона можно наблюдать в критических ситуациях. Применение к эмбрионам программного обеспечения для увеличения видео движения позволяет увидеть развитие эмбриона или его распад. Это может быть применено к эмбрионам непосредственно перед переносом для проверки соответствия эмбриона развитию перед переносом в матку пациента. На практическом уровне технология приносит пользу клиническому эмбриологу, поскольку позволяет проводить сканирование нескольких эмбрионов, является неинвазивной и совместима со стандартным видеооборудованием.

[0036] В экспериментальном исследовании бычьих ооциты были оплодотворены *in vivo* лицензированным ветеринаром. Эмбрионы вымывают из донора и помещают в питательную среду. Двухминутные видеозаписи снимают на инвертированный микроскоп при 150-кратном увеличении. Записанные видео загружают в Lambda Vue, видеоскоп с увеличением движения. Измерения для документирования изменений эмбриона получают с помощью программного обеспечения ImageJ. Диаметр оси X Zona pellucida, диаметр оси Y Zona pellucida, диаметр оси X массы, диаметр оси Y массы, площадь зоны, площадь массы, площадь массы внутренних клеток и вращательное смещение в субзональном пространстве регистрируют в моменты времени 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 секунд. Все записанные эмбрионы переносят животным-реципиентам как одиночные. В настоящее время снимают, увеличивают и анализируют 35-секундные видео со скоростью 10 кадров в секунду.

[0037] Полученные данные показывают, что существуют значительные различия в площади и размере эмбрионов в течение короткого, двухминутного периода времени, и увеличение видео движения эффективно для отображения этих изменений. Данные о

беременности получены с помощью трансректального ультразвукового исследования через 40 дней после переноса.

[0038] В первоначальном исследовании 150 бластоцист и морул 1 и 2 класса были получены от лицензированного ветеринара крупного рогатого скота. Двухминутные видеозаписи были получены от каждого эмбриона с помощью инвертированного микроскопа Iolight® при 150-кратном увеличении в стандартной культуре в среде Vigro Holding Plus. Все эмбрионы были пересажены подходящим реципиентам. Видеозаписи обрабатывали с помощью видеоскопа Lambda Vue Video Motion Magnification при частоте видео 0,2-4. Усиленные видеозаписи затем оценивали с помощью измерительных инструментов ImageJ для проведения количественного анализа с интервалом в 15 секунд. Оценивали следующие измерения: Диаметр оси Y Zona pellucida, диаметр оси X Zona pellucida, диаметр оси Y массы, диаметр оси X массы, площадь Zona pellucida, площадь массы, наблюдение выпуклостей на Zona pellucida, наблюдение выпуклостей на массе, субзональное пространство в 12 местах, как показано на ФИГ. 2 и 3.

[0039] Изменения наблюдали во всех измеренных свойствах с течением времени у отдельных эмбрионов. Изменения в степени смещения массы внутри zona pellucida (измерение субзонального пространства) и степени физического изменения формы и структуры внутренней клеточной массы демонстрируют наибольшую степень изменения, если выразить в процентах. Данные параметры будут соотнесены с результатами беременности для построения алгоритмов глубокого обучения, позволяющих прогнозировать потенциал развития предимплантационного эмбриона.

[0040] Что касается науки о животных, то в 2050 году численность населения планеты достигнет 9,5 миллиардов человек, и, по прогнозам, спрос на белок животного происхождения удвоится, что приведет к возникновению проблем, связанных с устойчивостью и продовольственной безопасностью. Современные методы ведения сельского хозяйства уже оказывают огромное давление на ограниченные ресурсы Земли и в значительной степени ответственны за огромную долю выбросов парниковых газов (ПГ). Правильное управление производством крупного рогатого скота может быть преимущественным для достижения продовольственной безопасности и экологических целей, поскольку говядина и молоко являются богатыми питательными веществами высококачественными белками, а крупный рогатый скот — это выносливое животное, которое может адаптироваться к изменениям климата, пастись на пастбищах, обычно

непригодных для выращивания сельскохозяйственных культур из-за климата, почвы и топографических ограничений, производить удобрения и перерабатывать корма в высококачественный белок. Современные методы производства крупного рогатого скота позволили снизить углеродный след животноводства, так как с 1980 года выбросы метана сократились на 40%. Генетическая селекция с помощью прогрессивных стратегий разведения может еще больше снизить выбросы ПГ при производстве крупного рогатого скота за счет повышения эффективности работы животных, улучшения коэффициента конверсии корма, снижения потребления сухого вещества и уменьшения производства энтерального метана.

[0041] Метан (CH_4) является основным ПГ, выделяемым в системах производства жвачных животных, при этом CH_4 от энтеральной ферментации составляет от 12% до 17% выбросов ПГ. Рацион питания является основным фактором, и хорошо известно влияние рационов из грубых кормов и концентратов на увеличение выбросов CH_4 в жвачных системах. Известно, что увеличение количества зерна, содержания крахмала в мелком зерне и кукурузе, увеличение состава бобовых и использование видов растений, содержащих вторичные метаболиты, такие как танины или сапонины, которые влияют на метаногенез в рубце, снижает ежедневные выбросы CH_4 у жвачных животных. Эффективность программ откормочных площадок по улучшению рациона питания позволила снизить углеродный след производства говядины в Канаде до 17 кг эквивалента углекислого газа ($\text{CO}_2\text{e}/\text{кг}$) для готовой говядины, выращенной на откормочных площадках, по сравнению с говядиной, выращенной на траве в Бразилии, которая может выделять 40 $\text{CO}_2\text{e}/\text{кг}$. Несмотря на эти преимущества, обновление пастбищ часто нецелесообразно, поскольку многие из этих видов растений являются слабыми конкурентами трав и имеют узкую климатическую и географическую адаптацию, а увеличение добавок зерна не является доступным или рациональным. Поэтому наиболее практичной и быстрой процедурой смягчения последствий может быть снижение выбросов CH_4 на корову путем разведения животных и генетической селекции для повышения эффективности использования кормов, поскольку это носит постоянный и кумулятивный характер.

[0042] Генетическая селекция может снизить выбросы ПГ в системе производства мясного и молочного скота, поскольку генетическая селекция 1) позволяет увеличить производство на одно животное, что уменьшает количество отдельных животных для производства того же количества говядины и молока; 2) снижает выбросы на единицу произведенной говядины или молока и 3) уменьшает потребление зерна, концентратов,

фуража, воды и земли. Пересадка эмбрионов (ПЭ) и экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) могут еще больше увековечить генетические признаки превосходных животных, поскольку они позволяют превосходным животным иметь больше генетического потомства за один год, чем это возможно в природе. Наследуемые фенотипы, представляющие интерес для снижения выбросов ПГ от мясного и молочного скота, включают потребление корма, флору рубца, жирнокислотный состав молока, потребление остаточного корма и эффективность использования корма. Кроме того, ВРТ могут помочь производителям контролировать соотношение полов, чтобы получить пол, наиболее желательный для работы (например, на молочных заводах предпочитают самок, потому что они производят молоко), и предлагают экономические преимущества, такие как сокращение интервалов между отелами, более стабильное производство приплода телят и максимальная ценность продукции. Благодаря этим преимуществам ПЭ и ЭКО стали рутинными стратегиями разведения в животноводстве, и ежегодно в Северной Америке пересаживается около 2,5 миллионов эмбрионов крупного рогатого скота.

[0043] Для проведения ПЭ или ЭКО превосходных самок, называемых «донорами», стимулируют суперовуляторными гормонами для получения повышенного количества ооцитов. Ооциты могут быть взяты из яичника ветеринаром и оплодотворены *in vitro* или животное может быть искусственно осеменено, а оплодотворенные эмбрионы могут быть вымыты из матки через 6-7 дней. На данном этапе ветеринар или эмбриолог осматривает эмбрионы под световым микроскопом и присваивает им класс, основываясь на визуальных морфологических характеристиках. На этой стадии высококачественные эмбрионы 1 и 2 класса переносят в реципиентов или замораживают для использования в дальнейшем.

[0044] К сожалению, показатели успешности ПЭ и ЭКО все еще очень низкие. Успех традиционного ПЭ составляет менее 65%, а ЭКО — менее 30% у крупного рогатого скота. Хотя причины неудачной беременности являются многофакторными и могут быть обусловлены эмбриональными, материнскими или экологическими стрессами, по оценкам, 20% перенесенных эмбрионов уже нежизнеспособны на момент переноса и никогда не приведут к беременности. Новые неинвазивные и бессубъектные технологии прогнозирования здоровья и пола эмбрионов могут повысить показатели беременности, что позволит повысить эффективность систем разведения животных и снизить негативное воздействие на окружающую среду для создания более устойчивого будущего.

[0045] Показатели беременности и контроль соотношения полов имеют большую ценность. Приблизительно 1200 долларов США вкладывается в каждый перенесенный эмбрион, независимо от того, наступит ли беременность. При текущих показателях беременности менее 65% при обычном переносе и менее 30% при ЭКО, любая технология, позволяющая улучшить показатели беременности, обеспечивает значительную экономию для производителей. Кроме того, генетически лучшие животные с полом, благоприятным для конкретной производственной системы, представляют большую ценность. ПЭ в сочетании с использованием современных технологий — это самый быстрый способ изменить и улучшить генетику стада и максимизировать прибыльность производителя и экологическую устойчивость. В Северной Америке была определена первоначальная рыночная возможность в размере 1,5 миллиарда долларов США для улучшения результатов беременности при ПЭ и ЭКО у крупного рогатого скота.

[0046] Видео эмбрионов были получены и усилены с помощью увеличения видео движения. Диаметр по оси Y внешней границы или периметра zona pellucida измеряли с помощью программного обеспечения ImageJ (Национальный институт здоровья) и масштабировали для представления единиц в микронах. Измерения проводили с интервалом в 5 секунд от 0 до 35 секунд. Наблюдали количественные изменения в диаметре эмбриона, демонстрирующие морфокинетические изменения за короткий период наблюдения. Изменения в диаметре эмбрионов происходят независимо для каждого эмбриона.

[0047] Видео эмбрионов были получены и усилены с помощью увеличения видео движения. Диаметр по оси Y клеточной массы измеряли с помощью программного обеспечения ImageJ (Национальный институт здоровья) и масштабировали для представления единиц в микронах. Измерения проводили с интервалом в 5 секунд от 0 до 35 секунд. Наблюдали количественные изменения в диаметре эмбриональной массы, демонстрирующие морфокинетические изменения за короткий период наблюдения. Их наблюдали визуально как выпуклости, впадины и выступы в клеточной массе с течением времени. Эти изменения позволяют получить прогностическую информацию о здоровье и жизнеспособности эмбриона.

[0048] Видео эмбрионов были получены и усилены с помощью увеличения видео движения. Площадь внутренней клеточной массы получали с помощью измерительных инструментов, доступных в программном обеспечении ImageJ (Национальный институт здоровья), и масштабировали для представления единиц в микронах. Измерения проводили с

интервалом в 5 секунд от 0 до 35 секунд. Наблюдали количественные изменения в площади массы, демонстрирующие морфокинетические изменения за короткий период наблюдения. Измерения представляют собой двухмерную область видимой массы. Было замечено, что клетки активно двигались, вероятно, в результате митоза и клеточного деления. В некоторые моменты, вероятно, отдельные клетки накладывались друг на друга, из-за чего двумерная область казалась уменьшенной. Данная технология демонстрирует активное развитие или распад клеток и не зависит от аддитивных или субтрактивных тенденций. Эти изменения свидетельствуют о кинетических свойствах развития для прогнозирования здоровья эмбриона, жизнеспособности, стресса и генетических характеристик.

[0049] Источником данных, обрабатываемых машинным обучением для разработки модели оценки и прогнозирования будущих возможностей/характеристик эмбрионов, является видеозапись преимплантационных эмбрионов, которые обычно находятся на стадии развития бластоцисты или морулы, что происходит примерно между пятью и девятью днями после оплодотворения. Эмбрионы могут быть продуктом оплодотворения *in vitro* («ЭКО») или оплодотворения *in vivo* (после чего эмбрионы вымывают из носителя). В данном описании ссылки на «бластоцисту» следует рассматривать как включающие по меньшей мере эмбрионы на стадии морулы.

[0050] При этом оценивают движение бластоцисты в течение относительно короткого периода времени. В качестве примера, 30 секунд или менее, но не более 5-10 минут. Видео по настоящему описанию представляет собой видео в реальном времени, в отличие от видео с замедленной съемкой, которое обычно используют для оценки эмбрионов. В данном контексте, видео с замедленной съемкой снимают в течение длительного периода времени (обычно часов, но чаще всего дней), и оно состоит из серии последовательных фотографий или «кадров», которые имеют значительные промежутки времени (30 секунд или более, но обычно минуты или часы) между собой. Согласно определению, данному в словаре Merriam Webster's Dictionary, замедленная съемка (таймлапс) — это «относящийся к или представляющий собой кинокадр, снятый со скоростью медленнее обычной, но обычно проецируемый с нормальной скоростью, так что медленное действие (например, раскрытие бутона цветка) кажется ускоренным». До сих пор относительно короткие видеозаписи эмбриона в реальном времени не анализировали на предмет кратковременных движений, поскольку они не были визуально различимы, в том числе при использовании увеличения, как это типично для наблюдения и оценки эмбрионов с замедленной съемкой.

[0051] На самом деле, как описано в настоящем документе, было обнаружено, что значительные движения происходят в бластоцисте. В соответствии с настоящим описанием, это движение записывают на видео в реальном времени, которое обычно снимают через микроскоп с увеличением (например, 150x), подходящим для наблюдения за эмбрионом. Однако даже под увеличением микроскопа такое записанное движение бластоцисты не является ощутимым для человека. Но зная, что движение бластоцисты записано на видео в реальном времени, даже если оно не является воспринимаемым, данные изображения видео подготавливают для машинного анализа.

[0052] Как и любое видео, описанные в настоящее время видео в реальном времени состоят из серии последовательных, равноотстоящих друг от друга по времени кадров изображения, что обычно называют частотой кадров. Записываемое движение бластоцисты обязательно проходит короткое расстояние, обычно с высокой скоростью, и, соответственно, в течение короткого времени. Следовательно, скорость кадров, используемая для этих записей, должна быть соизмерима по длительности, а предпочтительно быстрее. По меньшей мере в одном примере для записи движения бластоцисты используют частоту кадров 10 кадров в секунду (10 fps). На практике более высокая скорость кадров оказалась полезной, особенно на этапах обучения описываемого анализа AI/ML, поскольку быстрые движения бластоцисты на короткие расстояния фиксируются с большей точностью и четкостью. И наоборот, при снижении скорости кадров и увеличении промежутков времени между последовательными кадрами движение бластоцисты становится менее заметным.

[0053] Для настоящих целей желательно, чтобы каждый экземпляр данных обучения видеоизображения (и впоследствии данные видеоизображения цели, которые будут анализированы с использованием полученных таким образом обученных моделей) представлял собой относительно короткую видеозапись в реальном времени. Например, продолжительностью от пятнадцати секунд до нескольких минут. Не обязательно, чтобы каждое видео было записано отдельно; они могут быть вырезаны из более длинного видео бластоцисты, но выбраны так, чтобы наилучшим образом коррелировать с данными видеоизображения, которые будут обработаны полученной моделью; таким образом, использование обучающих данных видео аналогичной продолжительности впоследствии позволяет получить более точные прогнозы на их основе.

[0054] Независимо от того, подготавливают ли их как обучающие данные или как целевые данные для анализа обученной моделью, предварительная обработка

соответствующих наборов данных изображения бластоцисты из различных видео может включать нормализацию «сырых» наборов данных изображения к «стандартной» бластоцисте. Хотя для выполнения такой нормализации могут быть использованы различные известные способы, желаемый конечный результат заключается в том, чтобы наборы данных видеоизображений можно было сравнивать между собой с меньшими искажениями и «шумом». Одним из примеров является приведение одного или нескольких наборов данных изображения бластоцисты к одинаковому «размеру» путем увеличения (расширения) или уменьшения (сужения) соответствующих наборов данных до «стандартного размера», что облегчает их использование для обучения или анализа модели.

[0055] В некоторых случаях такую нормализацию «размера» не применяют, поскольку измеряют размер бластоцисты. Например, размер может спрогнозировать жизнеспособность бластоцисты и/или пол. Соответственно, относительный размер бластоцисты может также быть определяющим или желаемым дифференцирующим фактором среди группы кофертильных бластоцист (несколько яйцеклеток, оплодотворенных одновременно и растущих вместе в чашке для образцов), которые подвергают модельной оценке на жизнеспособность и/или пол, и относительный размер прогнозирует или по меньшей мере может быть использован для ранжирования бластоцист в группе.

[0056] Другим аспектом предварительной обработки, которую можно применить к данным изображения, является усиление движения, также называемое увеличением движения. Как описано выше, расстояние, на которое происходит движение бластоцисты, настолько мало, что оно не заметно человеку даже при типичном увеличении микроскопа (например, $\times 150$), но, тем не менее, движение в высокой степени прогнозирует характеристики бластоцисты (например, жизнеспособная, мужская, женская) и ее возможности (например, вероятность наступления беременности и/или получения полноценного живого потомства). Поэтому увеличение движения может быть применено для обеспечения нескольких преимуществ.

[0057] Первоначальное преимущество усиления заключается в том, что оно может сделать движение бластоцисты различимым для человека. Это важно, поскольку делает движение бластоцисты более «реальным» для оператора, который в противном случае может быть настроен скептически. Другое дело, что определенное движение бластоцисты, если оно присутствует, является непосредственно прогнозируемым для пользователя. Например, определенные движения бластоцисты, которые становятся видимыми в результате усиления,

прогнозируют жизнеспособность в сравнении с нежизнеспособностью, что представляет первостепенный интерес. Как объясняется более подробно в данном описании, в человеческих и нечеловеческих (животных) условиях, избежание имплантации нежизнеспособного эмбриона в реципиентное животное является крайне желательным, причем это еще более актуально для нечеловеческих применений, направленных на производство животных. Кроме того, описанные способы сбора видеоинформации/данных повышают практичность и осуществимость данного продукта, так как обеспечивают более быстрые результаты и сокращают время, необходимое для получения значимых прогностических данных.

[0058] На ФИГ. 7 изображена серия из 12 кадров, извлеченных из видеоклипа бластоцисты (с частотой кадров 2 fps), без увеличения (расположены слева направо, сверху вниз). Хотя известно, что движение бластоцисты происходит, его не видно даже при 150-кратном увеличении. Однако на ФИГ. 8 изображены те же 12 кадров после увеличения, и последовательные кадры четко отображают движение, поскольку кадры постепенно меняются, что свидетельствует о движении бластоцисты в реальном времени.

[0059] Еще одним преимуществом усиления движения является то, что усиленные данные изображения подчеркивают характеристики движения, которые анализируют (с помощью компьютерного зрения, цифровой обработки изображений или иным способом) на этапе обучения и разработки модели, или после этого при использовании полученной модели для прогнозирования.

[0060] В процессе обучения модель может быть обучена прогнозировать, среди прочего, жизнеспособность, вероятность беременности, вероятность рождения живого ребенка, пол, а также наличие или отсутствие генетических аномалий и заболеваний, таких как диабет, рак и тому подобное.

[0061] Увеличение видео движения может быть использовано для оценки острой реакции на стрессовые факторы окружающей среды, что дает представление о результатах развития и здоровья. Понимание механизмов гомеостаза эмбриона через визуализацию реакции эмбриона на переменные может помочь оптимизировать системы культуры, среды, материалы, питательные вещества, клеточный метаболизм, окружающую среду и общую компетентность развития. Это может быть полезно для определения раннего прогноза рака, метаболического профиля или генетических дефектов.

[0062] Муковисцидоз (МВ) вызывается генетической мутацией в гене CFTR, который регулирует хлоридный канал. Это генетически рецессивное заболевание. Перспективные родители могут быть обследованы для определения статуса носителя. Единственный способ определить МВ — это преимплантационная генетическая диагностика эмбрионов (процесс биопсии). Люди с МВ не могут регулировать транспорт хлорида; поэтому, когда хлорид добавляют в среду, содержащую эмбрион, наблюдается предсказуемое движение. Эмбрионы, которые «толерантны» к хлориду, скорее всего, здоровы и могут перерабатывать и метаболизировать его должным образом, поскольку они не имеют генетической мутации CFTR. Эмбрионы, которые показывают неблагоприятную реакцию (например, быстрое движение, указывающее на стресс), определяют как не обрабатывающие хлорид должным образом, и технология, описанная в данном документе, обеспечивает неинвазивное средство для диагностики муковисцидоза.

[0063] У людей с муковисцидозом было выявлено более 1000 мутаций в гене CFTR. Большинство этих мутаций изменяют отдельные строительные блоки белка (аминокислоты) в белке CFTR или удаляют небольшой фрагмент ДНК из гена CFTR. Наиболее распространенная мутация, называемая дельта F508, представляет собой делецию одной аминокислоты в положении 508 в белке CFTR.

[0064] Эти принципы применимы для определения многих генетических и метаболических заболеваний. Глюкоза в среде прогнозирует диабет. Обнаружение калия в среде прогнозирует гиперкалиемический периодический паралич у лошадей и прочих животных.

[0065] Визуализация реакций эмбрионов позволяет сравнивать и понимать скорость роста эмбрионов и морфологическую кинетическую активность или деградацию.

[0066] Настоящая технология облегчает неинвазивный выбор пола эмбриона. Существуют научные данные, указывающие на то, что мужские эмбрионы развиваются быстрее, чем женские. Это можно наблюдать по общему количеству клеток на стадии развития бластоцисты. Эти данные в основном анекдотичны, поскольку трудно подсчитать клетки неинвазивно, не причинив вреда эмбриону. Однако для того, чтобы количество мужских клеток было больше за заранее определенный период времени, клетки в мужских эмбрионах должны размножаться быстрее. Увеличение видео движения можно использовать для обнаружения и определения скорости роста эмбриона для прогнозирования количества клеток, чтобы неинвазивно предсказать пол эмбриона.

[0067] Полученная обученная модель применима для прогнозирования таких параметров, как жизнеспособность, вероятность наступления беременности, вероятность рождения живого ребенка, наличие или отсутствие генетических аномалий. Эти прогнозы сделаны на основе обработки данных изображения с видеозаписи бластоцисты, в целом соответствующей видеозаписям, на которых была обучена модель. Как правило, видео бластоцисты, подлежащей анализу, снимают в «области наблюдения», которую рассматривают как место, где бластоцисту оценивают на предмет имплантации или сохранения. В данном контексте «область наблюдения», когда речь идет о животных, может быть, например, ветеринарной клиникой, коровником, трейлером для скота и/или находиться на открытом воздухе. Когда речь идет о человеке, «область наблюдения» обычно относится к клинике репродукции и т.п. Поэтому, чтобы избежать необходимости передавать видео (которое может представлять собой файл данных значительного размера) на удаленное место анализа, модель может быть расположена на локальном процессоре (компьютер, планшет, смартфон и т.п.), на котором выполняют желаемые прогнозы. В такой конфигурации, однако, теряется контроль со стороны разработчика модели. В качестве альтернативы, файл данных может быть передан на удаленный сайт разработчика, где видеофайл обрабатывают, а прогнозы передают обратно пользователю в области наблюдения.

[0068] На практике, в условиях места сбора бластоцист, обычно множество бластоцист суспендируют в питательной среде в одной одноразовой емкости, чашках Петри, чашках для органных культур и многолуночных планшетах. Соответственно, может быть снято и обработано одно видео относительно каждой из бластоцист для характеристик, на которые была обучена модель. Важным аспектом емкости является то, что она имеет прозрачное, практически плоское дно. Инвертированный микроскоп используют для записи видео бластоцисты (бластоцист) без искажений снизу емкости, через ее прозрачную, плоскую нижнюю поверхность. Это создает «эффект очков» и уменьшает шум в образце из-за преломления волн, вызванного пульсацией верхней поверхности жидкой среды. В качестве примера можно привести компактный инвертированный микроскоп марки iolight®, который используют для записи исходного видео бластоцисты (бластоцист). Сила увеличения составляет сто пятьдесят раз (150x), скорость кадров — 10 кадров в секунду, плотность пикселей — 2592 x 1944, микроскоп позволяет подключаться к смартфонам и планшетах для обмена полученным видео.

[0069] Также может быть вычислена относительная сила прогнозируемой характеристики среди группы бластоцист. Поскольку большинство характеристик, которые прогнозирует модель, основаны на характеристиках видеозаписи движения, силу (балл) большинства этих характеристик можно оценить на основе относительной амплитуды прогнозируемого движения между соответствующими бластоцистами. Кроме того, выборочное усиление определенных характеристик движения может сфокусировать прогнозы применяемой модели.

[0070] В качестве примера, на примере молочной фермы, десять бластоцист получили от коровы-донора и поместили в чашку Петри. Имеется только пять коров-реципиентов, поэтому техник хочет определить пять наиболее жизнеспособных женских бластоцист. Данные прогнозы можно рассчитать с помощью обученной модели и передать технику визуально или иным способом. Таким образом, техник может передать пять бластоцист, которые с наибольшей вероятностью произведут на свет теленка женского пола, как того желает молочная ферма. Подобные примеры могут быть характерны как для других видов животноводства, выгодных для немолочных предприятий, так и для селективного выбора и принятия решений по вопросам репродукции человека.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

1. Способ прогнозирования вероятности успешного переноса целевого эмбриона женщине-реципиенту путем обработки данных видеоизображения эмбриона с использованием модели, обученной с помощью машинного обучения и искусственной нейронной сети, который включает в себя:

получение данных изображения, формируемых из видеозаписи целевого эмбриона, сделанной со скоростью практически реального времени в течение периода времени, при этом разрешение видеозаписи достаточно для регистрации морфокинетического движения клеточной активности эмбриона, происходящего в течение периода времени, снятого на видео, и причем это движение представлено в полученных данных изображения; и

обработка полученных данных изображения с помощью модели, обученной с использованием (1) машинного обучения, (2) искусственной нейронной сети и (3) коррелированных данных об успешной беременности, причем модель определяет вероятность успешного переноса целевого эмбриона женщине-реципиенту.

2. Способ по п. 1, который отличается тем, что указанная обработка данных полученных изображений моделью дополнительно включает определение вероятности того, что целевой эмбрион произведет потомство определенного пола при успешном переносе в организм женщины-реципиента.

3. Способ по п. 1, который отличается тем, что указанная обработка данных полученных изображений моделью дополнительно включает определение вероятности того, что целевой эмбрион произведет генетически неполноценное потомство при успешном переносе в организм женщины-реципиента.

4. Способ по п. 1, который отличается тем, что указанная обработка данных полученных изображений моделью дополнительно включает определение вероятности того, что целевой эмбрион произведет генетически превосходное потомство при успешном переносе в организм женщины-реципиента.

5. Способ по п. 1, дополнительно включающий:
сообщение определенной вероятности успешного переноса целевого эмбриона лицу, получившему данные изображения, тем самым помогая ему принять решение о переносе эмбриона.
6. Способ по п. 1, который отличается тем, что полученные данные изображения получены из видео, снятого при культивировании целевого эмбриона в эмбриональной среде в чашке Петри.
7. Способ по п. 6, который отличается тем, что видео, из которого получены данные изображения, снимают с помощью инвертированной камеры микроскопа с видом снизу и через чашку Петри.
8. Способ по п. 7, который отличается тем, что дно чашки Петри, через которое ведется видеосъемка, по существу плоское и прозрачное, что позволяет получить оптически точное видео эмбриона.
9. Способ по п. 8, который отличается тем, что по меньшей мере один аспект целевого эмбриона, отраженный в полученных данных изображения, представляет собой эластичность внешней стенки эмбриона.
10. Способ по п. 1, дополнительно включающий:
получение данных, свидетельствующих о жизнеспособности целевого эмбриона и полученных в результате оценки удельного веса эмбриона, проведенной практически в то же время, когда была сделана видеозапись.
11. Способ по п. 10, который отличается тем, что оценку удельного веса эмбриона проводят в течение одного часа после съемки видео.
12. Способ по п. 10, который отличается тем, что оценка удельного веса зависит от скорости погружения эмбриона в среду для культивирования эмбрионов.

13. Способ по п. 1, дополнительно включающий:
получение данных изображения, полученных из видеозаписи каждого из множества целевых эмбрионов.
14. Способ по п. 13, который отличается тем, что данные изображения каждого из множества целевых эмбрионов обрабатывают с помощью модели и определяют балл успешного переноса каждого из целевых эмбрионов.
15. Способ по п. 14, дополнительно включающий:
сообщение оценки успешного переноса каждого из снятых на видео целевых эмбрионов создателю полученных данных изображения, тем самым помогая создателю принять решение о том, какие эмбрионы следует перенести.
16. Способ по п. 15, дополнительно включающий:
передачу рейтинга оценок успешного переноса снятых на видео эмбрионов создателю полученных данных изображения, тем самым помогая создателю принять решение о том, какие эмбрионы следует перенести.
17. Способ по п. 16, дополнительно включающий:
передачу данных отображения на дисплей, наблюдаемый создателем полученных данных изображения, что приводит к отображению ранжированных оценок успешности переноса в пространственном расположении, соответствующем пространственному расположению снятых на видео эмбрионов.
18. Способ по п. 1, который отличается тем, что морфокинетическое движение клеточной активности эмбриона незаметно для человека при 150-кратном увеличении.
19. Способ по п. 1, который отличается тем, что видео и полученные из него данные изображения не содержат замедленной съемки
20. Способ по п. 1, который отличается тем, что по меньшей мере часть данных, представляющих морфокинетическое движение клеточной активности целевого эмбриона в

полученных данных изображения, усиливают в процессе предварительной обработки перед тем, как обработать их с помощью искусственной нейронной сети.

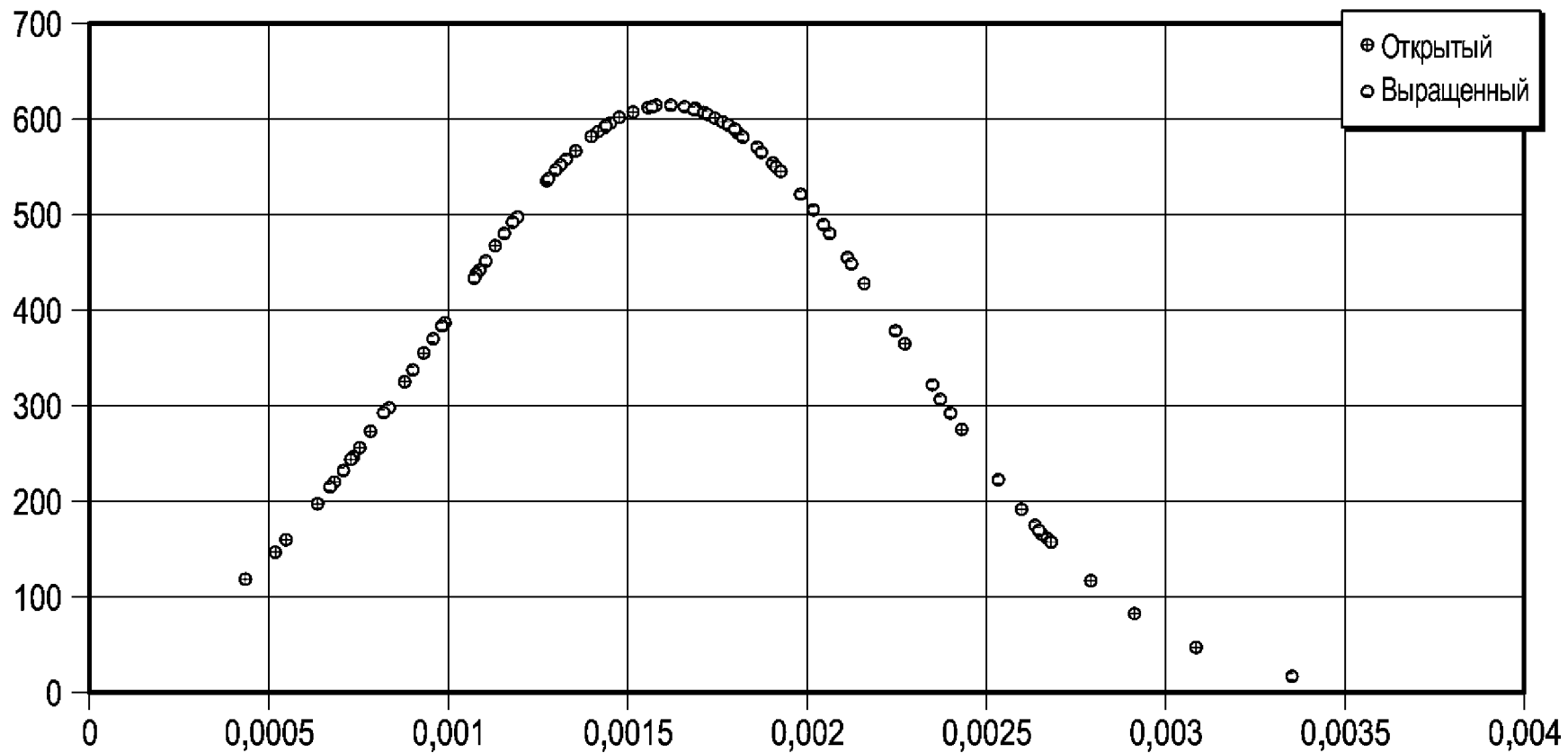
21. Способ по п. 20, который отличается тем, что усиление данных, представляющих морфокинетическое движение клеточной активности целевого эмбриона, осуществляют с помощью эйлера увеличения видео.

22. Способ по п. 20, который отличается тем, что усиленные данные, представляющие морфокинетическое движение клеточной активности, используют для отображения движущегося изображения целевого эмбриона, при этом движение воспринимается человеком невооруженным глазом.

23. Способ по п. 1, который отличается тем, что полученные данные изображения получают из видеозаписи, сделанной при отображении усиленного движущегося изображения целевого эмбриона, при этом движение различимо невооруженным глазом.

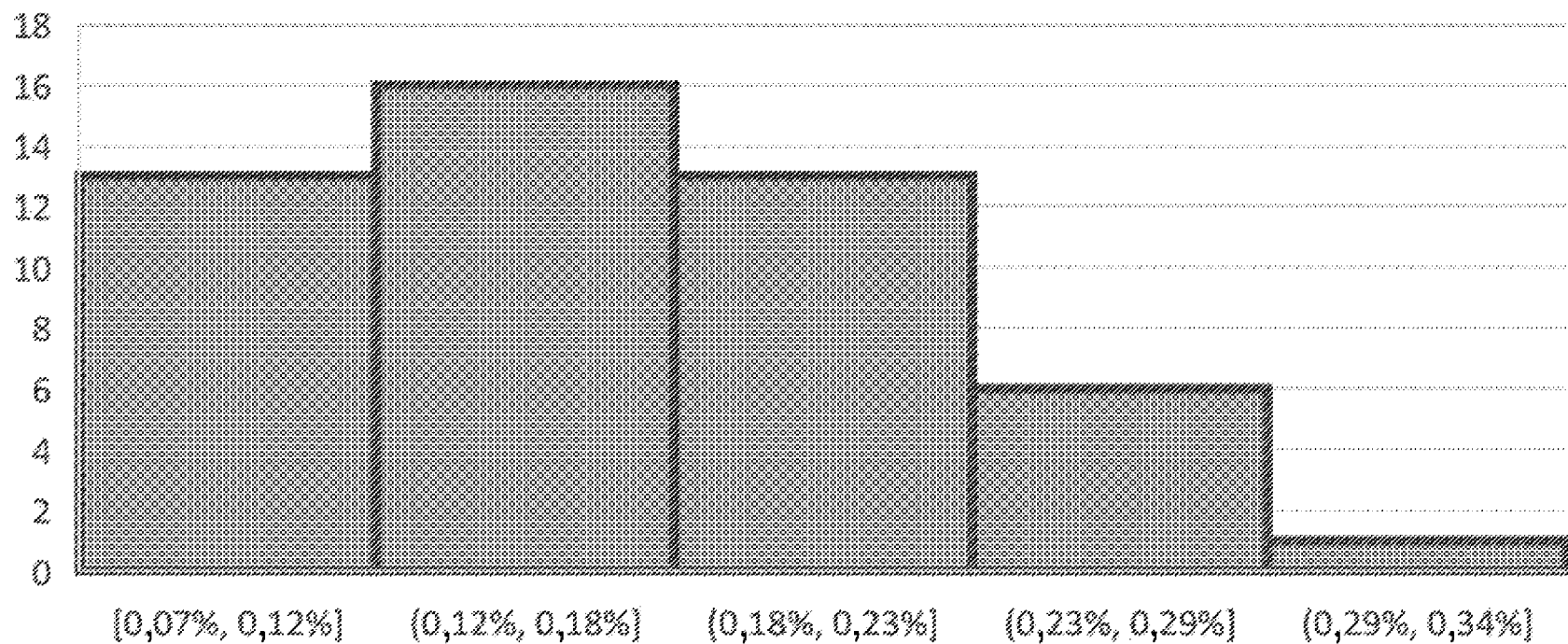
24. Способ по п. 23, который отличается тем, что усиленное движущееся изображение целевого эмбриона получено с помощью эйлера увеличения видео.

Морфокинетическая активность как важный прогностический биомаркер у преимплантационных эмбрионов



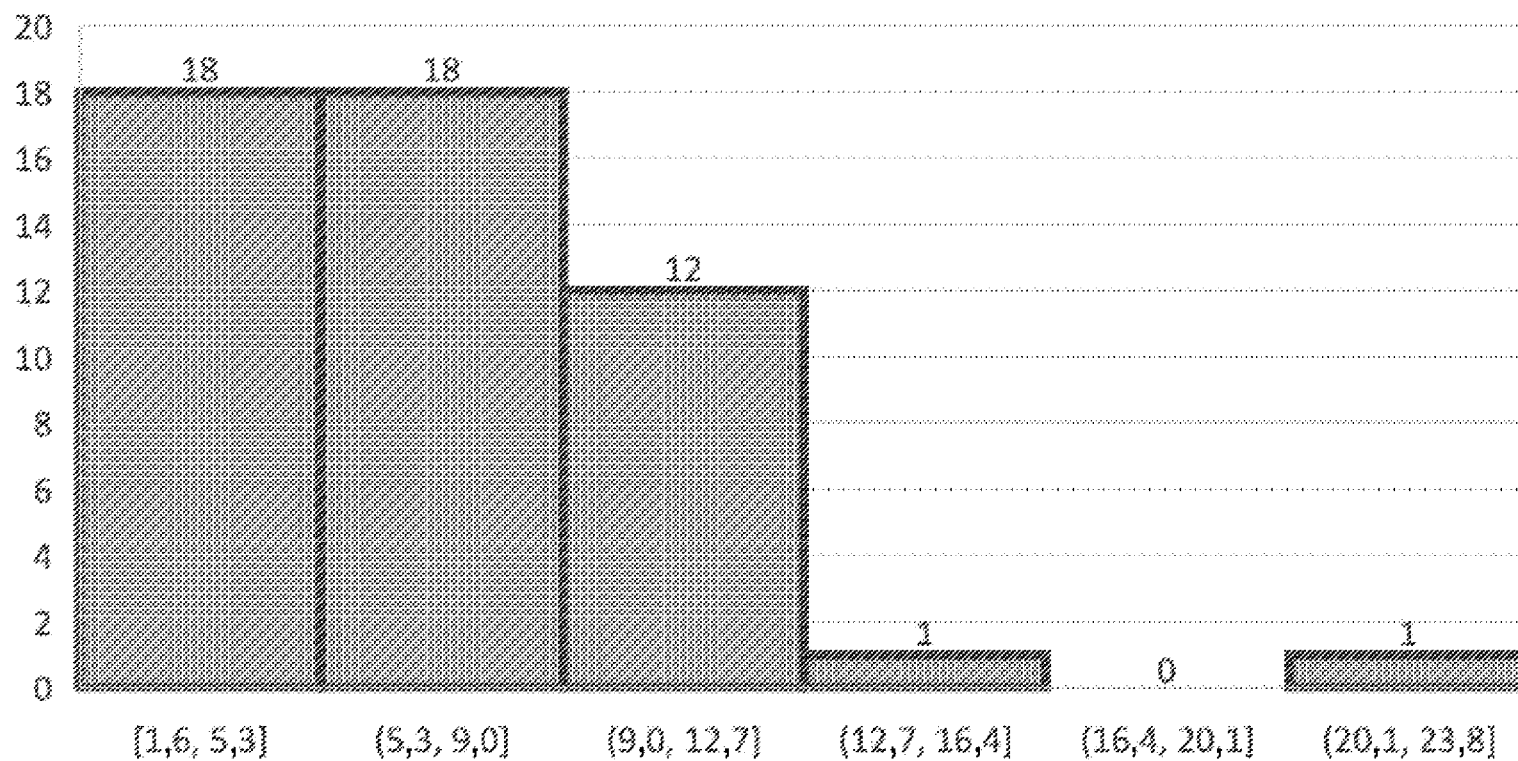
Фиг. 1

**Морфокинетические паттерны эмбрионов, которые привели
к успешным беременностям**



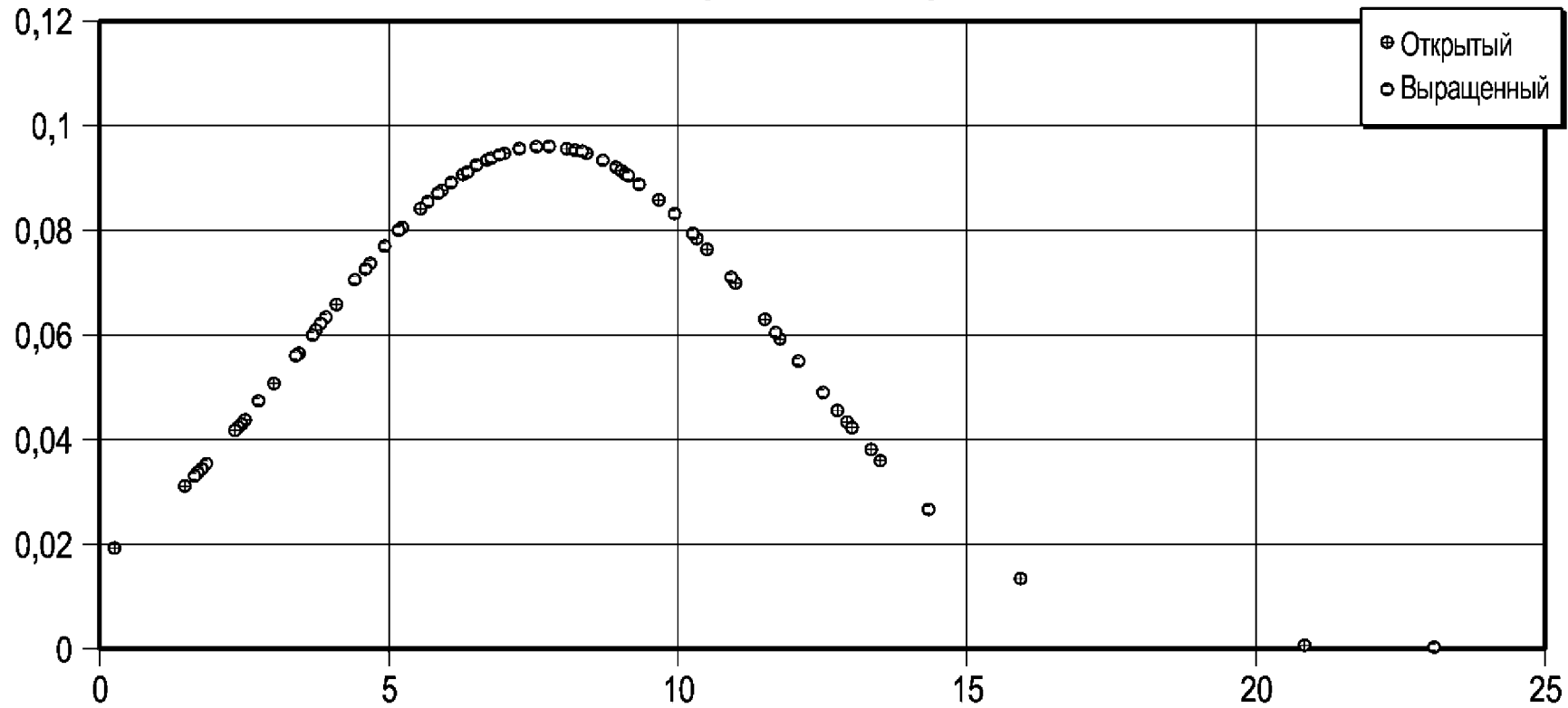
Фиг. 2

Диапазон движения эмбрионов в субзональном пространстве является важным показателем компетентности эмбрионов

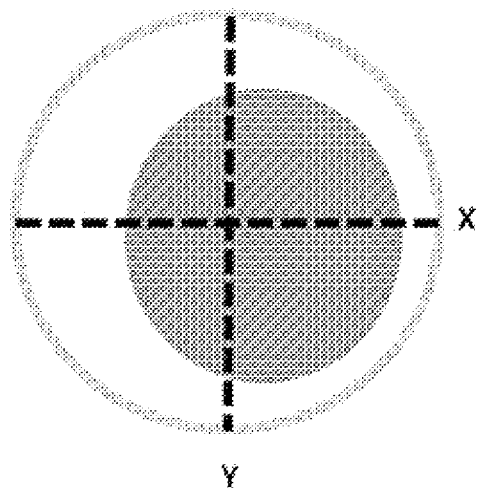


Фиг. 3

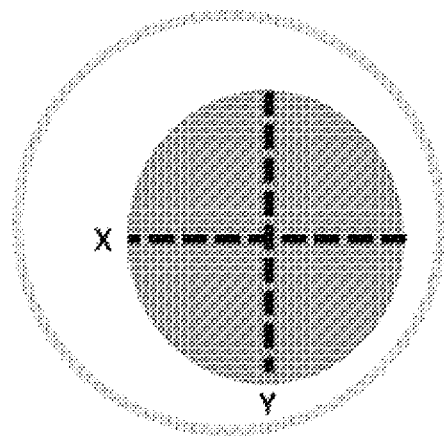
Эмбрионы с высоким диапазоном движений в субзональном пространстве не способны привести к беременности



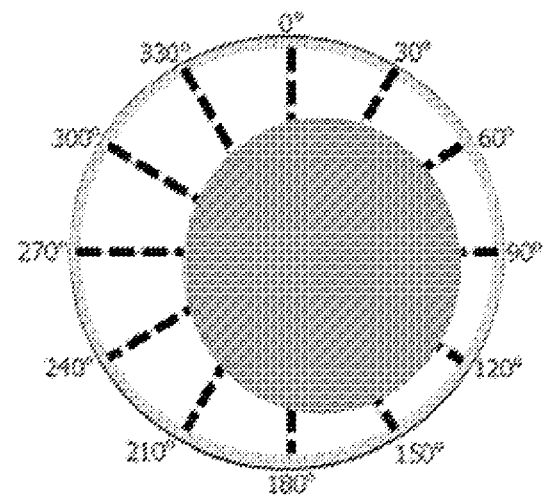
Фиг. 4



Диаметр X и Y Zona pellucida

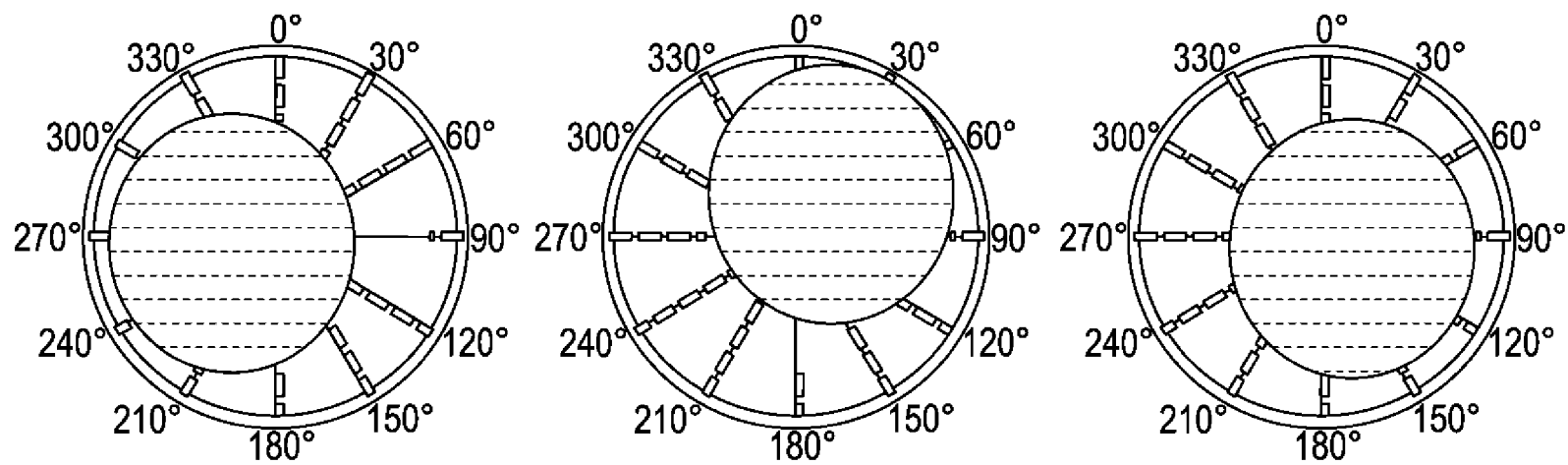


Диаметр X и Y клеточной массы

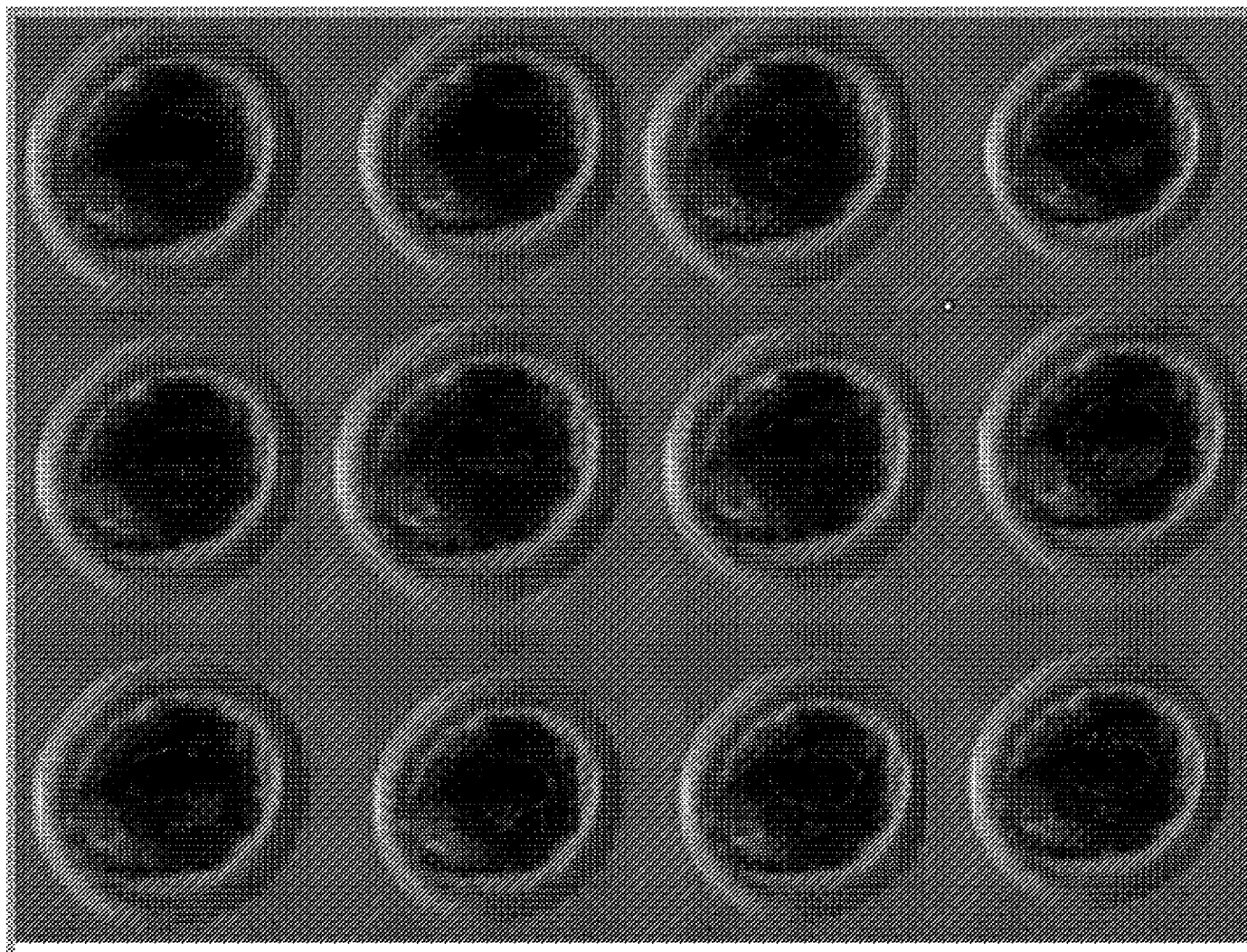


Измерение субзонального или перивителлинового пространства

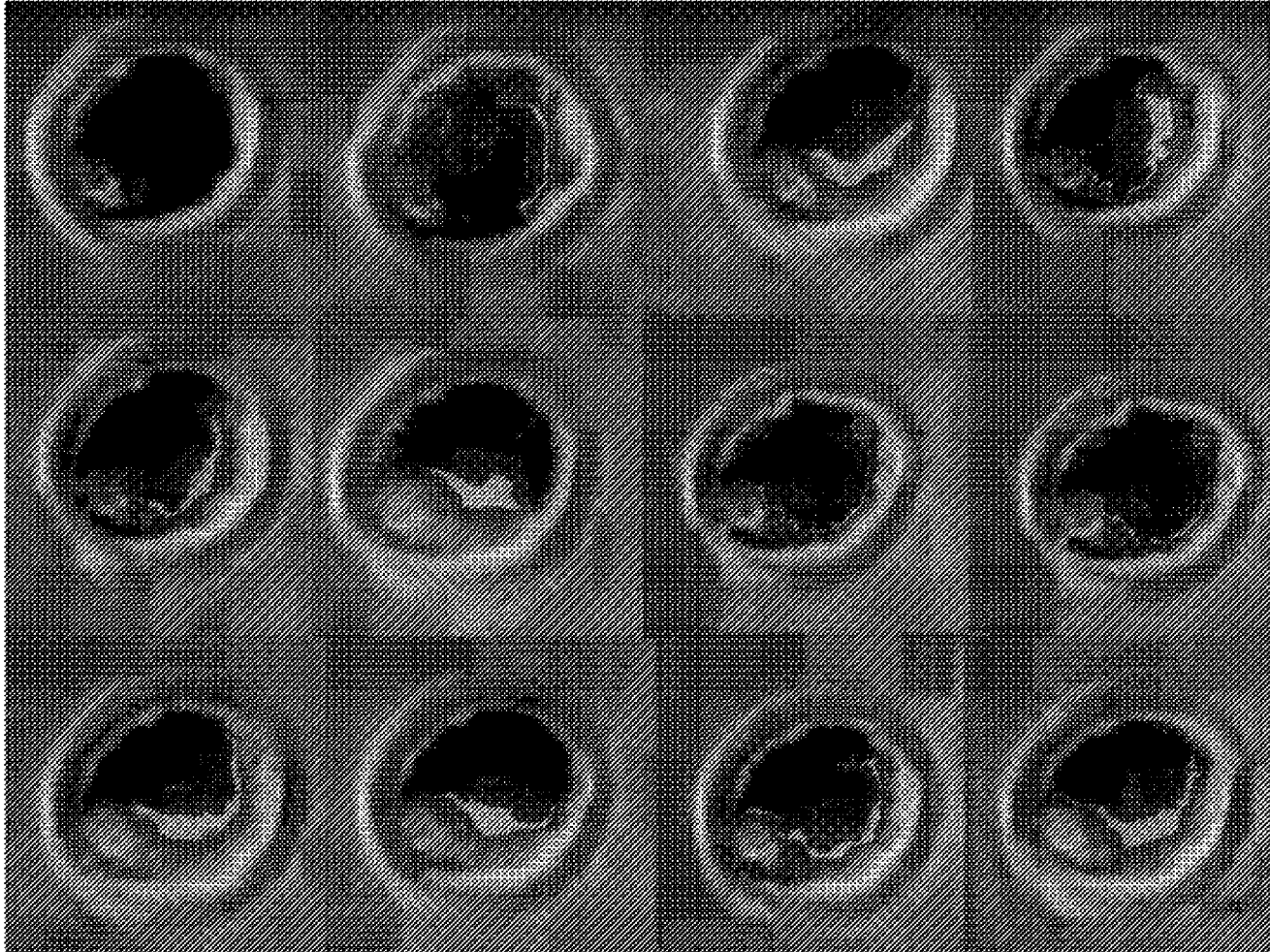
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг.7



Фиг. 8