

**Disciplina de fiziopatologie a Universității de Medicină și Farmacie  
din Tîrgu-Mureș**

**PROGRAM INFORMATIC WARBURG 99**

**NOTA I**

*A. Cojocaru, D.C. Tocaciu, A. Șchiopu*

În cercetări anterioare unul din noi (5,6,11,15) a studiat la șoareci, cu tehnica Jerne (28) și metoda spectrofotometrică adaptată de van Dijk și Bloksma (18) la determinarea titrului anticorpilor anti-eritrocitari, e-

fectul unor citostatice asupra producției de hemolizine și mecanismelor nespecifice ale reacției imune (7,8, 9, 13).

Se știe că agenții oncostatici interferează biosinteza acizilor nucleici (analogii metabolici ai bazelor purinice și pirimidinice), formează punți intra-sau extracatenare prin alkilarea macromoleculor de ADN (agenții alkilanți), depolimerizează ADN (procarbazona) sau se intercalează între lanțurile polimerului depozitar al informației genetice (antibioticele anticanceroase), alterează tubulina blocând mitoza (vinblastina, vincristina) (43), determină efecte citogenetice (3), modificări histologice la nivelul organelor limfoide (20) și inhibă migrarea macrofagelor in vitro (tetrahidrofuranil-2)-5-fluorouracilul (34).

Efecte similare au fost constatate prin determinarea după *Tsanev* și *Markov* (46) a concentrației acizilor nucleici la șoareci CBA imunizați cu eritrocite de oaie și tratați cu (tetrahidrofuranil-2)-5-fluorouracil (10) sau Levofalan (25).

În contrast cu abundența, pînă la redundanță, a datelor din literatura de specialitate aferentă domeniului studiat (31,32,42,50), cu referință asupra impactului medicamentelor citostatice și imunodepresive asupra reacției imune (2,4,37), literatura privind efectul citostaticelor asupra oxidațiilor biologice din celulele imunocompetente (14) este surprinzător de lacunară.

Din aceste considerente am întreprins cercetări asupra *dinamicii consumului de oxigen al limfocitelor splenice in vitro* ca bază metodologică pentru un studiu sistematic al impactului citostaticelor asupra activității enzimelor mitocondriale responsabile de mecanismul complex al respirației tisulare. Ne-am adresat în consecință metodei clasice introdusă de *Warburg* (17, 49) pe care, deși laborioasă, am preferat-o altor metode (23) pentru acuratețe și reproductibilitatea pertinentă a rezultatelor.

Determinarea consumului tisular și/sau celular de oxigen cu *metoda manometrică Warburg* necesită o cantitate redusă de țesut de ordinul a 20-100 mg, iar în cazul substanțelor care generează eliberarea stoichiometrică de  $\text{CO}_2$  din anionul bicarbonic, permite determinarea unor cantități de ordinul microgramelor. Caracterul laborios al metodei și necesitatea prelucrării unui volum mare de date experimentale i-a determinat pe majoritatea autorilor să exprime consumul celular de oxigen exclusiv în valori medii pe oră (24), renunțându-se la evaluarea dinamicii consumului de oxigen.

Dezvoltarea impetuoasă a microelectronicii și informaticii (1,19,47) și apariția informaticii medicale (16,30,33,35,38,39,40,41) cu subdiviziunile sale interdependente (informatica medicală de laborator, de proces, pentru diagnostic și decizii terapeutice și de gestiune) (21) ne-a sugerat, în intenția de a surprinde particularitățile dinamicii consumului de oxigen pe parcursul celor 2 ore de experiment in vitro, să elaborăm un program informatic care să ne permită prelucrarea computerizată a datelor experimentale (12).

Intrucît pe parcursul redactării lui ne-am dat seama că prin structura sa informațională produsul-program elaborat poate fi util unei arii mai largi de specialități (fiziologie celulară, hematologie clinică, oncologie etc.), ne-am decis să-l publicăm sub formă de program comentat,

accesibil medicilor și biologilor care și-au însușit cunoștințele elementare de tehnică de programare.

### *Tehnica de calcul*

Computerul utilizat de noi a fost *microcalculatorul personal TIM-S*, produs de I.P.T. în colaborare cu F.M.E.C.T.C. din Timișoara (27), compatibil cu SPECTRUM elaborat de firma engleză SINCLAIR.

TIM-S are la baza unității sale centrale microprocesorul Z80 de 8 biți (36) iar unitatea de memorie de 64 Ko dispune de o memorie de tip EPROM de 16 Ko care conține interpretorul BASIC și o memorie de tip RAM de 48 Ko. Ca dispozitive periferice am utilizat o imprimantă ROBOTRON K 6313, un ecran catodic, tip ecran de televizor (display), iar ca memorie externă caseta magnetică. Pentru citirea programelor de pe casetă și salvarea acestora pe casetă s-a utilizat un casetofon ELEKTRONIKA-302. Echipamentul de calcul inclusiv sursa de alimentare se racordează la rețeaua de curent alternativ ( $\sim 220$  V, 50 Hz).

Microcalculatorul personal TIM-S acceptă limbajele de programare de nivel înalt BASIC, PASCAL, FORTH, C și microPROLOG. Programul se poate utiliza pe orice computer compatibil SINCLAIR ZX SPECTRUM (în testarea programului s-a utilizat de exemplu, un microcalculator HC-85 conectat cu un monitor alb-negru și o unitate de disc floppy).

### *Comentariu*

Pentru elaborarea produsului-program *WARBURG 99* am utilizat dintre limbajele de programare de nivel înalt, limbajul BASIC, varianta ZX-SPECTRUM BASIC (48) utilizată și la redactarea altor programe necesare activităților curente de laborator (44, 45).

Structura informațională a programului cuprinde algoritmi de calcul și de afișare necesari introducerii de la tastatură a datelor experimentale și prelucrării computerizate a acestora. Un set propriu de caractere permite utilizarea unor litere sau simboluri grafice de care nu dispune microcalculatorul personal TIM-S (ă, â, î, ș, ț, Δ, Σ etc.).

Semnificația unor linii de program existente în listingul care nu este prezentat în nota de față din considerente de spațiu este următoarea: 9996 permite utilizarea setului modificat de caractere; 9000 afișează „Meniul principal”; 9910 permite modificarea datelor introduse; 600 afișează meniul „Datele inițiale”.

„WARBURG 99” permite procesarea a 78 parametri biologici, reprezentări grafice, comparații între loturi și alte facilități pentru utilizator. Se știe că eficiența și fiabilitatea unui program sînt direct proporționale cu modularitatea sa (22). În consecință programul *WARBURG 99* a fost împărțit în secvențe autonome (module) care realizează funcții de sine stătătoare. Redactarea programului cu mai multe subprograme apelande din programul principal ne-a permis economia de memorie, esențială pentru prelucrarea unui volum mare de date.

După conectarea la rețea a echipamentului de calcul, încărcarea de pe casetă sau disc și lansarea în execuție a programului, pe display apare, după prezentarea titlului, *Meniul principal* („tabla de materii”) din care

selectînd una din tastele 1,2,3,4 sau 5 ale claviaturii se poate ajunge la celelalte 5 meniuri intitulate: *Date inițiale*, *Program grafic*, *Trasare grafice*, *Tabel sinoptic* (TS) și *Salvare/Citire*. Selecționarea tastei 6 din *Meniul principal* permite restartarea programului, respectiv ștergerea tuturor variabilelor și posibilitatea introducerii de noi date experimentale în memorie.

Subdiviziunile celor 6 meniuri puse la dispoziția utilizatorului sînt următoarele:

a) *Meniul principal*: 1. Date inițiale, 2. Programul grafic, 3. Testul t Student, 4. Coeficientul de variație, 5. Tabel sinoptic, 6. Restartare program;

b) *Date inițiale*: 1. Introducere date, 2. Afișare date, 3. Calculare rezultate, 4. Afișarea rezultatelor, 5. Salvare/Citire date, M. Meniul principal;

c) *Programul grafic*: 1. Transfer date din TS, 2. Trasare grafice, 3. Catalog disc, M. Meniul anterior;

d) *Trasare grafice*: 1. Cu date variabile, 2. Cu datele existente, 3. Catalog disc, M. Meniul anterior;

e) *Tabel sinoptic*: 1. Introducere date în TS, 2. Listare date din TS, 3. Modificare date, 4. Compunere loturi, 5. Salvare/Citire TS, 6. Catalog disc, M. Meniul principal;

f) *Salvare/Citire*: 1. Citire date, 2. Salvare date, 3. Catalog disc, M. Meniul anterior.

Vom ilustra cu un exemplu modul de execuție al instrucțiunilor din liniile de program cuprinse în prima parte a listîngului.

INTRODUCETI  
DATELE EXPERIMENTALE -  
Intervalul  (minute)  
dintre 2 lecturi consecutive?

= C

Fig. nr. 1

INTRODUCETI  
DATELE EXPERIMENTALE

Intervalul  $\bar{t}$  (minute)  
dintre 2 lecturi consecutive?

Constanta  $K$   
a manometrului Warburg?

$\bar{t} = 15$

$\bar{t} = C$

Fig. nr. 2

INTRODUCETI  
DATELE EXPERIMENTALE

Intervalul  $\bar{t}$  (minute)  
dintre 2 lecturi consecutive?

Constanta  $K$   
a manometrului Warburg?

Cantitatea  $\bar{Q}$  de celule ( $\times 10^7$ )  
respectiv de tesut (mg)?

$\bar{t} = 15$   
 $K = 1.13$

$\bar{t} = C$

Fig. nr. 3

# INTRODUCETI DATELE EXPERIMENTALE

Intervalul  (minute)  
dintre 2 lecturi consecutive?

Constanta   
a manometrului Warburg?

Cantitatea  de celule ( $\times 10^7$ )  
respectiv de tesut (mg)?

|   |   |        |
|---|---|--------|
| 1 | = | 15     |
| 2 | = | 1 13   |
| 3 | = | 13 275 |

copie imprimantă

Fig. nr. 4

## VALORI-REFERINTA VALORI-PROBA

|     |   |     |   |
|-----|---|-----|---|
| 150 | 5 | 150 | 5 |
| 151 |   | 144 |   |
| 151 |   | 136 | 5 |
| 150 |   | 129 | 5 |
| 150 | 5 | 123 | 5 |
| 151 |   | 120 |   |
| 151 |   | 117 |   |
| 152 |   | 113 |   |
| 152 |   | 109 |   |

copie imprimantă

Fig. nr. 5

După lansarea în execuție a programului, computerul cere intervalul de citire T (în minute) dintre două lecturi consecutive (fig. nr. 1). Consumul de oxigen al limfocitelor splenice a fost citit pe manometrul Warburg la intervale de 15 minute. Valoarea T introdusă de la tastatură este

Tabelul nr. 1

Corespondența dintre elementele tabloului w (16,9)  
și notația lor în limbajul ZX-SPECTRUM BASIC

| Elementele variabilei<br>de tip tablou w(16,9) |    | Notația în ZX-SPECTRUM BASIC |         |
|------------------------------------------------|----|------------------------------|---------|
| 1                                              | 2  | 1                            | 2       |
| E1, E2, ..... E9                               | B  | w(1,n)                       | w(14,1) |
| P1, P2, ..... P9                               | D  | w(2,n)                       | w(14,2) |
| S1, S2, ..... S8                               | A  | w(3,n)                       | w(14,3) |
| G1, G2, ..... G8                               | DE | w(4,n)                       | w(15,1) |
| GE1, GE2, ..... GE8                            | DE | w(5,n)                       | w(15,2) |
| SM1, SM2, ..... SM8                            | AE | w(6,n)                       | w(15,3) |
| SME1, SME2, ..... SME8                         | T  | w(7,n)                       | w(16,1) |
| SS1, SS2, ..... SS8                            | X  | w(8,n)                       | w(16,2) |
| SSE1, SSE2, ..... SSE8                         | C  | w(9,n)                       | w(16,4) |
| F1, F2, ..... F8                               | W  | w(10,n)                      | w(16,5) |
| FE1, FE, ..... FE8                             | Q  | w(11,n)                      | w(16,6) |
| H1, H2, ..... H8                               | —  | w(12,n)                      | —       |

NOTA. La elementele variabilei de tip tablou w (16,9) din coloana 1 corespunde notația în ZX-SPECTRUM BASIC din coloana 1; în mod corespunzător, la elementele din coloana 2 corespund notațiile în ZX-SPECTRUM BASIC din coloana 2.

afișată de computer care cere în continuare constanta K a manometrului Warburg (fig. nr. 2). Se introduce valoarea respectivă (1,13) care este imediat afișată iar microcalculatorul solicită cantitatea C de celule exprimată în  $n \times 10^7$ , respectiv de țesut (exprimată în mg) (fig. nr. 3). Valoarea  $n$  (13,275) fiind introdusă, este afișată pe display (fig. nr. 4) iar ordinatorul solicită valorile de referință (citite pe termobarometru) și valorile probei (citite pe manometrul Warburg), valori care după introducerea lor de la claviatură sînt afișate sub formă de tabel (fig. nr. 5). În continuare computerul afișează, executînd instrucțiunile de la liniile de program 410-590, „CALCULEZ“.

Variabilele implementate în algoritmi de calcul și de afișare și organizarea lor într-o matrice bidimensională—tabloul w (16,9) din linia de program 10 — precum și corespondența dintre variabilele numerice necesare reprezentării celor 78 parametri biologici obținuți prin computerizarea datelor experimentale oferite de metoda Warburg și notația lor în limbajul ZX-SPECTRUM BASIC este redată în tabelul nr. 1. În această matrice variabilele E1, E2,... E9 reprezintă valorile citite în laborator pe termobarometru (valorile referință); P1, P2,... P9, valorile citite pe manometrul conectat cu vasul de reacție în care se găsește suspensia de limfocite în mediul de cultură (valorile-probă); S1, S2,... S8, consumul de oxigen pe interval de timp (relația dată de Warburg,  $X = k \cdot t$ , transpusă de exemplu la primul interval de timp (de la 0-15 minute) este  $S1 = K (P2-P1) - (E2-E1)$ ; G1, G2,... G8, consumul de oxigen pe

interval de timp și celulă; SM1, SM2, ... SM8, consumul de oxigen pe celulă și minut corespunzător intervalului de timp dat; SS1, SS2, ... SS8, consumul adițional de oxigen pe interval de timp și celulă; F1, F2, ... F8, consumul adițional de oxigen pe celulă și minut, corespunzător intervalului de timp dat; H1, H2, ... H8, valorile aparente ale consumului de oxigen pe oră; B,D,A, valoarea consumului de oxigen pe oră (B-in prima oră de experiment, D-in a doua oră de experiment, A-valoarea medie a consumului pe oră);  $W=E_9-E_1$ ;  $Q=P_9-P_1$ . Semnificația variabilelor T,K,C, a fost menționată anterior. În ceea ce privește variabilele notate cu GE (GE1, GE2, ... GE8), SME (SME1, SME2, ... SME8), SSE (SSE1, SSE2, ..., SSE8), FE (FE1, FE2, ..., FE 8), BE, DE, AE, ele au aceeași semnificație ca și G, SM, SS, F, B, D, și A cu diferența că reprezintă valorile lotului 2 (de exemplu, lotul experimental) pe cind celelalte constituie valori ale lotului 1 (de exemplu, lotul martor).

Modul în care utilizatorul obține tabelul care-i permite să verifice dacă datele experimentale ale fiecărui animal de experiență (T,K,C, valorile-preferință și valorile-probă) au fost corect introduse de la tastatură precum și tablele care conțin valorile consumului de oxigen vor fi prezentate în nota următoare.

### Bibliografie

1. Ardelean Gh., Mihalcea Al.: Electronică și informatică, Ed. Militară, București, 1988;
2. Chiricuță I. (sub red.): Cancerul-Chimioterapia actuală, I.P., Cluj-Napoca, 1983;
3. Chiorean L., Dogaru G., Cojocaru A.; A XI-a Reuniune Națională de Imunologie, p. 22, Timișoara, 1982;
4. Cinader B., Miller R.G.: (edited by), Progress in Immunology VI, Academic Press Inc., Orlando, 1986;
5. Cojocaru A., Iazigian A., Lechințan M.: A XIII-a Reuniune Națională de Imunologie, p. 43, Tirgu-Mureș, 1984;
6. Cojocaru A., Iazigian A., Borgovan E.: A XV-a Reuniune Națională de Imunologie, p. 20, Iași, 1986;
7. Cojocaru A., László M., Nemeș E.: A X-a Reuniune Națională de Imunologie, p. 22, București, 1981;
8. Cojocaru A., László M.: Rev. med. (1982), 28, 20;
9. Cojocaru A., László M., Kövecsi I.: Rev. med. (1985), 31, 76;
10. Cojocaru A., Iazigian A., Fokt, E. Horga M.: Rev. med. (1984), 30, 9;
11. Cojocaru A., Iazigian A., Borgovan E.: Rev. med. (1989), 35, 62;
12. Cojocaru A., Tocaciu D.C., Schiopu A., Nicolaescu I., Tőkés B., László M., Borgovan E., Roșca S., Nistor M.: Prelucrarea automată cu microcalculatorul TIM-S a consumului splenic de oxigen in vitro, comunicare USSM, Tirgu-Mureș, 1989;
13. Cojocaru A., László M.: 5th European Immunology Meeting, Abstract Book, p. 346, Istanbul, 1982;
14. Cojocaru A., Iazigian A., Sorescu D.: 5th International Congress of Immunology, Abstracts, 703-07, Kyoto, 1983;
15. Cojocaru A., Iazigian A., Borgovan E.: 6th International Congress of Immunology, Abstracts, 542.1., Toronto, 1986;
16. DeTore A.W.: Amer. J. of Medicine (1988), 85, 399;
17. Dénes G., Székely M.: Manometriás mérőmodszerek, în Kovács A.: A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei, IV. kötet, Akadémiai Kiadó, Budapest, p. 421-558, 1958;
18. van Dijk H., Bloksma N.: J. of Immunol. Methods (1977), 14, 325;
19. Dodescu Gh. (sub red.): Informatica, Ed. Stiințifică și Enciclopedică, București, 1987;
20. Dogaru G., Cojocaru A., Roșca Gh., Roșca S., Szövérfy A.: A XIII-a Reuniune Naționa-

lă de Imunologie, p. 74, Tirgu-Mureș, 1984; 21. *Drăgănescu M.*: Informatica și societatea. Ed. Politică, București, 1977, 286-287; 22. *Dumitrașcu H.*: Să învățăm BASIC, Ed. Albatros, București, 1987; 23. *Friesen W., McIlroy M.B.*: J. Appl. Physiol. (1970), 29, 258; 24. *Heilbrunn L.V.*: Grundzüge der allgemeinen Physiologie, VEB, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 1958; 25. *Iazigian A., Cojocaru A., Borgovan E.*: A XVI-a Reuniune Națională de Imunologie, p. 85, București, 1987; 26. I.C.E.: HC 85, Manual tehnic, București, 1987; 27. I.T.C.I. — F.M.E.C.T.C.: TIM-S, microcalculator personal, manual de funcționare și utilizare, I.P.B.T., 1988; 28. *Jerne N.K., Nordin A.A.*: Science (1963), 140, 405; 29. *László M., Boda E., Cojocaru A.*: A XVIII-a Reuniune Națională de Imunologie, p. 32, Craiova, 1989; 30. *Loomis R.E., Bhandary K.K., Tseng C.C., Bergey E.J., Levine M.J.*: Biophys. J.: (1987), 51, 193; 31. *Male D., Champion B., Cooke A.*: Advanced Immunology, J. B. Lippincott Comp., Philadelphia, 1987; 32. *Mortaru I.*: Imunologie, Ed. Medicală, București, 1984; 33. *Muttitt S.C., Finer N.N., Tierney A. J., Rossmann J.*: Pediatrics (1988), 82, 5; 34. *Pálffy O., Cojocaru A.*: A XIII-a Reuniune Națională de Imunologie, p. 141, Tirgu-Mureș, 1984; 35. *Pascu I., Rădoiu D., Pop A.*: Rev med. (1988), 34, 107; 36. *Patrubány M.*: Totul despre microprocesorul Z80, vol. I-II, Ed. Tehnică, București, 1989; 37. *Păun R., Ursea N., Luca N., Coculescu M., Luca R.*: Terapia imunosupresivă, Ed. Medicală, București, 1972; 38. *Popescu O.* (sub red.): Informatica medicală, Ed. Medicală, București, 1988; 39. *Restian A.*: Forum (1974), 16, 68; 40. *Restian A.*: Viața medicală (1976), 23, 281; 41. *Restian A.*: Viața medicală (1971), 18, 921; 42. *Simu G.*: Imunitate și cancer, Ed. Medicală, București, 1978; 43. *Stroescu V.*: Bazele farmacologice ale practicii medicale, Ed. Medicală, București, 1989; 44. *Șchiopu A., Cojocaru A.*: A XVII-a Reuniune Națională de imunologie, p. 17, Timișoara, 1988; 45. *Șchiopu A., Buksa C., Cojocaru A.*: A XIV-a Sesiune anuală de valorificare a cercetării științifice, Centrul de cercetări medicale, p. 93, Tirgu-Mureș, 1988; 46. *Tsanev R.G., Markov G.G.*: Biokhimiya (1960), 25, 151; 47. *Văduva I., Popa Gh., Florescu V., Negescu I., Dulgheru Gh., Ghișoiu N.*: Programarea calculatoarelor electronice, Ed. Did. și Ped., București, 1982; 48. *Vickers S.*: ZX-SPECTRUM BASIC programming (edited by Bradbeer, R.), third edition, Sinclair Research Ltd, Cambridge-High Speed Printing Ltd, London, 1983; 49. *Warburg O.*: Über den Stoffwechsel der Tumoren, Berlin, 1926; 50. 7th International Congress of Immunology, Abstracts, Berlin West, 1989.

Key: oxygen consumption; splenic lymphocytes; Warburg method ;  
A. Cojocaru, D.C. Tocaciu, A. Șchiopu

## INFORMATION PROGRAM WARBURG 99

### Note I

Studying the dynamics of the oxygen consumption of splenic lymphocytes in vitro by Warburg method implies processing a large number of data, — a reason why some authors give the results in mean values per hour, giving up the analysis of the dynamics of oxygen consumption.

Therefore, the authors have elaborated an information program that allows processing 78 biological parameters, graphic representations, comparisons between groups, statistical analyses and other facilities for the

utilizer. Program WARBURG 99 is divided in modules that analyse independent functions. In Note I the authors show the general structure of information of the program, the first 46 program lines and the comment of this sequence that permits the introduction of experimental data from the keyboard, the monitoring of values-references and values-samples.

---