

УДК 612.57:612.08+612.014.461.3

Особливості фракційного складу тканинної води в умовах загальної гіпертермії в експерименті

О.В. Кузнецова

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

Оцінено вплив загальної гіпертермії на міжфракційний розподіл води у тканині головного мозку, передсердь серця та нирок щурів методом ^1H -ЯМР-релаксометрії. Нагрівання щурів у термокамері за температури $+43 \dots +45 \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 60 хвилин спричинило у тварин гіпертермію, дегідратацію, алкалоз і гіпернатріємію. Швидкий розвиток гіпернатріємії сприяє різкому підвищенню осмоляльності плазми, що створює градієнт між внутрішньо- та позаклітинною рідиною тканин організму та викликає у тканинах перерозподіл води між фракціями, про що свідчить динаміка ЯМР-релаксаційних показників тканинної води. За умов гіпертермії фракційний склад тканинної води передсердь серця щурів не змінився (час поздовжньої (T_1) і поперечної (T_2) релаксації достовірно не відрізнявся від показників інтактної тканини). За впливу гіпертермії у головному мозку формується фракція кристалізованої води (подовження T_1 та вкорочення T_2 показників релаксації), що запобігає втраті води клітинами. У тканині нирок за гіпертермії збільшується фракція вільної води та частка внутрішньоклітинної рідини (різке подовження T_1 і T_2 показників релаксації). У кірковій речовині нирок виявлено потовщення гідратаційної фракції позаклітинної води (подовження T_1 показника релаксації, T_2 достовірно не відрізнявся порівняно з інтактною тканиною) завдяки збільшенню вмісту іонів натрію у тканині. Якісний спектр змін тканинної води за умов гіпертермії спрямований на зниження об'єму рідини, що виводиться з організму.

Ключові слова: ЯМР-релаксометрія; час поздовжньої (T_1) релаксації; час поперечної (T_2) релаксації; внутрішньоклітинна вода; позаклітинна вода; тепловий стрес

Peculiarities of tissue water fractional composition in case of experimental whole-body hyperthermia

O.V. Kuznetsova

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

The present study, using proton nuclear magnetic resonance relaxation (NMR) method, was undertaken to compare the water fractional composition in nature tissues (group 1) with those damaged by experimental whole-body hyperthermia (group 2). We measured longitudinal or "spin-lattice" (T_1) and transverse or "spin-spin" (T_2) relaxation times of protons of tissues (brain, the atria of the heart, the kidneys and the renal cortex) from adult Wistar rats. The differences in T_1 , T_2 and percentage of the intra- and extracellular water between group 1 and 2 were studied to help understand how the water moves in tissues at hyperthermia. The results of this study and the literature data allow to make conclusions about tissue water fractional composition in case of experimental whole-body hyperthermia: (1) fractional composition of water and the distribution of intra- and extracellular fluid in the tissue of the atria of the heart did not change (T_1 and T_2 relaxation times remained unchanged); (2) the crystalline water fraction increased in brain (longer T_1 relaxation rate and shorter T_2 relaxation rate). This is obstructing the exchange of protons between free and bound water in brain. Thus, loss of water by brain cells is prevented. The distribution between intra- and extracellular fluid in brain remained unchanged; (3) fraction of free water increased in renal tissue (simultaneous longer T_1 and T_2 relaxation rates) by reducing the volume of extracellular fluid; (4) thick hydration layer of water (longer T_1 relaxation rate, T_2 remained unchanged) was formed in the extracellular fluid of renal cortex. This water layer is formed around the sodium ions which concentration is increased in renal cortex tissue of rats from group 2. As a result, the amount of fluid secreted by kidneys is reduced, i.e. there is a retention of water in the body. The relevance of our research for the understanding of high temperatures' adaptation mechanisms is discussed in this paper.

Keywords: NMR-relaxometry; longitudinal (T_1) relaxation time; transverse (T_2) relaxation time; intracellular water; extracellular water; heat stress

Вступ

Вода – одна з найважливіших хімічних сполук у живих організмах. Від її вмісту в організмі залежать швидкість біохімічних реакцій, транспортування речовин, показники гомеостазу, здатність протистояти стресовим факторам. Втрата організмом близько 10–20% води небезпечна для життя та може спричинити загибель. Дослідження структурних особливостей внутрішньоклітинної та позаклітинної води в живих організмах виявили, що вода у тканинах існує у вигляді двох фракцій: вільної та зв'язаної (Aksyonov, 1987).

Фракція вільної води характеризується високою рухливістю, її присутність інтенсифікує фізіологічні процеси (Despa, 2005; Cameron and Fullerton, 2014). У клітинах вільна вода є розчинником або середовищем для перебігу ферментативних реакцій і транспортування речовин. Молекули вільної води перебувають на віддаленій відстані від поверхні розчинених речовин і взаємодіють тільки між собою. Якщо вільна вода затримується в організмі, вона збирається під шкірою та утворює набряки. При її втраті зменшується об'єм плазми крові, кровопостачання тканин і, відповідно, транспортування до них поживних речовин і кисню, що впливає на роботу скелетних м'язів, серцево-судинної системи та мозку.

Друга, менш рухлива, фракція зв'язаної води розташована ближче до поверхні біомолекул і знаходиться у гідрофобних каналах і порожнинах різної форми, що існують усередині біополімерів і мембран. Вона міцно прилягає до поверхні часток матеріалу, густина її значно перевищує звичайну густину води (Davidson et al., 2013). Фракція зв'язаної води необхідна для стабілізації структури та функціональної інтеграції внутрішньоклітинних макромолекул і дифузії речовин через мембрану (Zhou et al., 2004; Fullerton and Cameron, 2007). Зв'язана вода поділяється на два різновиди: міцно зв'язана зі структурами макромолекул, наприклад, білків (кристалізована вода), і гідратаційна вода, яка входить до складу гідратних оболонок органічних молекул, як біополімерів (насамперед білків), так і низькомолекулярних речовин. Міцність зв'язування молекул води з біополімерами має велике значення для формування та стабілізації їх нативної структури та функціональної активності у живих системах. За низького ступеня гідратації поверхневих полярних груп між молекулами виникають додаткові контакти, які знижують конформаційну рухливість глобул білків, що спричинює втрату ферментативної активності (Zhang and Stemer, 2006). Тому участь води у формуванні біоструктур зумовлює, з одного боку, виникнення стабілізуювальних гідрофобних взаємодій, а з іншого – створення конформаційної рухливості молекул.

Співвідношення вільної та зв'язаної води у тканині має для неї велике фізіологічне значення. Швидкість окремих реакцій та інтенсивність фізіологічних процесів у цілому залежать від вмісту вільної води у тканині (Sulyok, 2006). Стійкість до несприятливих зовнішніх впливів, навпаки, має пряму кореляцію з умістом зв'язаної води. Між різними фракціями води існує динамічна рівновага та можливість їх взаємних

переходів. Наприклад, вміст гідратаційної води може збільшуватися за рахунок вільної та кристалічної води (Hortelano et al., 2001).

Останніми роками у науковій літературі йде активна дискусія про механізми дії локальної та загальної гіпертермії на організм людини, її вплив на патогенез різних захворювань (Falk and Issels, 2001; Litvitsky, 2010). Нині гіпертермія успішно застосовується у клініках США, країн Європи та Азії для лікування різних захворювань (Bull et al., 2008; Kok et al., 2015). Клінічному застосуванню загальної гіпертермії має передувати її експериментальне моделювання з метою повнішого та детальнішого вивчення патогенетичних аспектів впливу високої зовнішньої температури на клітини, тканини, органи та організм у цілому.

Стабільність регуляції всіх життєвих функцій гарантується здатністю організму до утримання температури тіла у вузьких межах. Будь-яка зміна у стані теплообміну негайно викликає перебудову у гетерогенній функціональній системі – апараті терморегуляції, характерною рисою якого є відсутність спеціальних органів і використання різних органів і функцій. Зміна теплового режиму у бік підвищення загальної температури тіла викликає значні зміни на всіх рівнях багатоклітинного організму: молекулярному, клітинному та тканинному (Kozlov, 1990; Sreenivasa et al., 2003; Efremov et al., 2006; Dayanc et al., 2008; Peer et al., 2010). Вода відіграє важливу роль у підтриманні постійної температури тіла організму. З підвищенням температури вона інтенсивно випаровується у вигляді поту, що запобігає перегріванню організму (Chvyrev et al., 2000). Внутрішньоклітинний об'єм є важливим інтегральним показником клітинного гомеостазу. Зміни внутрішньоклітинного об'єму ініціюють запуск механізмів регуляції метаболічних процесів у клітині (Ling and Tucser, 1988). Гомеостатичні механізми організму досить ефективно регулюють обмін води та електролітів, підтримуючи в межах фізіологічної норми осмотичний тиск позаклітинної, а через неї і внутрішньоклітинної рідини.

Великий інтерес становлять дослідження процесів транспорту води та іонів через біологічні мембрани, з'ясування індивідуальних характеристик гідратації органів за умов гіпертермії. Ці питання мають першорядне значення для розкриття біохімічних механізмів адаптації біологічних систем до зміни температури навколишнього середовища, причин їх загибелі за високої температури.

Мета статті – охарактеризувати зміни фракційного складу води тканин головного мозку, передсердя та нирок шурів за впливу високої температури (+43...+45 °C) протягом 60 хвилин.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–250 г. Догляд за тваринами здійснювали згідно з Директивами Європейського союзу 2019/10/63 ЄС про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших

наукових цілей, і відповідно до Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Тварин утримували в умовах віварію на звичайному збалансованому раціоні та вільному доступі до води.

Методом випадкової вибірки тварин поділили на дві групи по 10 особин у кожній: I група – інтактні тварини, які слугували контролем, II – дослідні, яких нагрівали в термокамері з температурою повітря +43...+45 °С, відносною вологістю повітря 75–85%, концентрацією кисню в межах 20,0–20,5% протягом 60 хвилин. До і після перегріву тварин зважували та вимірювали у них ректальну температуру. Після закінчення теплового впливу тварин декапітували під легким ефірним наркозом із наступною екстирпацією досліджуваних органів (головний мозок, серце та нирки). Кров тварин збирали у дві пробірки: із гепарином (для вимірювання рН плазми крові) та без антикоагулянту (для визначення концентрації іонів натрію у сироватці крові). Пробірки з кров'ю центрифугували за +4 °С протягом 10 хв (3 000 об./хв). рН крові вимірювали на цифровому аналізаторі рН і газів крові ОР-215 (Угорщина). Вміст іонів натрію визначали методом полум'яної фотометрії (Kolb and Kamyshnikov, 1982).

Фракції тканинної води визначали методом ядерно-магнітно-резонансної (ЯМР)-релаксометрії, який має високу чутливість до внутрішньомолекулярних рухів і дає можливість оцінити структуру води у клітині (MacFall et al., 1987; Tregnaghi, 1991). Кожна із фракцій тканинної води характеризується різними ЯМР-показниками: часом поздовжньої, або «спін-граткової» (T_1) і поперечної, або «спін-спінової» (T_2) релаксації протонів. Підготовку проб для ЯМР-релаксометрії виконували як описано у роботах Bell (1989) і Krik (1990). Досліджувані тканини зважували, поміщали у скляну пробірку діаметром 10 мм і прогрівали у термобані «Нааке» (Німеччина) до +40 °С протягом 10 хв. У тканині головного мозку, передсердя, нирок і кіркової речовини нирок щурів аналізували час поздовжньої, або «спін-граткової» (T_1) і поперечної, або «спін-спінової» (T_2) ЯМР-релаксації протонів на релаксометрії Minispec PC 120 (Bruker Optik GmbH, Німеччина) з робочою частотою 25 МГц. T_1 показник релаксації визначали за 40 точками методом інверсії-відновлення, в якому спочатку задається 180° імпульс, а через певний час – 90° імпульс, що зчитується. T_2 показник вимірювали за 25 точками, використовуючи класичну послідовність імпульсів Кара – Парселла – Мельбума – Гілла, в основі якої лежить опромінення зразка зондувальними імпульсами 90°-τ-180° та реєстрація спінового відлуння. Час повторення обрано однаковим в обох вимірах (3 с).

Математичну обробку отриманих значень T_1 і T_2 показників проведено автоматично з використанням програмного пакета Experiment Supervisor (Bruker Optik GmbH, Німеччина). За наявності двокомпонентних кривих показники часу релаксації розкладали на біекспоненти та за показниками T_a і T_b розраховували частки внутрішньо- (P_a) та позаклітинної (P_b) води за формулою:

$$P_a = [T_a / (T_a + T_b)] \cdot 100\%,$$

$$P_b = 100\% - P_a, \%$$

де T – час релаксації (мс), P_a – частка внутрішньоклітинної води (%), P_b – частка позаклітинної води (%).

Статистичну обробку експериментальних даних виконували з використанням ліцензійного пакета приклад-

них програм статистичного аналізу Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Розраховували середнє арифметичне варіаційного ряду (M) і помилку (m). Достовірність відмінностей між дослідною та контрольною групами оцінювали за t -критерієм Стьюдента. Відмінності вважали достовірними за $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Перебування тварин у термокамері за температури +43...+45 °С протягом 60 хвилин викликало зростання їх ректальної температури на $3,1 \pm 0,25$ °С: $36,5 \pm 0,2$ °С і $39,6 \pm 0,3$ °С до і після нагрівання відповідно. Після перегрівання у щурів зменшилась вага на $4,5 \pm 0,6$ г (2% маси тіла). Ці дані свідчать про дегідратацію організму дослідних тварин. Облігатна втрата води зумовлена потребами процесів терморегуляції, які забезпечують життєдіяльність організму в умовах теплового стресу. Утворення поту відбувається за рахунок позаклітинної, внутрішньосудинної рідини, а також незначною мірою за рахунок води еритроцитів (Chvuyev, 2000). Активація потовиділення та дихання у дослідних тварин спричинило зсув рН плазми крові: $7,66 \pm 0,03$ у дослідних тварин порівняно з $7,42 \pm 0,02$ у інтактних тварин ($P < 0,05$). Зміна рН крові викликана як посиленням виділенням з організму CO_2 , так і накопиченням в організмі тварин лужних сполук при затриманні натрію. У сироватці крові щурів із гіпертермією концентрація іонів натрію зросла у 1,2 раза: $161,7 \pm 5,5$ ммоль/л порівняно з $136,0 \pm 2,0$ ммоль/л у інтактних тварин ($P < 0,05$). Швидкий розвиток гіпернатріємії спричинює різке підвищення осмолярності плазми крові щурів, що створює осмотичний градієнт між внутрішньо- та позаклітинною рідинами тканин організму та зумовлює гідратацію або дегідратацію клітин.

На основі аналізу динаміки показників ЯМР-релаксації протонів води тканин головного мозку, передсердя, нирок і кіркової речовини нирок інтактних і дослідних щурів, ми охарактеризували зміни фракційного складу води органів, що задіяні у механізмах регуляції водно-сольового балансу організму в умовах високої температури навколишнього середовища.

Вимірювання часу поздовжньої (T_1) та поперечної (T_2) релаксації протонів тканинної води головного мозку, передсердь, нирок і кіркової речовини нирок інтактних тварин показало, що, кожна досліджена тканина характеризується індивідуальним значенням часу поздовжньої релаксації протонів (рис. 1). При цьому T_1 кіркової речовини нирок $< T_1$ нирок $< T_1$ головного мозку $< T_1$ передсердь. За часом поперечної релаксації досліджувані тканини відрізнялися несуттєво: T_2 передсердь = T_2 кіркової речовини нирок = T_2 нирок $< T_2$ головного мозку (рис. 2). В усіх досліджених тканинах переважала фракція внутрішньоклітинної (P_a) води (рис. 3). Отриманні результати відповідають даним літератури (MacFall, 1987).

У механізмі адаптації організму до високих температур велике значення має коригувальна функція центральної нервової системи. Особливо чутливі до дегідратації чи надмірної гідратації клітини головного мозку. Втрата тканинної рідини спричинює зморщуван-

ня тканини центральної нервової системи, викликаючи кровотечі внаслідок розриву судин, що з'єднують тверду мозкову оболонку та поверхню головного мозку (Kozlov, 1990). У тканині головного мозку щурів із гіпертермією встановлено подовження часу поздовжньої (T_1) та вкорочення часу поперечної (T_2) релаксації протонів води тканини (рис. 1, 2). Така динаміка T_1 і T_2 показників характерна для кристалізованої фракції води (Ling, 2003). Формування фракції зв'язаної води свідчить про наявність великої кількості місць зв'язування: іонізованих ($-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_3^+$) і полярних груп

($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{CONH}$, $=\text{C}=\text{O}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{SH}$, $=\text{NH}$), що входять до складу біомолекул (Garcia-Martin et al., 2001). За присутності білків та інших молекул, які зв'язують воду, суттєво зменшується коефіцієнт самодифузії, що ускладнює обмін протонами між вільною та кристалізованою водою. Тим самим гальмується втрата води клітинами головного мозку за умов гіпертермії. У щурів із гіпертермією розподіл між внутрішньо- (P_a) та позаклітинною (P_v) рідиною головного мозку не змінився порівняно з інтактними тваринами (рис. 3).

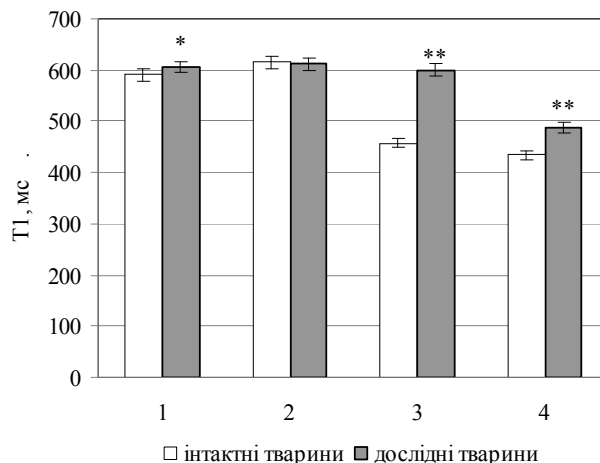


Рис. 1. Час поздовжньої (T_1) релаксації протонів води тканин щурів в умовах загальної гіпертермії:

1 – головний мозок, 2 – передсердя, 3 – нирки, 4 – кіркова речовина нирок;

* – $P < 0,05$, ** – $P < 0,025$ порівняно з інтактними тваринами, $n = 10$

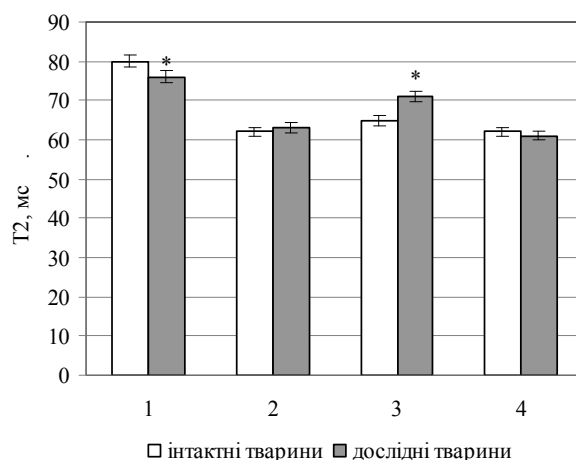


Рис. 2. Час поперечної (T_2) релаксації протонів води тканин щурів в умовах загальної гіпертермії:

1 – головний мозок, 2 – передсердя, 3 – нирки, 4 – кіркова речовина нирок;

* – $P < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами, $n = 10$

Реакцію організму на вплив високих температур навколишнього середовища багато в чому визначає стан серцево-судинної системи. Кров, яка надходить у периферичні судини на поверхні тіла, віддає частину тепла, що утворюється у результаті окисних процесів у клітині. Порушення серцево-судинної системи в умовах загальної гіпертермії організму відбуваються внаслідок впливу гіпертермії на центральну нервову систему або через зміни у самому серці. У дослідних тварин не встановлено достовірних змін T_1 і T_2 показників релаксації протонів тканинної води передсердь порівняно з

інтактними тваринами (рис. 1, 2). Дані літератури свідчать, що вміст води у тканинах серця за дії високих температур навколишнього середовища майже не змінюється (Chvuguev, 2000). Кров згущується, порушується кровообіг, що зумовлює подальше зростання температури тіла.

Одна з лімітувальних ланок у системі регуляції теплообміну – стан водно-сольової рівноваги організму, у чому особливо важлива роль належить екскреторній функції нирок. У нирковій тканині щурів із гіпертермією встановлено суттєве подовження часу поздовжньої (T_1) та поперечної (T_2) релаксації протонів води (рис. 1, 2)

порівняно з інтактною тканиною. Така динаміка показників ЯМР-релаксації протонів свідчить про підвищення рухливості молекул тканинної води, прискорення протонного обміну між кристалічною та вільною фракціями тканинної води, зменшення гідрованого шару (Kuchel et al., 1994). Зростання у нирках щурів із гіпертермією фракції вільної води відбувається за рахунок зменшення частки позаклітинної (Pb) води (рис. 3). Порушення гідратації клітин нирок зумовлене змінами концентрації у плазмі крові розчинних речовин, зокрема, іонів натрію (Titze, 2008).

Характер змін показників релаксації тканинної води кіркової речовини нирок дослідних тварин був іншим, ніж ниркової тканини. У кірковій речовині нирок щурів із гіпертермією виявлене зрушення тільки часу поздовжньої (T_1) релаксації протонів тканинної води, який збільшився

порівняно з інтактною тканиною (рис. 1). Час поперечної (T_2) релаксації протонів тканинної води кіркової речовини нирок щурів із гіпертермією був таким, як у інтактних тварин (рис. 2). Таке поєднання показників свідчить про повільний протонний обмін між зв'язаною та вільною фракціями води, зменшення структуризації води (Camegon et al., 1984). Проте не за рахунок гідрованого шару, що формується навколо іонів натрію, концентрація яких зросла у кірковій речовині нирок щурів із гіпертермією: $133,3 \pm 3,36$ і $145,4 \pm 2,84$ ммоль/л відповідно в інтактних і дослідних тварин ($P < 0,05$). Потужний шар води у частині позаклітинної рідини (рис. 3) тканини кіркової речовини нирок дослідних щурів перешкоджає надходженню води у клітину. Зменшення частки вільної води у клітині веде до зниження її активності та об'єму рідини, що виділяється нирками.

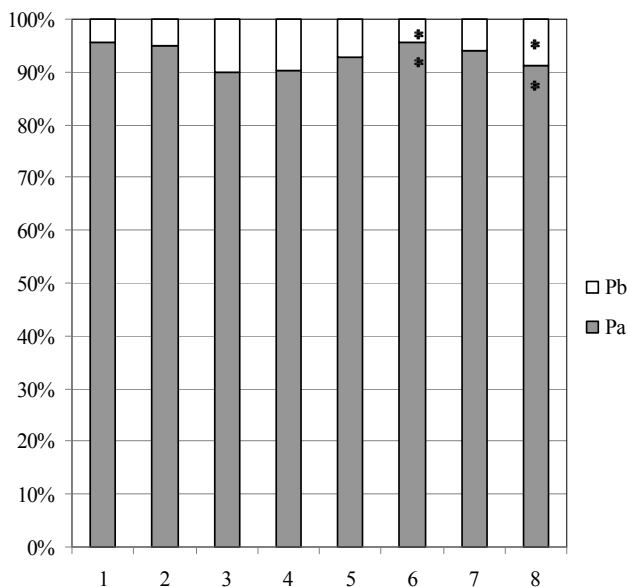


Рис. 3. Співвідношення внутрішньо- (Pa) та позаклітинної (Pb) води тканин щурів в умовах загальної гіпертермії: 1 – головний мозок, інтактні тварини, 2 – головний мозок, дослідні тварини, 3 – передсердя, інтактні тварини, 4 – передсердя, дослідні тварини, 5 – нирки, інтактні тварини, 6 – нирки, дослідні тварини, 7 – кіркова речовина нирок, інтактні тварини, 8 – кіркова речовина нирок, дослідні тварини; * $P < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами, $n = 10$

На основі вищевикладеного матеріалу є підстави стверджувати, що за дії загальної гіпертермії на організм можливі два шляхи розвитку подальших змін: по-перше, підвищення температури різних органів і тканин і безпосередній вплив температурного чинника на їх структуру та обмін речовин у них, по-друге, активація механізмів адаптації до високих температур із наступним впливом на організм зрушень, що відбулися внаслідок регуляції температури тіла. Подальші дослідження наслідків впливу перегріву на стан організму тварин і людини дозволять розкрити закономірності розвитку патологічних процесів, що виникають під впливом екзогенної гіпертермії, та розширити теоретичний базис для розроблення засобів профілактики розвитку теплового стресу.

Висновки

Гіпертермія у тварин спричинила різноспрямовані зміни показників часу поздовжньої (T_1) та поперечної

(T_2) релаксації протонів тканинної води головного мозку, передсердь, нирок і кіркової речовини нирок органів.

T_1 і T_2 показники релаксації протонів тканинної води передсердь дослідних тварин достовірно не відрізнялись від показників інтактних тварин.

За впливу гіпертермії в головному мозку щурів формується міцно зв'язана з макромолекулярними структурами фракція кристалічної води, що ускладнює обмін протонами між вільною та кристалічною водою у клітинах, тим самим відводиться втрата води головним мозком.

У щурів із гіпертермією спостерігається міжфракційний перерозподіл води ниркової тканини, що супроводжується зміною фільтраційно-реабсорбційної здатності нирок.

Подяка

Моя подяка професору Ірині Олександрівні Комаревцевій за допомогу у проведенні експериментального етапу досліджень.

Бібліографічні посилання

- Aksyonov, S.I., 1987. Water and its importance in the cell. Zinatne, Riga (in Latvian).
- Bell, J.D., Brown, C.C.J., Sadler, P.J., 1989. NMR studies of body fluids. *NMR Biomed.* 2(5–6), 246–256.
- Bull, J.M., Strebel, F.R., Jenkins, G.N., Deng, W., Rowen, R.W., 2008. The importance of schedule in whole body thermochemotherapy. *Int. J. Hyperther.* 24(2), 171–181.
- Cameron, I.L., Ord, V.A., Fullerton, G.D., 1984. Characterization of proton NMR relaxation times in normal and pathological tissues by correlation with other tissue parameters. *Magnet. Reson. Imaging* 2(2), 97–106.
- Cameron, I.L., Fullerton, G.D., 2014. Lack of appreciation of the role of osmotically unresponsive water in cell volume regulation. *Cell Bio. Int.* 38(5), 610–614.
- Chvyrev, V.G., Azhaev, V.N., Novozhilov, G.N., 2000. Heat stress. *Medicine, Moscow* (in Russian).
- Davidson, R.M., Lauritzen, A., Seneff, S., 2013. Biological water dynamics and entropy: A biophysical origin of cancer and other disease. *Entropy* 15, 3822–3876.
- Dayanc, B.E., Beachy, S.H., Ostberg, J.R., Repasky, E.A., 2008. Dissecting the role of hyperthermia in natural killer cell mediated anti-tumor responses. *Int. J. Hyperther.* 24(1), 41–56.
- Despa, F., 2005. Biological water: Its vital role in macromolecular structure and function. *Ann. NY Acad. Sci.* 1066(1), 1–11.
- Efremov, A.B., Pakhomov, Y., Michurina, C.B., Pakhomov, E.A., 2006. The role of metabolites of lipid peroxidation in acute hyperthermia. *Palliative Medicine and Reabilitaciya* 2, 27 (in Russian).
- Falk, M.H., Issels, R.D., 2001. Hyperthermia in oncology. *Int. J. Hyperther.* 17(1), 1–18.
- Fullerton, G.D., Cameron, I.L., 2007. Chapter one – Water compartments in cells. *Methods Enzymol.* 28, 1–28.
- Garsia-Martin, L.M., Ballesteros, P., Cerdán, S., 2001. The metabolism of water in cells and tissues as detected by NMR methods. *Prog. Nucl. Mag. Res. Spec.* 39(1), 41–77.
- Hortelano, S., Garcia-Martín, M.L., Cerdán, S., Castrillo, A., Alvarez, A.M., Boscá, L., 2001. Intracellular water motion decreases in apoptotic macrophages after caspase activation. *Cell Death Differ.* 8(10), 1022–1028.
- Kirk, K., 1990. NMR methods for measuring membrane transport rates. *NMR Biomed.* 3(1), 1–16.
- Kok, H.P., Wust, P., Stauffer, P.R., Bardati, F., van Rhoon, G.C., Crezee, J., 2015. Current state of the art of regional hyperthermia treatment planning: A review. *Radiat. Oncol.* 10(1), 196.
- Kolb, V.G., Kamyshnikov, V.S., 1982. Handbook of clinical chemistry. Minsk (in Byelorussian).
- Kozlov, N.B., 1990. Hyperthermia: Biochemical basis of pathogenesis, prevention, treatment. Voronezh Univ. Press, Voronezh (in Russian).
- Kuchel, P.W., Kirk, K., King, G.F., 1994. NMR methods for measuring membrane transport. *Subcell. Biochem.* 23, 247–327.
- Ling, G.N., 2003. A new theoretical foundation for the polarized-oriented multilayer theory of cell water and for inanimate systems demonstrating long-range dynamic structuring of water molecules. *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR.* 35(2), 91–130.
- Ling, G.N., Tucser, M., 1988. A physical theory of the living state: Application to water and solute distribution. *Scanning Microsc.* 2(2), 899–913.
- Litvitsky, P.F., 2010. Violations heat balance: Hyperthermia, hyperthermic reactions, heat stroke, sunstroke. *Voprosy Sovremennoi Pediatrii* 1, 96–102 (in Russian).
- MacFall, J.R., Wehrli, F.W., Breger, R.K., Johnson, G.A., 1987. Methodology for the measurement and analysis of relaxation times in proton imaging. *Magnet. Reson. Imaging* 5(3), 209–220.
- Peer, A.J., Grimm, M.J., Zynda, E.R., Repasky, E.A., 2010. Diverse immune mechanisms may contribute to the survival benefit seen in cancer patients receiving hyperthermia. *Immunol. Res.* 46(1–3), 137–154.
- Sreenivasa, G., Gellermann, J., Rau, B., Nadobny, J., Schlag, P., Deufflhard, P., Felix, R., Wust, P., 2003. Clinical use of the hyperthermia treatment planning system HyperPlan to predict effectiveness and toxicity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 55(2), 407–419.
- Sulyok, E., 2006. Physical water compartments: A revised concept of perinatal body water physiology. *Physiol. Res.* 55(2), 133–138.
- Titze, J., 2008. Water-free Na⁺ retention: Interaction with hypertension and tissue hydration. *Blood Purif.* 26(1), 95–99.
- Tregnaghi, A., Lacognata, C., Pellizzo, M.R., Muzzio, P.C., Coletta, F., 1991. The proton relaxation times in normal and neoplastic thyroid tissue. An *in vitro* study. *Radiol. Med.* 82(5), 613–616.
- Zhang, Y., Cremer, P.S., 2006. Interactions between macromolecules and ions: The Hofmeister series. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 10, 658–663.
- Zhou, J., Wilson, D.A., Sun, P.Z., Klaus, J.A., van Zijl, P.C., 2004. Quantitative description of proton exchange processes between water and endogenous and exogenous agents for WEX, CEST, and APT experiments. *Magnet. Reson. Med.* 51, 945–952.

Надійшла до редколегії 07.09.2015