

Sistema Inteligente para el Monitoreo Automático del Desarrollo de embriones dentro de Incubadoras

J. V. Martínez Nuño¹, I. R. Aguilar Figueroa¹, A. Chavez-Badiola^{2,3}, E. G. Mendizabal-Ruiz^{1*,3}

¹ Departamento de Ciencias Computacionales, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México

² New Hope Fertility Center, Jalisco, Mexico.

³ IVF 2.0 LTD, 1 Liverpool Rd., Merseyside, UK
**gerardo.mendizabal@academicos.udg.mx*

Resumen

Las clínicas de reproducción asistida ofrecen tratamientos para ayudar a la concepción del embarazo por medio de técnicas de fertilización in-vitro, la cual consiste en la fertilización de un óvulo y la subsecuente incubación del embrión en un medio controlado para su posterior transferencia a la madre. El proceso de incubación puede durar de tres a cinco días dependiendo de la evolución del embrión a transferir. Durante este tiempo, el embrión es evaluado por los embriólogos en repetidas ocasiones haciendo uso de un microscopio óptico utilizando aumentos de entre 200X y 400X. Sin embargo, este monitoreo implica retirar al embrión del ambiente controlado de la incubadora lo cual, en el caso de ser muy prolongado, puede producir alteraciones en el desarrollo del mismo. En este trabajo presentamos el desarrollo de un prototipo de un sistema inteligente para el monitoreo automático del desarrollo de embriones el cual permite capturar imágenes de micrografía de los embriones en una placa de Petri dentro de una incubadora convencional a intervalos regulares. Los resultados preliminares indican el potencial de utilizar el sistema propuesto para el monitoreo del desarrollo de los embriones a menores intervalos de tiempo y sin el riesgo que representa el retirarlos de las incubadoras.

Palabras clave: Desarrollo Embrionario, RETINANET, Monitorización

1 Introducción

Las clínicas de fertilidad buscan ayudar en el inicio del proceso de gestación mediante técnicas de fertilización in-vitro (IVF) [1, 2, 3] las cuales están diseñadas para promover el desarrollo correcto de un embrión, que al ser implantado en la madre, resulte en un embarazo exitoso [4]. Las técnicas de IVF requieren de que tanto los gametos como los blastocistos en sus diferentes etapas estén en un ambiente controlado que simula las condiciones existentes en el útero de la mujer. El buen control de las variables que mantengan estas condiciones resulta necesario para que el proceso embrionario sea exitoso [5]. En la actualidad, la mayoría de las clínicas de IVF en el mundo llevan a cabo el proceso de evaluación de los embriones en desarrollo mediante la valoración visual de las variables morfológicas de los mismos mediante un microscopio óptico con niveles de ampliación de entre 200X a 400X. Dicho proceso de evaluación requiere que los especialistas del laboratorio saquen los embriones de el ambiente controlado de la incubadora por un periodo de tiempo mientras logran llevar a cabo la valoración. Tiempos largos para llevar a cabo este proceso pueden resultar potencialmente perjudiciales para los embriones ya que, al retirarlo de su ambiente controlado, se pueden generar condiciones que afecten su desarrollo [6]. Actualmente existe una técnica llamada “Incubación de Lapso de Tiempo”, la cual utiliza incubadoras especiales que contienen compartimientos para embriones individuales que cuentan con una cámara especializada que permite tomar fotografías a intervalos de tiempo programados. Dichas incubadoras

son muy costosas y por lo tanto implican una inversión importante por parte de las clínicas de fertilidad y con ello un costo extra para los pacientes. Por lo tanto, la mayoría de las clínicas de IVF no cuentan con incubadoras de lapso de tiempo estando expuestas a los riesgos que surgen de la necesidad de sacar a los embriones constantemente para monitorear su evolución. Debido a esta situación, sería conveniente contar con algún dispositivo que permitiera el monitoreo de la evolución de los embriones dentro de las incubadoras con las que actualmente cuentan las clínicas. En el presente trabajo se propone un sistema inteligente para el monitoreo automático del desarrollo de embriones que consta de un microscopio que se coloca dentro de la incubadora y de un sistema de motores que permiten moverlo de manera automatizada. Además el sistema cuenta con un modelo de red neuronal profunda (deep learning) que permite hacer la identificación automática de los embriones dentro del área de movimiento de la cámara dentro de la incubadora, con lo cual es posible establecer, de manera automática, las posiciones en donde se encuentran los embriones a monitorizar para llevar a cabo la toma de fotografías digitales a determinados intervalos de tiempo, logrando así datos de lapso de tiempo.

2 Metodología

El sistema propuesto se compone por una parte de hardware y otra de software. El hardware del sistema consiste en tres componentes: el sensor que permite la captura de las imágenes de los embriones, la instrumentación que permite el movimiento del sensor y la estructura que soporta al sistema. El sensor utilizado consiste en un microscopio de la marca Dino-Lite Digital Microscope modelo AF4915ZT el cual cuenta con un aumento de 20x-220x y permite una captura de imágenes digitales con una resolución de 1280x1024 píxeles [7]. Para el desarrollo del sistema mecánico, se utilizaron 3 motores a pasos en conjunto con igual número de deslizadores, utilizando dos pares de estos para controlar el eje X y uno para controlar el eje Y. La instrumentación para el control de los motores se realizó utilizando el microcontrolador ATMEGA 328P-PU (Arduino UNO [8]) en conjunto con la tarjeta CNC Shield V3 utilizando el driver A4988 (Ver Fig. 1).

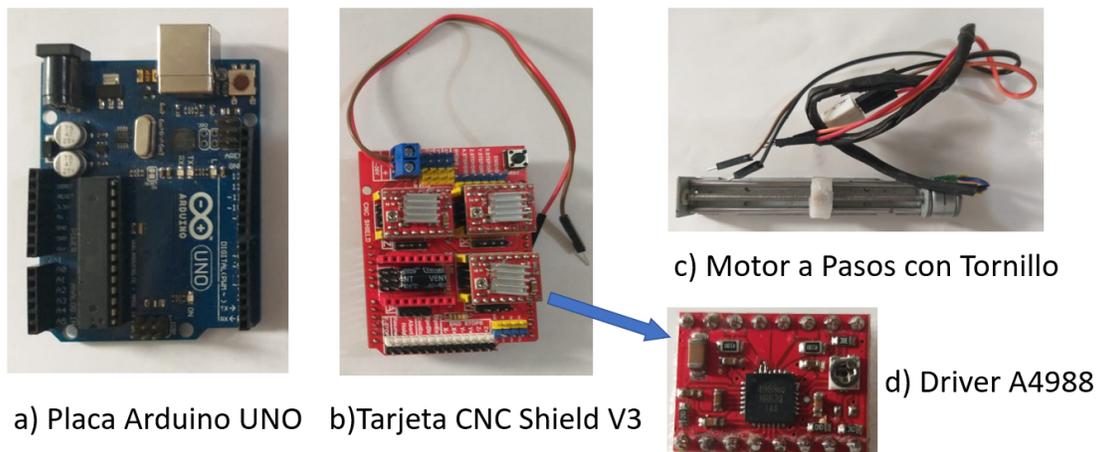


Fig. 1. Hardware utilizado para el sistema mecánico y su instrumentación. a) Placa Arduino UNO, b) Tarjeta Shield CNC V3, c) Motor a pasos con tornillo y d) Controlador para motores a pasos A4988.

La estructura del sistema es modular (Ver Fig. 2) y consta de cuatro elementos: la base, cuatro pilares de altura, una superficie para colocar cajas de Petri y dos sujetadores utilizados para los deslizadores. El diseño de la estructura se llevó a cabo utilizando la herramienta Tinkercad (<https://www.tinkercad.com/>). El área de trabajo del prototipo, corresponde a dos cajas de Petri don-

de cada una puede almacenar hasta 6 muestras, dando un total de 12 células embrionarias que pueden ser monitorizadas de manera remota.

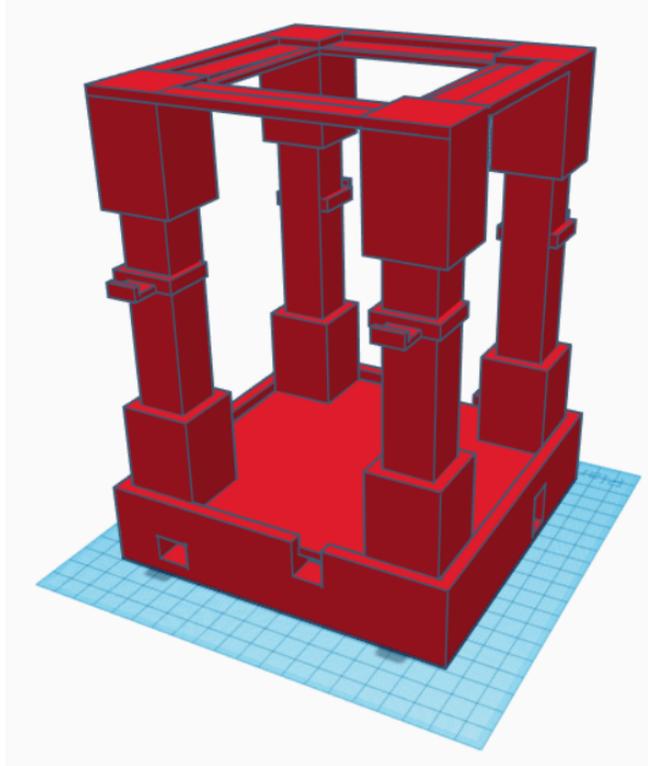


Fig. 2. Diseño en 3D de la estructura del sistema propuesto

La detección de células embrionarias está basada en un modelo de aprendizaje basado en redes neuronales profundas para aplicaciones de visión computacional (también conocidas como redes neuronales convolucionales, CNN por sus siglas en inglés).

Las CNNs son algoritmos de aprendizaje profundo que son de bastante utilidad por su capacidad de procesar grandes cantidades de información, en particular, imágenes [9]. Esto se debe a que contienen capas ocultas en su arquitectura, de tipo convolucionales, en donde las entradas y salidas de cada capa son un set de arreglos llamados “mapas de características” y cada uno de estos representa una característica extraída de la imagen utilizando un núcleo específico en la entrada. Cada píxel de salida es una combinación lineal de los píxeles de entrada, los cuales son una nueva entrada a otra capa utilizada, conocida como “Pooling-layer”, teniendo como propósito reducir de tamaño la imagen original conservando toda la información necesaria, ya sea mediante “Max-pooling”, es decir, tomando los valores máximos de los píxeles utilizando una malla definida o “Average-Pooling” que toma la media de los valores de los píxeles en la malla utilizada. Después se utiliza una capa conocida como “Flattening-layer” en la que se reduce las dimensiones de los datos a un solo vector. Finalmente este vector es entrada a una red completamente conectada (“Fully-Connected”) la cual cuenta con una función de activación para dar la salida a lo que se ha identificado en la imagen. En la Fig. 3 se muestra un esquema de la arquitectura general de una CNN.

En este trabajo, utilizamos el modelo de Retinanet [10] para la detección de la presencia de embriones así como su localización. La red Retinanet, siendo un detector de una etapa y haciendo uso de la pérdida focal, es decir, las muestras negativas (píxeles con información nula) contribuyen a una

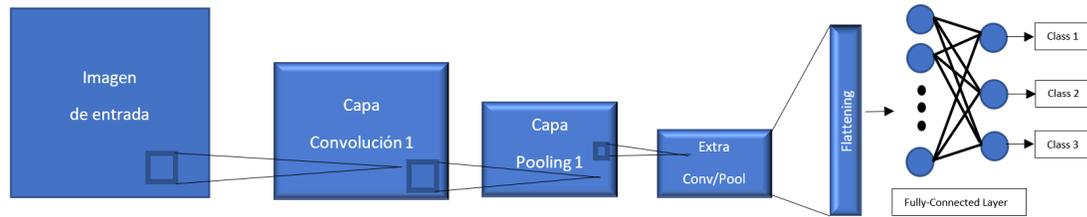


Fig. 3. Arquitectura General de una CNN.

pérdida menor en la clasificación, de modo que la red se centra en las muestras positivas (píxeles con información relevante), mejorando con ello la precisión de la predicción de la red. En la Fig. 4 se puede observar un diagrama de la arquitectura de Retinanet, utilizando como pilares ResNet y Feature Pyramid Network para la extracción de características de la imagen, así como Classification SubNet que predice la probabilidad de la presencia de un objeto en la imagen en cada posición espacial y finalmente utiliza Box Regression Subnet con el propósito de realizar una regresión donde se detectó un objeto previamente, logrando un cuadro delimitador en el objeto.

El modelo de Retinanet fue entrenado utilizando una base de datos correspondiente a 2385 imágenes de embriones facilitadas por la clínica New Hope Fertility Center de Guadalajara. La base de datos fue aumentada utilizando transformaciones geométricas de las imágenes generadas durante el entrenamiento. El total de las imágenes disponibles fue partido en dos conjuntos, uno para el entrenamiento y el segundo para la validación del modelo. En este trabajo, se entrenó el modelo durante 20 épocas utilizando el optimizador “Adam” con tamaños de batch de 500, en una computadora con Intel Core I7 y una tarjeta aceleradora NVidia 1050.

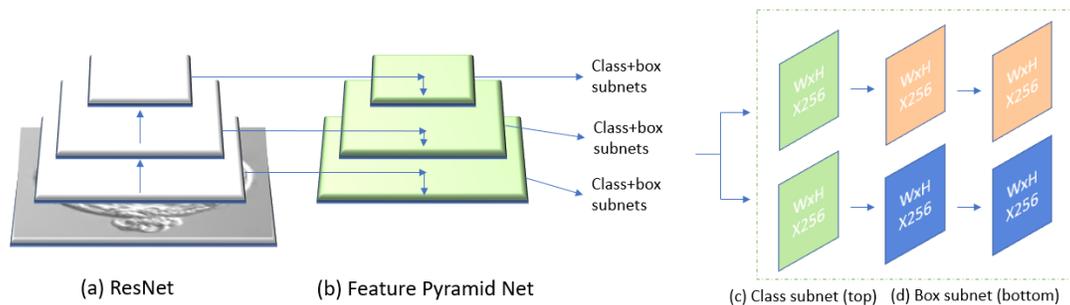


Fig. 4. Arquitectura de RETINANET. a) y b) Pilares de la red, utilizados para extracción de características, c) y d) utilizados como detectores de objetos.

El algoritmo de funcionamiento se basa en una rutina automática mediante la cual se utilizan los motores para llevar a cabo un barrido discreto en X y Y del área de trabajo con incrementos de $30\mu m$ entre posiciones consecutivas. Para cada posición, se captura una imagen digital por medio del microscopio que es evaluada por la red entrenada la cual determina si existe o no un embrión en esa imagen y de ser así retorna la posición y tamaño del rectángulo que contiene a dicho embrión. En caso de que un embrión haya sido encontrado, sus posiciones se almacenan en la memoria del sistema con el fin de poder regresar a esa configuración para una posterior toma de fotografía después de un periodo de tiempo determinado.

3 Resultados y Discusión

Se creó un prototipo funcional con un microscopio de grado médico capaz de adquirir imágenes y ser alimentadas a una red neuronal para la detección de células embrionarias. El prototipo se materializó mediante impresión 3D utilizando PLA (Ver Fig. 5).



Fig. 5. Resultado de la impresión de la estructura del prototipo. (a) Vista lateral y (b) área efectiva de captura.

La programación del sistema se realizó en Python 3.7 utilizando las librerías de Opencv, Keras y Tensorflow, además de la comunicación serial con Arduino UNO.

Se realizaron pruebas del sistema propuesto utilizando cuatro muestras facilitadas por la clínica de Fertilidad New Hope Fertility Center de Guadalajara, las cuales correspondían a células a ser descartadas de acuerdo a los protocolos del centro. En la Fig. 6 se pueden observar ejemplos de imágenes de las cuatro células capturadas utilizando el sistema propuesto. Estas imágenes fueron procesadas con el modelo de Retinanet entrenado con nuestros datos, dando como resultado los porcentajes de certeza en la detección y el cuadrado que encasilla el área donde se encuentra la célula detectada (Ver Fig. 7).

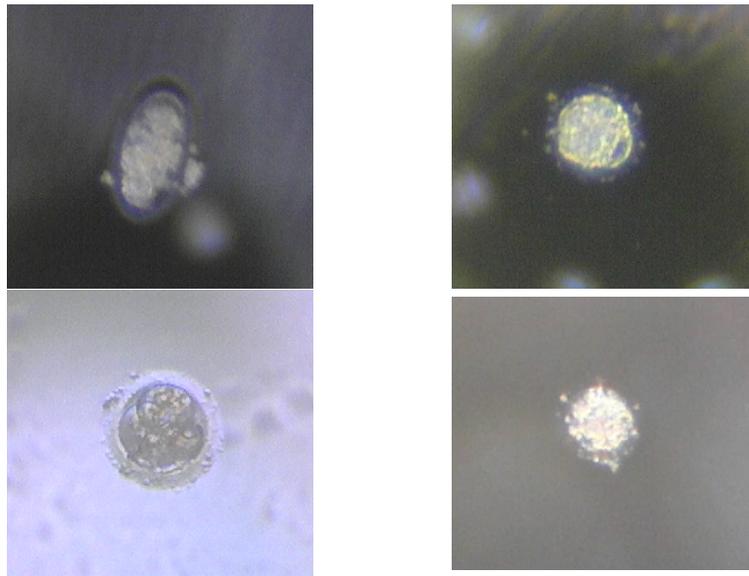


Fig. 6. Ejemplos de imágenes de embriones capturados con el sistema propuesto

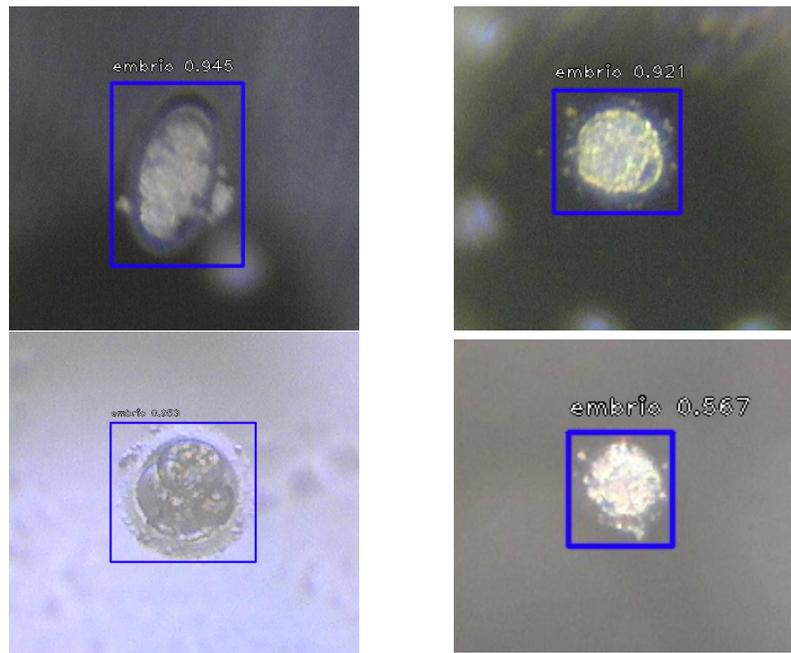


Fig. 7. Resultado de la detección de los embriones de la figura 6 utilizando el modelo de red neuronal

4 Conclusiones

En este trabajo presentamos el desarrollo de un prototipo de un sistema inteligente para el monitoreo automático del desarrollo de embriones el cual permite capturar imágenes de micrografía de los embriones en una placa de Petri dentro de una incubadora convencional a intervalos regulares. Los resultados preliminares indican el potencial de utilizar el sistema propuesto para el monitoreo del desarrollo de los embriones a menores intervalos de tiempo y sin el riesgo que representa el retirarlos de las incubadoras, permitiendo así a los embriólogos tener información directa del desarrollo de las células. Como trabajo a futuro se plantea adaptar el prototipo a una escala menor, de manera que sea posible colocarlo en el interior del mayor número de incubadoras convencionales que se encuentran en las clínicas, así como hacer más pruebas para validar el sistema.

Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés para este trabajo.

Agradecimientos

Los autores: Jesús Vladimir Martínez Nuño e Isaac René Aguilar Figueroa, del programa Maestría en Ciencias en Bioingeniería y Cómputo Inteligente por parte de la Universidad de Guadalajara, agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante la realización de este trabajo.

Referencias

- [1] R. Vishwanath, “Artificial insemination: the state of the art,” *Theriogenology*, vol. 59, no. 2, pp. 571–584, 2003.
- [2] B. Zhang, Y. Cui, M. Wang, J. Li, L. Jin, and D. Wu, “In vitro fertilization (ivf) cumulative pregnancy rate prediction from basic patient characteristics,” *IEEE Access*, vol. 7, pp. 130460–130467, 2019.
- [3] M. Moya-González and F. Ramón-Fernández, “The preimplantation genetic diagnosis: Legal aspects in the spanish law,” *Revista de Derecho Privado*, no. 34, pp. 87–121, 2018.
- [4] F. C. Bento and S. C. Esteves, “Establishing a quality management system in a fertility center: experience with iso 9001,” *MedicalExpress*, vol. 3, no. 3, 2016.
- [5] P. Ventura-Juncá, I. Irarrázaval, A. J. Rolle, J. I. Gutiérrez, R. D. Moreno, and M. J. Santos, “In vitro fertilization (ivf) in mammals: epigenetic and developmental alterations. scientific and bioethical implications for ivf in humans,” *Biological Research*, vol. 48, no. 1, pp. 1–13, 2015.
- [6] D. Gardner and R. Kelley, “Impact of the ivf laboratory environment on human preimplantation embryo phenotype,” *J. of Dev. O. of Health and Disease*, vol. 8, pp. 1–18, 06 2017.
- [7] D.-L. D. Microscope, *Dino-Lite*, 2020.
- [8] Arduino, “Arduino-uno,” 2020.
- [9] R. Yamashita, M. Nishio, R. K. G. Do, and K. Togashi, “Convolutional neural networks: an overview and application in radiology,” *Insights into imaging*, vol. 9, no. 4, pp. 611–629, 2018.
- [10] T. Lin, P. Goyal, R. Girshick, K. He, and P. Dollár, “Focal loss for dense object detection,” in *2017 IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV)*, pp. 2999–3007, 2017.