OPENCASA: UN PROYECTO ABIERTO PARA EL DESARROLLO DE SOFTWARE LIBRE ORIENTADO AL ANÁLISIS DE ESPERMATOZOIDES

Alquézar-Baeta C.*, Gimeno, S.*, Santorromán, MJ., Santolaria P.**, Yániz J**., Casao, A.*, Cebrían-Pérez, JA.*, Muino-Blanco, T.*, y Pérez-Pé, R*.
*Dpto. Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria.
**Grupo de investigación TECNOGAM, Escuela Politécnica Superior de Huesca Universidad de Zaragoza.
Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA)
Email: alquezar@unizar.es

INTRODUCCIÓN

El paradigma de la ciencia abierta u Open Science (Dutton y Jeffreys 2010; Woelfle *et al.* 2011) ha ido creciendo en las últimas décadas. El término hace referencia a un tipo de investigación científica transparente y colaborativa, permitiendo el acceso libre a datos, herramientas y resultados (Barandiaran *et al.* 2015). En el campo de la Biología de la reproducción, se ha demostrado la utilidad y potencial que tienen los sistemas informáticos para analizar ciertos parámetros relacionados con la calidad espermática tales como la motilidad, la morfometría o la integridad de la membrana plasmática del espermatozoide (Malmgren 1997). Estos sistemas son conocidos comúnmente como sistemas CASA (Mortimer 2000; Amann y Waberski 2014). En los últimos años ha crecido el interés por analizar el efecto quimioatrayente que tienen ciertas hormonas del tracto reproductor femenino sobre los espermatozoides (Eisenbach y Giojalas 2006). Además, también se sospecha que el fenómeno de la hiperactivación se debe a un mecanismo natural que tienen los espermatozoides para encontrar el gradiente hormonal que les lleva hasta el ovocito (Armon y Eisenbach 2011). Sin embargo, no existe una herramienta software libre que permita estudiar este tipo de fenómenos en el laboratorio. Por ello, dada la necesidad de disponer de un software CASA que permita realizar este tipo de análisis, así como combinar los resultados con otros análisis de funcionalidad espermática, en este trabajo presentamos un nuevo CASA, libre y de código abierto, que permite realizar estudios de quimiotaxis, motilidad, viabilidad y morfometría. Además, se propone que el proyecto sea abierto y colaborativo, y que habilite una infraestructura centralizada mínima para fomentar el desarrollo continuado de dichas herramientas por parte de la comunidad científica.

MATERIAL Y MÉTODOS

El proyecto partió del código fuente previamente desarrollado por Wilson-Leedy y Ingermann (2007) para la plataforma abierta ImageJ (Schneider *et al.* 2012; Schindelin *et al.* 2015). Actualmente se está utilizando un repositorio Git (https://git-scm.com/) como sistema de control de versiones situado en los servidores de BitBucket (https://bitbucket.org/).
Las muestras se prepararon para la evaluación de la morfometría y viabilidad espermáticas como se describió anteriormente (Yániz *et al.* 2012; Yániz *et al.* 2013). Durante las pruebas de validación del software, para los módulos de quimiotaxis y motilidad se registraron videos de espermatozoides ovinos y humanos con una cámara de video (acA1920-155uc, Basler, Exton, PA) a 200 fps, y se utilizaron imágenes de espermatozoides de toro para los módulos de viabilidad y morfometría con una cámara digital Canon EOS 600D (Canon Inc., Tokio, Japón).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aunque la mayoría de laboratorios y centros de investigación utilizan productos comerciales, en los últimos años han surgido varias alternativas libres y de código abierto (Wilson-Leedy y Ingermann 2007; Purchase y Earle 2012; Giaretta *et al.* 2017). Sin embargo, pese a que estas iniciativas suponen un importante avance dentro del marco de la ciencia abierta, los programas liberados carecen de la estructura y lógica necesarias para favorecer tanto la escalabilidad y continuidad en el desarrollo, como la colaboración y compartición de mejoras y ampliaciones de estos sistemas dentro de la comunidad científica. Esto puede verse reflejado principalmente en: (i) diseños estructurales poco escalables, y (ii) en las plataformas donde se publica el código fuente, normalmente webs estáticas que únicamente

posibilitan la transferencia de información unidireccionalmente, esto es, que los usuarios pueden descargarse los programas, pero no pueden actualizar y complementar dichos programas a la vista del resto de la comunidad, salvo creando otra página web y repitiendo así el esquema anterior.
Para dar solución al primer problema, en este trabajo proponemos estructurar el software por módulos (Figura 1), de tal manera que diferentes desarrolladores puedan trabajar en paralelo sobre diferentes funcionalidades sin que la estructura del programa se vea afectada.

Entre los módulos con los que permite trabajar este software, se encuentran:

1. Módulo de quimiotaxis: permite realizar estudios comparativos de la direccionalidad de los espermatozoides cuando a éstos se les expone en un medio con un agente quimiotáctico frente a la ausencia del mismo.

2. Módulo para el análisis de motilidad: permite obtener parámetros cinéticos individuales para cada espermatozoide y los valores promedio.

3. Módulo de viabilidad: permite realizar el recuento de células con la membrana plasmática dañada o intacta mediante imágenes de fluorescencia.

4. Módulo de morfometría: permite obtener parámetros morfométricos a través de imágenes de espermatozoides.

Respecto al segundo problema, se propone el uso de un sistema de control de versiones en la nube, donde diferentes desarrolladores pueden conectarse a estos servidores para realizar cambios en el software y propagarlos al resto de programadores de manera instantánea y controlada.
En conclusión, con este trabajo se pretende avanzar un paso más hacia el desarrollo de una tecnología estándar y libre para el análisis espermático. De momento, hemos analizado la respuesta de espermatozoides ovinos frescos y capacitados a varias hormonas, y las diferencias son significativas (Nadal, 2016; Peinado, 2016). Como trabajo futuro sería necesario ampliar y completar el conjunto de módulos para habilitar nuevos análisis, así como trabajar en una mejor experiencia de usuario disminuyendo la complejidad de la interfaz del sistema.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Amann, R. P.yD. Waberski (2014). Theriogenology 81(1): 5-17.e13. • Armon, L.yM. Eisenbach (2011). PLOS ONE 6(12): e28359. • Barandiaran, X. E.*, et al.* (2015). Asociación aLabs: 143-222. • Dutton, W. H.yP. W. Jeffreys. (2010/T16:06:57Z).MIT Press. • Eisenbach, M.yL. C. Giojalas (2006). Nature Reviews Molecular Cell Biology 7(4): 276-285. • Giaretta, E.*, et al.* (2017). Animal Reproduction Science 176: 11-19. • Malmgren, L. (1997). Theriogenology 48(4): 523-530. • Mortimer, S. T. (2000). Journal of Andrology 21(4): 515-524. • Nadal, P. (2016) (https://zaguan.unizar.es/record/59176?ln=es) • Peinado, J. (2016) (https://zaguan.unizar.es/record/59068?ln=es) • Purchase, C. F.yP. T. Earle (2012). Journal of Applied Ichthyology 28(6): 1013-1016. • Schindelin, J.*, et al.* (2015). Molecular Reproduction and Development 82(7-8): 518-529. • Schneider, C. A.*, et al.* (2012). Nature Methods 9(7): 671-675. • Wilson-Leedy, J. G.yR. L. Ingermann (2007). Theriogenology 67(3): 661-672. • Woelfle, M.*, et al.* (2011). Nature Chemistry 3(10): 745-748. • Yániz, J.*, et al.* (2013). Reproduction in Domestic Animals 48(4): 598-603. • Yániz, J. L.*, et al.* (2012). Theriogenology 77(7): 1343-1350. •

Agradecimientos: AGL2014-57863-R, DGA-A26, AGL2014-52775-P, DGA-FSE-A40. Parte de este trabajo se realizó gracias a un contrato financiado por el Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA). Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Quirónsalud Zaragoza.

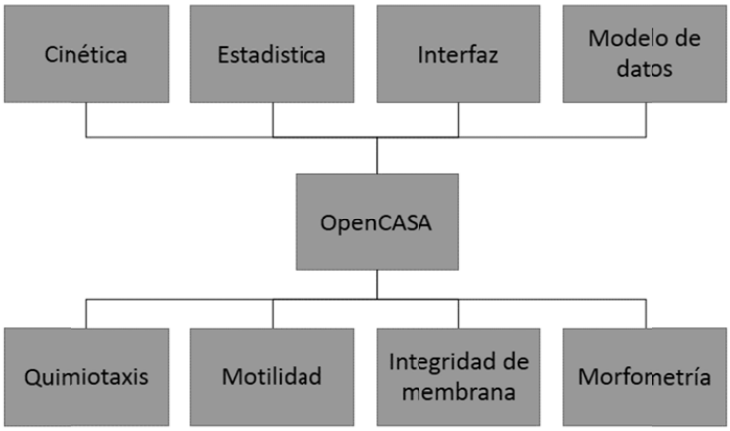


Figura 1. *Esquema modular de OpenCASA. En la parte superior se pueden ver los principales paquetes de funciones que incorpora para desarrolladores. En la parte inferior se pueden ver las principales líneas de análisis que ofrece OpenCASA en esta versión prelanzamiento.*

OPENCASA: AN OPEN PROJECT FOR DEVELOPING OPEN SOURCE SOFTWARE ORIENTED TO SPERMATOZOA ANALYSIS

ABSTRACT: In the field of Biology of Reproduction, it has been proved the utility and potential of computer assisted sperm analysis with the aim to assess some parameters related to sperm quality. Furthermore, in recent years some studies have been published pointing that some female reproductive tract hormones have a chemoattractant effect on spermatozoa, in order to guide them to the oocyte. But, due to the lack of specific software for measuring this kind of phenomenon, here we propose a free and open source tool with this purpose. Also, the structure of this software has been design to favour the collective development and features improvement by the scientific community.

Keywords*:* OpenSource, OpenScience, OpenCASA, CASA, chemotaxis, motility, viability, morphometry