

УДК 615.47:616-008.847.9-7:004.942

Г. Вьера-Мармол*, Х. Вильена, П. Гарсия, К. Христова, М. Колина

Сравнительный анализ функциональных характеристик аппарата «Cooltech®» для криоадиполиза методом численного моделирования

UDC 615.47:616-008.847.9-7:004.942

G. Viera-Mármol*, J. Villena, P. García, K. Khrystova, M. Colina

A Comparative Study of Cooltech® Handpieces for Cryoadipolysis Using Numerical Simulation

Реферат: В работе был проведен сравнительный анализ динамики охлаждения, функционирования и эффективности работы разных насадок аппарата «Cooltech®». Установлена тенденция к снижению рабочей температуры насадок в зависимости от продолжительности их работы. Аналогичная зависимость показана для центральной зоны всех насадок, за исключением насадки, предназначенной для меньшего объема жировой ткани. При большем объеме подверженной воздействию жировой ткани менее однородно распределяется температура и требуется больше времени для достижения конечной температуры. При использовании самой широкой насадки меньшая доля жировой ткани (69,06%) достигает охлаждения ниже температуры кристаллизации. В насадке «Double HP», которая вмещает больший объем ткани за счет длинной узкой формы полости, 81,93% жировой ткани достигает этой температуры в конце процедуры. Численное моделирование и, в частности, примененная модель эффективны для оптимизации времени функционирования, улучшения дизайна и повышения терапевтической эффективности насадок.

Ключевые слова: криоадиполиз, неинвазивное удаление жировой ткани, апоптоз, адипоцит, неинвазивная контурная пластика тела, программное обеспечение для мультифизического моделирования, охлаждение, компьютерное моделирование, кожный барьер.

Реферат: У роботі було проведено порівняльний аналіз динаміки охолодження, функціонування та ефективності роботи різних насадок апарату «Cooltech®». Встановлено тенденцію до зниження робочої температури насадок залежно від тривалості їх роботи. Аналогічну залежність показано для центральної зони всіх насадок, за винятком насадки, призначеної для втягування меншого об'єму жирової тканини. При більшому обсязі підданої впливу жирової тканини менш однорідно розподіляється температура та потрібно більше часу для досягнення кінцевої температури. Під час використання найширшої насадки менша частка жирової тканини (69,06%) досягає охолодження нижче температури кристалізації. У насадці «Double HP», яка вміщує більший об'єм тканини за рахунок довгої вузької форми порожнини, 81,93% жирової тканини досягає цієї температури по завершенню процедури. Чисельне моделювання і, зокрема, застосована модель ефективні для оптимізації часу функціонування, поліпшення дизайну і підвищення терапевтичної ефективності насадок.

Ключові слова: криоадіполіз, неінвазивне видалення жиру, апоптоз, адипоцит, неінвазивна контурна пластика тіла, програмне забезпечення для мультифізичного моделювання, охолодження, комп'ютерне моделювання, шкірний бар'єр.

Abstract: Cryoadipolysis is a non-invasive procedure that results in a significant reduction of localized subcutaneous fat. The purpose of the study was to compare the cooling dynamics of Cooltech® handpieces analysing simulations of their performance and operational efficiency with Comsol Multiphysics®. All handpieces showed a time-based decreasing tendency in temperature. The central zone of all showed a similar response, except the handpiece that can lodge smaller volume of fat. The greater the volumetric capacity of fat, the less homogeneous was the temperature distribution, and the handpieces needed more time to reach the target temperatures. The widest handpiece reached a lower percentage of fat (69.06%) below the crystallization temperatures, and the handpiece that can lodge the larger volume of all tested, reached 81.93%. Numerical simulations, and particularly the model applied, are a very useful tool to optimize treatment time and improve the designs and therapeutic efficacy of handpieces.

Key words: cryoadipolysis, non-invasive fat removal, apoptosis, adipocyte, non-invasive body contouring, multiphysics simulation software, cooling, computer modelling, skin barrier.

Избыток жировой ткани в организме является не только медицинской (риск развития сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний, диабета), но и эстетической проблемой. В последние десятилетия разработано множество методов, позволяющих уменьшить объем подкожной

Aside from being a health issue that can increase the risk of cardiovascular disease, diabetes or cancer, excess body fat is also one of the major aesthetic concerns in modern society. In the last decades, several methods have been developed to reduce the accumulation of subcutaneous adipose tissue.

Cocoon Medical S.L.U., Барселона, Іспанія

Cocoon Medical S.L.U., Barcelona, Spain

*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

Пасаж Масолівер, 24, Барселона, Іспанія 08005;
тел.: (+34 93) 458-85-66
електронна пошта: gregorioviera@cocoonmedical.com

*To whom correspondence should be addressed:

24, Passatge Masoliver, Barcelona, Spain 08005;
tel.: +34 93 458 8566
e-mail: gregorioviera@cocoonmedical.com

Надійшла 04.07.2018

Прийнята до друку 13.11.2018

Received July, 04, 2018

Accepted November, 13, 2018

© 2018 G. Viera-Mármol et al. Published by the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Таблица 1. Типы наконечников «Cooltech®»

Table 1. Types of Cooltech® handpieces

Насадка Handpiece	Применение насадок на областях тела Treatment areas for which it has been designed	Объем полости, см ³ Volume of the cavity, cm ³	Поверхность охлаждения, см ² Cooling Surface, cm ²	Глубина полости, см Cavity Depth, cm
Tiny HP	Подподбородочная область, передняя подмышечная область, подколенная область, нижняя область грудной клетки Submental area, preaxillary area, inner knee, infrapectoral area	33	47	3
Tight HP	Подпупочная область, надпупочная область, фланки, руки, подлопаточная область Infraumbilical area, supraumbilical area, flanks, arms, infrascapular area	309	109	8
Straight HP	Подпупочная область, латеральная область брюшной полости, жировые отложения на талии у мужчин, отводящая мышца, подягодичная область Infraumbilical area, lateral abdominal area, love handles, abductor, infragluteal area	430	106	7
Double HP	Центральная область брюшной полости, подпупочная область Central abdominal, infraumbilical area	686	255	7

жировой ткани, однако поиск новых неинвазивных и высокоэффективных подходов к решению данной проблемы остается актуальным [4, 14]. Одним из таких методов является криоадиполиз [4] (селективный криолиз [5], криолиполиз [14]) – процедура, проводимая с целью значительного уменьшения объема локализованных жировых отложений в организме, основанная на элиминации адипоцитов индукцией апоптоза и воздействием холода [5]. Результаты различных исследований показали эффективность и безопасность данной процедуры [7, 8].

Одна из ведущих в мире компаний «Cooltech®» разработала насадки для криоадиполиза, имеющие одинаковый принцип работы, но отличающиеся конструкцией и объемом полости (приемного отсека) для аспирации жировой ткани. Это позволяет проводить процедуру на определенных участках тела человека с учетом особенностей кожи и кожных складок (табл. 1). Важно отметить, что разработка всех деталей оборудования основывалась на соблюдении главного требования – обеспечение полной безопасности пациента во время проведения криоадиполиза. Для выполнения процедуры насадку располагают над выбранным участком тела и активируют всасывание подкожной жировой ткани в приемный отсек. При этом алюминиевые пластины, расположенные внутри полости, охлаждаются до температуры -8°C . Градиент температуры, создаваемый между пластинами и глубоколежащими тканями, достаточен для охлаждения ткани до температуры, которая обеспечивает физиологические изменения, приводящие к апоптозу адипоцитов [16].

However, the need to find new techniques that are non-invasive, highly effective and capable to address this issue is still in full force [4, 14].

Selective cryolysis [5] also known as cryoadipolysis [4], or cryolipolysis [14], is a procedure that results in a significant reduction of localized body fat, which acts through the elimination of adipocytes by apoptosis induction and cold application [5]. Different studies have proven the efficacy and safety of this non-invasive technique [7, 8].

Cooltech® is one of the world's leading cryoadipolysis platforms. Its handpieces work through suction and have a receiving cavity where the patient's tissue is lodged during the session. Each part of the handpieces is designed to be totally safe to handle. After placing the handpiece over the area of the body to be treated, suction is activated, and skin and subcutaneous fat are pulled into the cavity. The aluminium plates set inside get cold until reaching a temperature of -8°C . The temperature gradient generated between the plates and the deep tissues is enough to cool the fat to a temperature enabling physiological changes that will trigger adipocyte apoptosis [16].

There are different types of Cooltech® handpieces with several shapes and cavities designed to fit specific areas of the human body (Table 1) and lodge different volumes of fat tissue.

Recently, the experimental validation of numerical simulations performed for one of the Cooltech® handpieces (Straight HP) has been reported [6]. In this paper, the same mathematical model has been applied to different handpieces, allowing to carry out a comparative analysis. Numerical simulations are a very useful way to generate models,



Полезным инструментом для предварительной проверки методов, применяемых на живых организмах, является численное моделирование. Кроме того, его можно использовать для сравнительного анализа функциональных характеристик и терапевтической эффективности каждой из исследуемых насадок.

Были опубликованы результаты экспериментального численного моделирования для насадки «Straight HP» фирмы «Cooltech®» [6]. В нашей работе аналогичная модель была применена и к другим насадкам этой же фирмы: «Straight HP», «Tight HP», «Double HP» и «Tiny HP». Это позволило провести сравнительный анализ их функциональных характеристик (динамика охлаждения, функционирование и эффективность работы).

Цель исследования – сравнить динамику охлаждения разных насадок к аппарату «Cooltech®» на основе моделирования их термических характеристик.

Материалы и методы

Первый этап проведения криоадиполиза в протоколе компании «CoolTech®» предусматривает нанесение криозащитного геля на кожу обрабатываемой области тела для предотвращения образования льда и повреждений, вызванных замораживанием. Затем ткани под воздействием вакуума втягиваются внутрь полости насадки, в которой они будут находиться в течение 70 мин при температуре -8°C . При этом несколько элементов Пельтье охлаждают анодированную алюминиевую пластину толщиной 7 мм, контактирующую с тканью внутри полости, и поддерживают температуру пластины (-8°C) в течение всего времени применения насадки.

Для характеристики исследуемых типов насадок были проанализированы следующие переменные: распределение температуры внутри насадки, средняя температура жировой ткани внутри насадки и доля (в процентах) жировой ткани, в которой достигается необходимая контрольная температура.

Модель, описывающая физику теплообмена между тканями и аппаратом «Cooltech®», была создана с помощью программного обеспечения «Comsol Multiphysics®», применяемого для решения физических уравнений методом конечных элементов [16]. Данный метод позволяет решать уравнения в числовом виде, особенно если они не имеют аналитического решения, например, используемое в этом исследовании уравнение теплопередачи. Приложение создает сетку с конечным числом элементов в областях, в кото-

especially when it is necessary to perform preliminary validations of techniques that might involve some level of risk when applied on living organisms. On the other hand, the possibility to compare the different results of the simulations of the handpieces is a promising analytical tool that can help to determine the therapeutic efficacy of each one.

The purpose of this study was to compare the cooling dynamics of different Cooltech® handpieces, based on the simulation of their thermal characteristics.

Materials and Methods

There are several types of handpieces with different shapes and cavities, and, although the working principles are the same for all of them, each one has been designed to treat specific areas of the human body, where the skin and subcutaneous folds have particular characteristics. The following handpieces have been assessed: Straight HP, Tight HP, Double HP and Tiny HP. The cooling surface, cavity depth and cavity volume for each handpiece is shown in Table 1.

The first step of CoolTech®'s protocol in a cryoadipolysis session is to place a cryoprotectant gel on the skin of the area to treat to prevent ice formation and inherent damage by freezing. Then, the vacuum suctions the tissues and lodges them inside the handpiece's cavity, where they will be subjected to -8°C for 70 minutes. The method of cooling the tissue is as follows: some Peltier cells cool an anodized aluminium plate of 7 mm thickness), which is in contact with the tissue inside the cavity. The Peltier cells keep the temperature of the plate at -8°C for the entire duration of the treatment.

To characterize the different types of handpieces, three sets of variables have been analysed: temperature distribution inside the applicator, average fat temperature inside the handpiece, and fat percentage below the reference temperatures.

The model, simulating the physics of the heat exchange between the tissues and the Cooltech® machine, was created with Comsol Multiphysics®, software that solves physical equations using finite elements methods [16]. The finite elements method allows to solve equations numerically and is especially useful when equations do not have an analytical solution, as in the case of the heat transfer equation used in this study. The software creates a mesh with a finite number of elements in the domains where is wanted to solve the equation. Then, the software solves the equation numerically in each of these elements and gathers all the data



рых необходимо решить уравнение, затем решат уравнение в числовом виде в каждом из этих элементов и собирает все данные для получения окончательного результата (рис. 1). В нашем случае геометрически связанные между собой области представляют собой биологические ткани (кожа и жировая ткань) и охлаждающую насадку. Конструкцию насадок моделировали с помощью программного обеспечения «SolidWorks®» (рис. 2, А) и импортировали в модель «COMSOL Multiphysics®». Включение аппликатора в модель дает возможность более полного анализа полученных данных по сравнению с теми исследованиями, в которых моделирование проводили только на кожно-жировом объеме [13].

Уравнение теплообмена на нашей модели имеет следующий вид:

$$\begin{aligned} \rho C_p \times \partial T / \partial t + \nabla q &= Q + Q_{\text{bio}}; \\ q &= -k \nabla T; \\ Q_{\text{bio}} &= \rho_b \times C_{\text{pb}} \times \omega_b \times (T_b - T) + Q_{\text{met}}, \end{aligned}$$

где ρ – плотность ткани; C_p – удельная теплоемкость при постоянном давлении; $\partial T / \partial t$ – частная производная температуры относительно времени; T – температура; t – время; ∇ – оператор набла (векторный дифференциальный оператор; компоненты которого являются частными производными по координатам); q – кондуктивный тепловой поток в ткани; Q – источники тепла; Q_{bio} – биологическое тепло; k – коэффициент теплопроводности; ρ_b – плотность крови; C_{pb} – удельная теплоемкость крови при постоянном давлении; ω_b – скорость перфузии крови; T_b – температура артериальной крови; Q_{met} – источник метаболического тепла.

В нашей предыдущей работе были представлены результаты тестирования изучаемой модели на оливковом масле и воде [16]. Для каждого биологического объекта, использованного для моде-

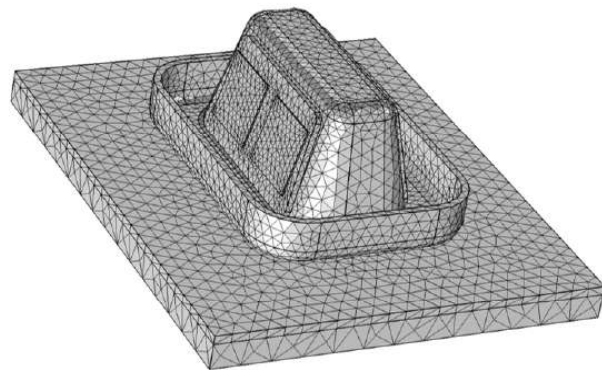


Рис. 1. Сетка, используемая для решения уравнения теплообмена методом конечных доменов (для насадки «Straight HP»).

Fig. 1. Mesh used for the heat transfer equation resolution by finite domains method (Straight HP case).

to give the final result. (Fig. 1) In our case the geometrical domains meshed are composed by biological tissues (skin and fat) and the handpiece. The design of the handpieces was carried out with SolidWorks® software (Fig. 2A) and imported to the Comsol Multiphysics® model. The consideration of the applicator in the simulation represents an analysis improvement with respect to other studies than only modelled the skin-fat volume [13].

The equation of heat transfer for our model is presented:

$$\begin{aligned} \rho C_p \times \partial T / \partial t + \nabla q &= Q + Q_{\text{bio}}; \\ q &= -k \nabla T; \\ Q_{\text{bio}} &= \rho_b \times C_{\text{pb}} \times \omega_b \times (T_b - T) + Q_{\text{met}}, \end{aligned}$$

where ρ – density of the tissue; C_p – specific heat capacity at constant pressure of the tissue; $\partial T / \partial t$ – partial derivative of the temperature with respect to the time; T – temperature; t – time; ∇ – mathematical operator nabla (operator that applies partial

Таблица 2. Физические параметры, необходимые для решения уравнения теплообмена

Table 2. Physical parameters that are necessary to solve the equation of heat transfer

Материал Material	Удельная теплоемкость, Дж/кг·К Specific heat, J/kg·K	Теплопроводность, Вт/м·К Thermal conductivity, W/m·K	Плотность, кг/м ³ Density, kg/m ³
Жир [6] Fat [6]	1985,2 + 1,47337T – 4,8008 × 10 ⁻³ T ²	0,18071 – 2,76047 × 10 ⁻³ T ²	925,59 – 0,41757T
Кожа [1] Skin [1]	3391	0,37	1109
Полипропилен [10] Polypropylene [10]	1800	0,16	1040
Анодированный алюминий [15] Anodized aluminum [15]	880	18	2700
Алюминий [1] Aluminum [1]	900	238	2700

лирования, должны быть известны три основных параметра (табл. 2) [1, 6, 10, 15], а для жировой ткани – зависимость указанных параметров от температуры [6]. При моделировании фазовый переход в жировой ткани не учитывался. В гетерогенных материалах (в частности, жире), состоящих из нескольких типов жирных кислот, не существует видимого фазового перехода в отличие от воды. В предыдущем исследовании на оливковом масле, состав которого схож с составом жира человека, было обнаружено, что при охлаждении не происходит видимого фазового перехода, но в зависимости от температуры существенно изменяется его вязкость [16]. Кроме того, была проведена предварительная оценка модели на этапе ее усовершенствования. При сопоставлении результатов моделирования (с учетом фазового перехода или его пренебрежением) существенных различий не выявлено, поэтому для упрощения модели фазовый переход не рассматривался.

Параметры кожи при расчетах были постоянными. Следует отметить, что нанесенный на кожу криозащитный гель абсорбируется и изменяет температуру кристаллизации воды внутри кожи до значений, ниже рабочих температур насадки «Cooltech®», поэтому при моделировании мы не рассматривали фазовый переход для воды в составе кожи.

Биологическая теплота (Q_{bio}) представляет собой комбинацию параметров, связанных с кровотоком и метаболической теплотой каждого типа ткани (см. уравнение) [2]. Известно, что метаболическая теплота может считаться пренебрежимо малой в первом приближении для таких защитных тканей-изоляторов, как нормальная кожа или подкожный жир [13]. Результаты предыдущих исследований с использованием приложения «Comsol Multiphysics®» показали, что изменение метаболической теплоты существенно не влияет на результаты моделирования [11], поэтому для расчета биологической теплоты мы учитывали только кровоток.

Биологическую теплоту рассчитывали по четырем параметрам [17]: температура крови (36°C); удельная теплоемкость крови (3220 Дж/(кг·К) [2]); плотность крови (900 кг/м³ [2]); частота перфузии для жировой ткани ($4,2 \cdot 10^{-4}$ 1/с [10]) и кожи (0,0018 1/с [10]).

Процедура втягивания ткани насадкой вызывает ишемию и тем самым снижает перфузию крови в обрабатываемой ткани. Степень ишемии зависит от геометрии насадки. Из-за отсутствия точных экспериментальных данных о снижении перфузии, вызванной ишемией, в настоящем ис-

derivatives in space to a magnitude); q – heat flux by conduction in the tissue; Q – heat sources; Q_{bio} – biological heat; k – coefficient of heat conductivity; ρ_b – blood density; C_{pb} – blood specific heat capacity at constant pressure; ω_b – blood perfusion rate; T_b – arterial blood temperature; Q_{met} – metabolic heat source.

A previous work showed the validation of the model with experiments with olive oil and water [16]. Three basic parameters for each material included in the simulation must be known (Table 2) [1, 2, 6, 15]. In fat tissue, these three parameters have a dependence with temperature [6]. No phase change for the fat has been introduced into the simulation. In heterogeneous materials as fat, composed of several types of fatty acids, there is no visible phase change, as for example can be observed in water. In a previous study with olive oil, which shows similar composition than human fat, it was found that there is not a clear phase change when cooling. However, there is a visible change of viscosity with the temperature [16]. Furthermore, previous simulations during the refinement of the model were carried out. Results with and without phase change consideration were compared, and no significant differences were obtained. Therefore, for the simplicity of the model, no phase change has been considered.

In skin, the parameters have been considered constant. It is important to remark that a cryoprotectant gel applied on the skin is absorbed and change the freezing point of the water inside the skin. Therefore, as the water did not freeze at the cooling temperatures of the Cooltech® machine, no phase change for skin has been introduced into the simulation.

Biological heat (Q_{bio}) represents a combination of blood perfusion (or blood flow) and of the metabolic heat of each tissue (see equation) [10]. It is known that the metabolic heat can be considered negligible as a first approximation for protective tissues as normal skin or subcutaneous fat [13]. Moreover, previous studies using also COMSOL have demonstrated that changes in the metabolic heat does not change substantially the results of the simulation [11]. Therefore, only blood perfusion has been considered for the Biological heat.

To calculate the biological heat, four parameters must be known [17]: blood temperature (36°C); blood specific heat (3220 J/kg·K [2]), blood density (900 kg/m³ [2]) and frequency of perfusion for each tissue ($4,2 \cdot 10^{-4}$ 1/s [10]) and skin (0,0018 1/s [10]).

The suction produced by the handpiece causes an ischemia that reduces the blood perfusion in the suctioned tissue. The degree of ischemia depends

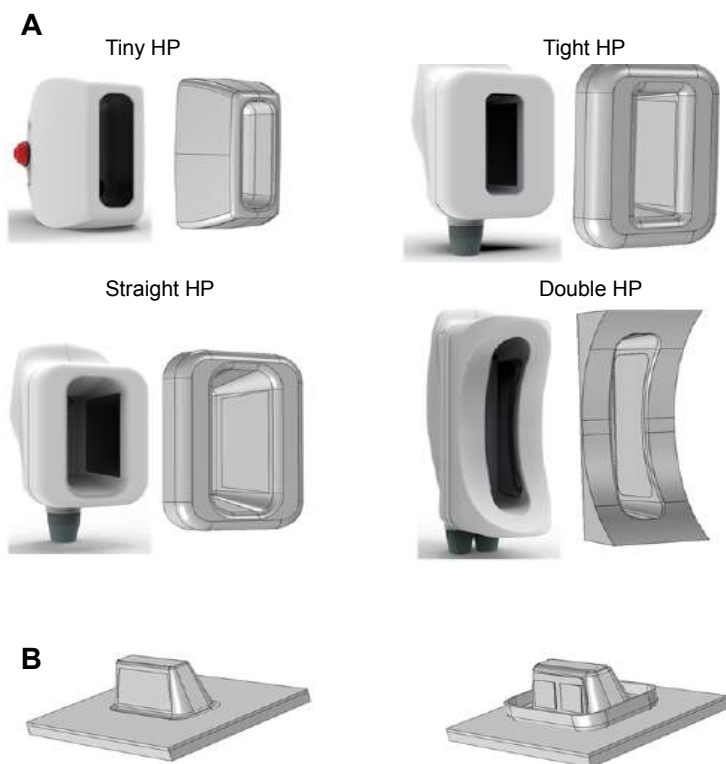


Рис. 2. Трехмерный дизайн насадок «Cooltech®» с использованием программного обеспечения «SolidWorks®» для моделирования: **А** – насадки «Straight HP», «Tight HP», «Double HP» и «Tiny HP». Для каждой насадки слева показаны реальные изображения, справа – 3D-изображения. **В** – трехмерная диаграмма контактных областей тканей и насадок: слева – центральная зона насадки, которая всасывает ткань (блок кожи и жира), и периферическая область насадки с тканями, подверженными влиянию температурного градиента без всасывания; справа изображена насадка с центральной зоной, находящейся внутри, а также окружающая периферическая область.

Fig. 2. 3D designs of Cooltech® handpieces with SolidWorks® software used in the simulations: **A** – Straight HP, Tight HP, Double HP and Tiny HP handpieces. For each handpiece, real images are shown on the left and 3D designs on the right. **B** – 3D diagram of contact areas between the tissues and the handpiece: to the left, the central zone, representing the tissues that are suctioned inside the handpiece (brick of skin and fat) plus the peripheral zone with tissues also affected by the temperature gradient but not suctioned inside the handpiece; and to the right, the handpiece with the central zone lodged inside plus the peripheral zone.

следовании циркуляция крови принималась равной нулю. Для ее учета при моделировании необходим дальнейший анализ. С этой целью мы планируем во время процедуры провести измерение температуры *in vivo* с помощью температурного зонда. На основании этих данных для каждой насадки можно определить циркуляцию крови.

Геометрическая модель биологических тканей состоит из двух частей: ткань внутри полости насадки и наружные ткани (рис. 2, В). Для ткани, находящейся внутри насадки, циркуляция крови не учитывалась из-за ишемии, во внешних тканях ее определяли для каждой ткани отдельно.

Исходными условиями моделирования для биологической ткани была температура тела (36°C), а для остальных материалов – комнатная температура (20°C). В качестве первого граничного условия принимали изолированность системы, т. е. отток тепла через ее контуры отсутствовал. В качестве второго граничного условия для моделирования охлаждения алюминиевых пластин были введены несколько поверхностей с постоянной температурой –8°C, которые представляют собой ячейки Пельтье, контактирующие с алюминиевыми пластинами. Данное граничное условие предполагает, что ячейки Пельтье мгновенно охлаждаются до температуры –8°C. При этом известно, что в реальных условиях требуется несколько минут для достижения температуры –8°C, которая будет поддер-

on the geometry of the handpiece. In absence of accurate experimental data regarding the reduction of perfusion caused by ischemia, the blood perfusion has been considered to be null in the study. In order to introduce the blood perfusion in the simulation, further analysis is required. For that purpose, later studies based on the *in vivo* temperature measurements during a treatment with a temperature probe are planned to be developed. With these data, the blood perfusion will be determined for each handpiece.

The geometric model of the biological tissues has been divided into two parts: the tissues inside the handpiece cavity and the outer tissues (Fig. 2B). For the body inside the handpiece, blood perfusion has not been considered due to the ischemia. In the outer tissues, the blood perfusion of each tissue has been considered.

The initial conditions of the simulation were 36°C (body temperature) for the biological tissue and 20°C (room temperature) for the rest of the materials. As a first boundary condition, an isolated system was considered, which means that heat flow 0 in its contours. As a second boundary condition to simulate the cooling of the aluminium plates, several surfaces have been added at a constant temperature of –8°C which represent the Peltier cells in contact with the aluminium plates. This boundary condition assumes that Peltier cells reach –8°C instantaneously.

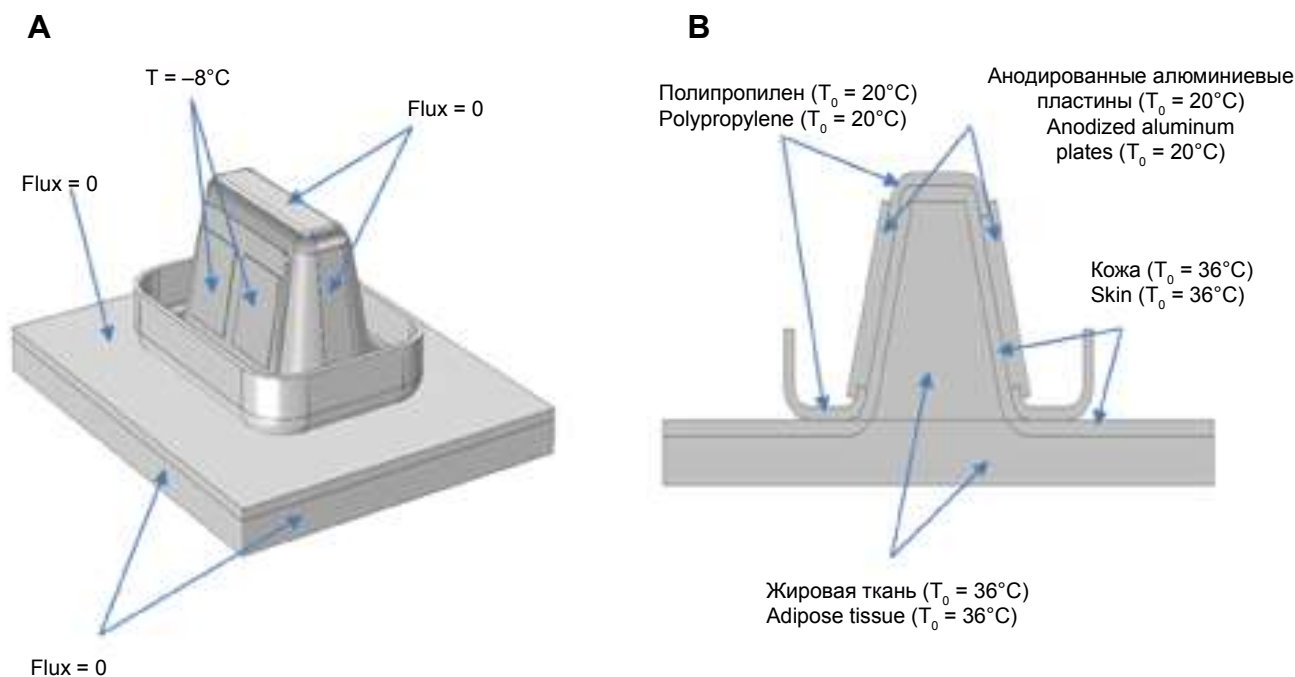


Рис. 3. Используемые граничные (А) и начальные (В) условия моделирования.
Fig. 3. Boundary conditions (А) and initial conditions (В) used.

живаться во время всей процедуры. Время охлаждения рассчитывалось в предыдущем исследовании, проведенном на воде и оливковом масле. Показано, что модель адекватно скорректирована относительно экспериментальных результатов [16].

Начальные и граничные условия моделирования для насадки «Straight HP» представлены на рис. 3.

Результаты и обсуждение

Тенденция к снижению температуры в зависимости от времени была установлена для всех насадок. На рис. 4 показано изменение данного показателя после 70-минутного применения насадки. В центральной области всех насадок наблюдалась аналогичная тенденция, за исключением насадки «Tiny HP». Это объясняется тем, что объем полости «Tiny HP» составляет всего 7% от среднего объема полости других насадок.

Кроме того, все насадки после 70-минутного функционирования достигали разных конечных значений температур, которые были ниже нуля. В табл. 3 приведены эти значения и средняя конечная температура объема жировой ткани, содержащейся в полости каждой насадки. Следует отметить, что снижение температуры в центральной области насадок «Stright HP», «Tight HP» и «Double HP» после 10-минутного функционирования было менее выраженным, чем у насадки

Despite this assumption, it is known that experimentally several minutes are needed to reach the temperature of -8°C , which is kept constant during the whole treatment. This cooling time was already considered on the previous study carried out with water and olive oil, and it was shown that simulations were correctly adjusted to the experimental results [16].

The initial conditions and the boundary conditions of the simulation for the Straight HP handpiece are shown in Fig. 3, where the geometry of the simulation is shown in detail.

Results and discussion

All handpieces showed a time-based decreasing tendency in temperature. Figure 4 shows the evolution of this variable during the 70 minutes of the treatment. The central zone of all handpieces showed a similar tendency, except in the case of Tiny HP. This particularity is explained by the fact that the cavity volume of the Tiny HP handpiece represents only 7% of the mean volume of the other handpieces.

Furthermore, all handpieces reached different final temperatures, although these were all below zero. Table 3 shows all the final temperatures reached after 70 minutes of treatment, and the average final temperature of the fat volume contained in each cavity. It can further be observed that the decrease in temperature during the first 10 minutes

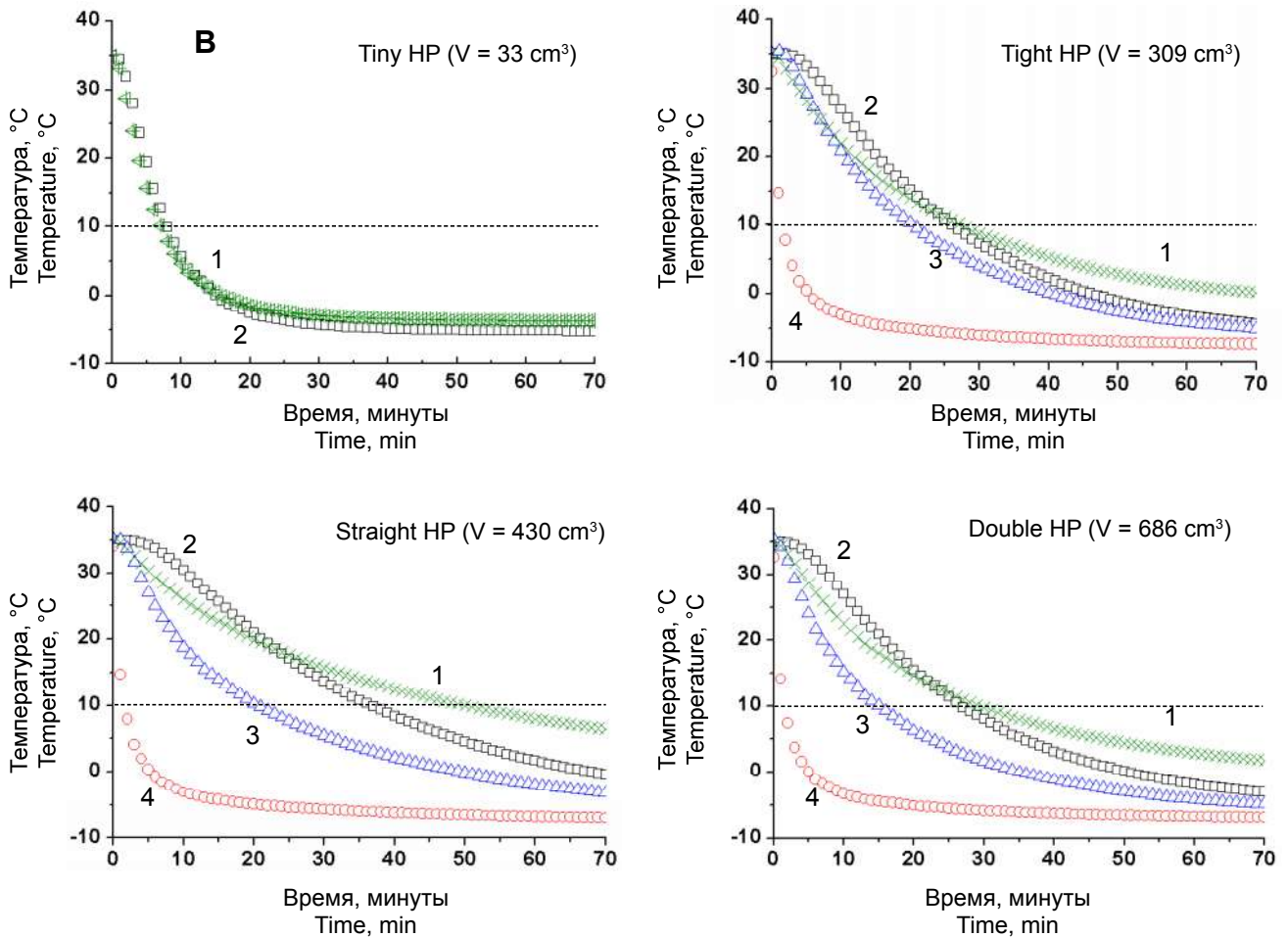
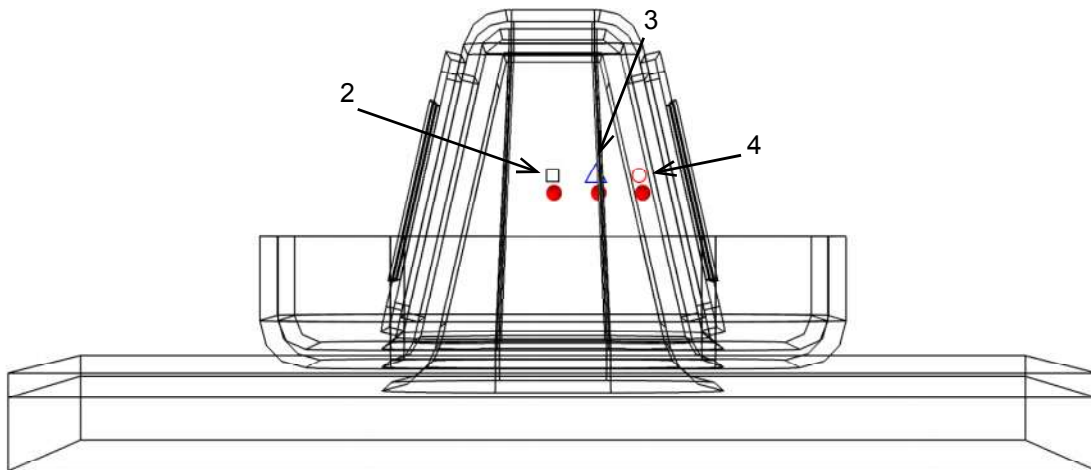
A

Рис. 4. Тепловое моделирование тканей, находящихся внутри насадки: **A** – анализируемые зоны, **B** – температура ткани: 1 – средняя; 2 – в центре; 3 – в области между другими зонами; 4 – в центре алюминиевой пластины. V – объем полости внутри насадки. Пунктирная линия – граница кристаллизации.

Fig. 4. Thermal simulation of tissues lodged inside the handpieces: **A** – analyzed zones, **B** – temperature of tissue. 1 – average temperature; 2 – in the central zone; 3 – in the intermediate zone; 4 – in the center of the aluminum plate. V – volume of the cavity inside the handpiece. Dashed line – crystallization limit.



Таблица 3. Суммарные результаты
Table 3. Summary of results

Насадка Handpiece	T _{конечная} / °C T _{Final} / °C			T _{средняя} / °C T _{Average} / °C	Минимальное время достижения T _{средняя} Minimum time to reach T _{Average}			Доля жира (%), охлажденного ниже T _{исходная} через 70 мин Fat % below reference T at 70 min		
	P1	P2	P3		10,38°C	6°C	2°C	10,38°C	6°C	2°C
Straight HP	-0,41	-3,17	-7,00	6,37	49	70	-	69,06	55,70	39,32
Tight HP	-4,35	-5,07	-7,36	0,11	27	37	54	85,98	78,33	69,76
Double HP	-3,02	-4,85	-6,85	1,79	29	42	67	81,93	73	62,11
Tiny HP	-5,23	-	-	-3,77	7	9	13	100	99,95	88,31

Примечания: Зоны насадок: P1 – центральная; P2 – промежуточная; P3 – ближайшая к пластине. T – температура; % – процентное значение.

Notes: Zone of handpieces: P1 – central zone of the cavity; P2 – intermediate zone; P3 – closest zone to the plate. T – temperature; % – percentage.

Продолжительность обработки
Treatment time

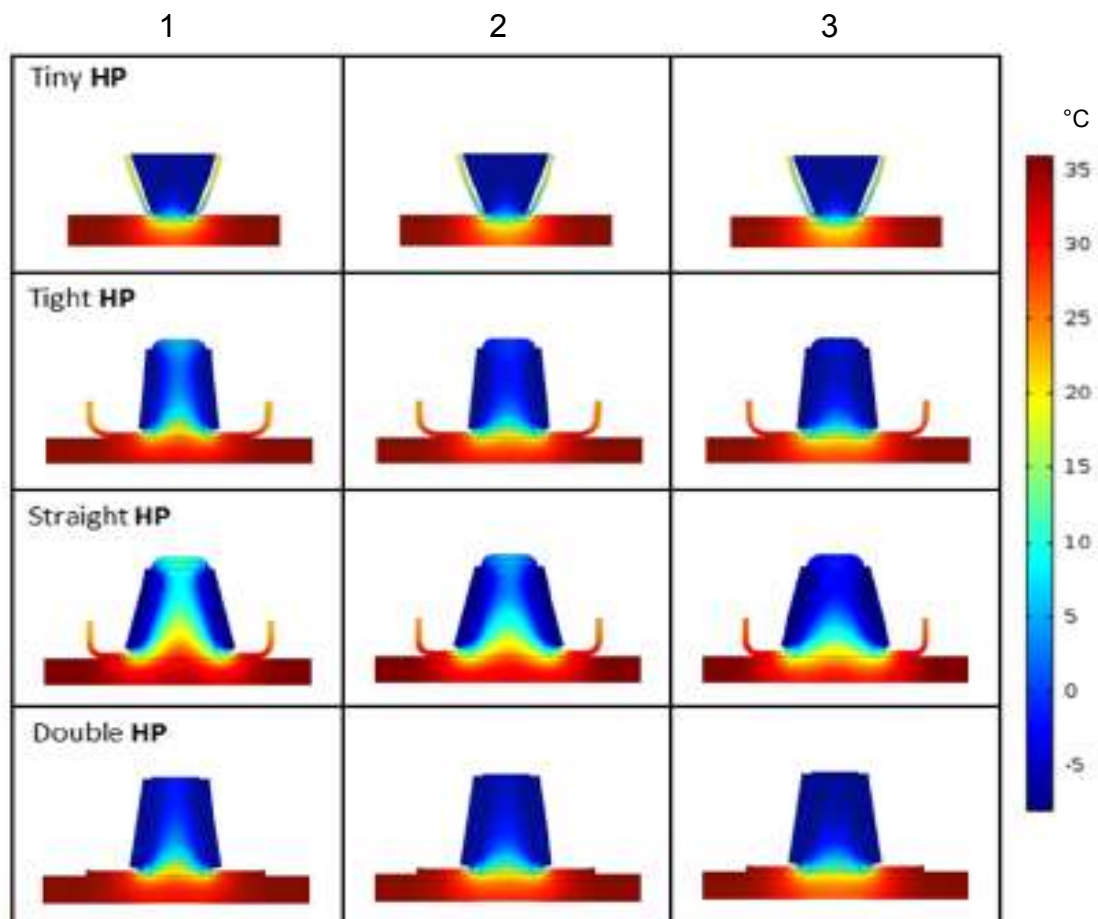


Рис. 5. Изменение и распределение тепла в насадках после 35 (1), 50 (2) и 70 (3) минут применения.

Fig. 5. Thermal images of tissues and handpieces. Heat variation, distribution and homogeneity of each handpiece after 35 (1), 50 (2) and 70 (3) minutes of treatment.

«Tiny HP»: наблюдалось небольшое плато на температурной кривой, после которого температура постоянно снижалась. Такая же зависимость установлена и для значений температуры в центральной области насадки «Tiny HP», однако период, в течение которого температура устойчиво не снижалась, был короче по сравнению с другими насадками, что связано с меньшим объемом жировой ткани внутри насадки.

По окончании процедуры в значительном объеме жировой ткани для всех насадок достигались температуры ниже нуля. На рис. 5 представлена карта температур для каждой насадки, полученная путем численного моделирования. Данная карта представляет собой фронтальный разрез и приведена в зависимости от времени.

В работе представлен анализ доли (в процентах) жировой ткани, охлажденной ниже определенных температур в зависимости от времени (рис. 6). Ранее было установлено, что при температуре 10,38°C начинается процесс кристаллиза-

ции в центральной зонеStraight HP, Tight HP и Double HP handpieces was less pronounced than with Tiny HP, leaving a small segment where the curve reaches a plateau from which temperature steadily decreased. The temperature of the central zone of the Tiny HP handpiece also showed this behaviour, but the time during which there was not a steady decrease in temperature was shorter than with the other handpieces. This was due to the less volume of fat lodged inside.

At the end of the treatment, all handpieces reached sub-zero temperatures with significant fat volumes. Figure 5 shows the map of temperature for each handpiece obtained through numerical simulations and assessed based on time in a frontal slice of the geometry.

Fat percentage below certain time-based temperatures was analysed (Fig. 6). Some publications have established 10.38°C as the starting point for adipocyte crystallization processes [5]. The adipocytes contain triglycerides that crystallize under

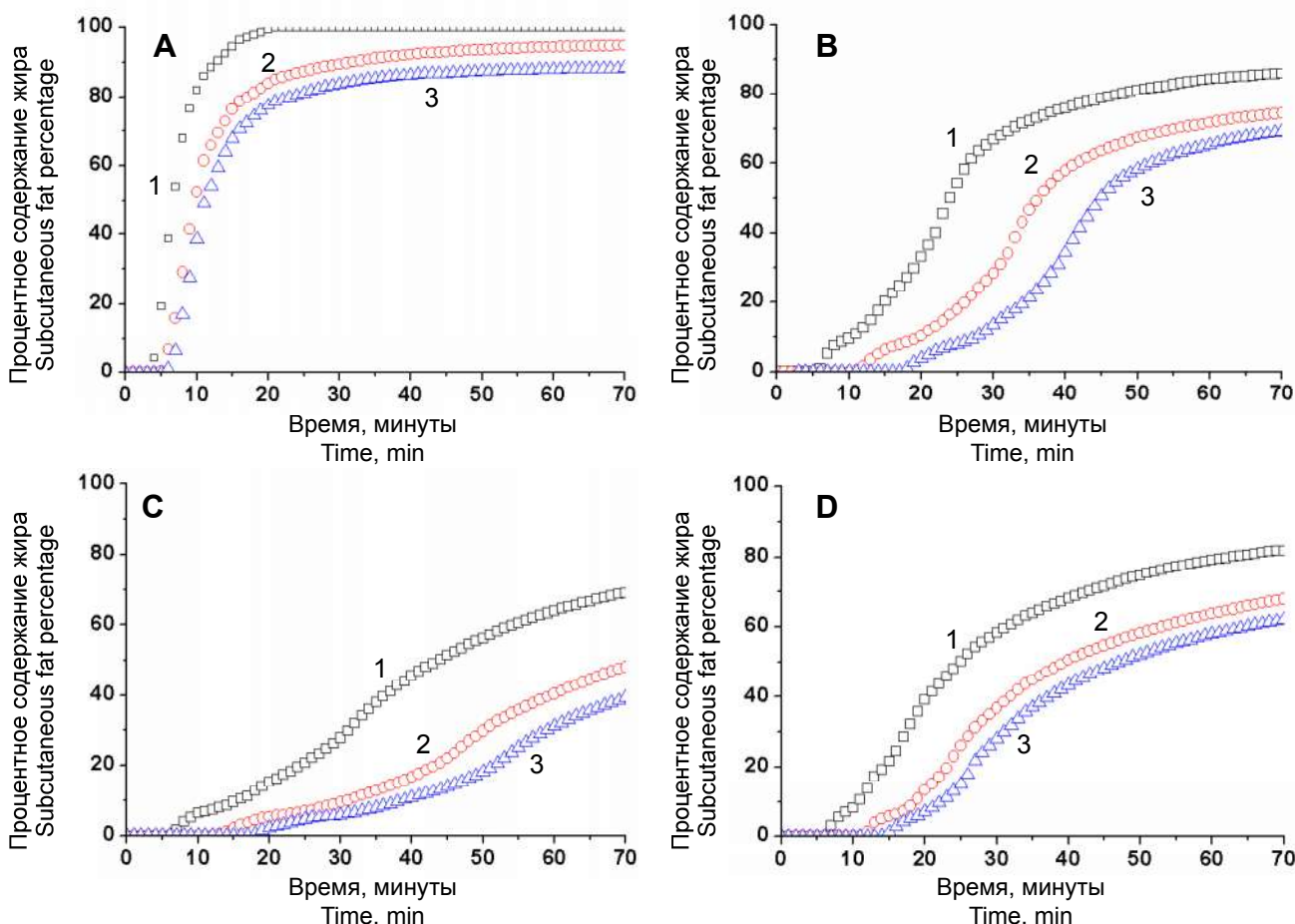


Рис. 6. Процентное содержание жировой ткани после 70-минутного применения насадок: **A** – Tiny HP ($V = 33 \text{ cm}^3$), **B** – Tight HP ($V = 309 \text{ cm}^3$); **C** – Straight HP ($V = 430 \text{ cm}^3$); **D** – Double HP ($V = 686 \text{ cm}^3$). Температура подкожного жира 10,38 °C (1), 6 °C (2) и 2 °C (3).

Fig. 6. Fat percentage below 10.38; 6 and 2°C for each handpiece during the 70 minutes of treatment: **A** – Tiny HP ($V = 33 \text{ cm}^3$), **B** – Tight HP ($V = 309 \text{ cm}^3$); **C** – Straight HP ($V = 430 \text{ cm}^3$); **D** – Double HP ($V = 686 \text{ cm}^3$). Температура подкожного жира 10,38 °C (1), 6 °C (2) и 2 °C (3).



ции адипоцитов [5], поэтому это значение температуры и было выбрано в качестве первой точки оценивания. Адипоциты содержат триглицериды, которые кристаллизуются при температуре около 10°C. После кристаллизации было сделано предположение о возникновении апоптоза адипоцитов [9]. Кроме того, оценивали температуры 6 и 2°C, поскольку при них экспериментально подтверждены фазовые переходы. Эти же температуры рассматривались и другими авторами как потенциальные температуры кристаллизации триглицеридов [12]. Для сравнения эффективности различных насадок доля жировой ткани, охлажденной ниже указанной температуры, представлена на рис. 6. Следует отметить, что большая доля жировой ткани, охлажденной ниже определенной температуры, предполагает более высокую терапевтическую эффективность.

При снижении референтной температуры уменьшается и доля жировой ткани, которая достигает температуры, ниже эталонной. Такая тенденция была одинакова для всех оцениваемых насадок (рис. 6). Используя насадку «Double HP», удалось достичь аспирации 60% подкожной жировой ткани при температуре ниже 2°C. Для всех насадок было показано, что по меньшей мере для 50% жировой ткани значения температуры были ниже начальной температуры кристаллизации (10,38°C) уже после 35-минутного функционирования насадки. По сравнению с другими насадками, «Tiny HP» обеспечивала охлаждение большей доли аспирированной жировой ткани до более низкой температуры и за меньшее время, поскольку объем ее полости был меньше (рис. 6). После 5-минутного использования этой насадки процентная доля жировой ткани, охлажденной ниже контрольных значений, резко увеличивалась, особенно между 5–20 минутами, и в итоге стабилизировалась. В случае использования насадки «Tight HP» изменение доли жировой ткани, охлажденной ниже контрольных температур, может быть разделено на следующие области: первая – доля ткани, охлажденной до контрольных точек, отсутствовала (0–20 мин); вторая – доля жировой ткани постоянно увеличивалась; третья – изменение наклона температурной кривой и устойчивое увеличение доли жировой ткани, которая была гораздо меньше общего объема, чем во второй области (рис. 6). В случае применения насадки «Straight HP» наблюдалось также изменение наклона всех кривых. При использовании насадки «Double HP» изменение доли жировой ткани, охлажденной до температур, ниже контрольных значе-

temperature around 10°C. After crystallization, it has been proposed that apoptosis of the adipocytes occurs [9]. Other temperatures as 6°C and 2°C were also chosen because there is experimental evidence of phase transitions at these temperatures and have been proposed by other authors as potential temperatures of crystallization of the triglycerides [12]. Fat percentage found below these reference temperatures were used in Figure 6 to compare efficacy between the different handpieces, since a larger fat percentage below certain temperature suggests a higher therapeutic efficacy.

As the reference temperature decreased, so did the percentage of fat below that temperature. This behaviour was the same with all handpieces under evaluation (Fig. 6). The Double HP handpiece managed to get 60% of lodged subcutaneous fat below 2°C. Likewise, with all handpieces, at least 50% of fat showed a temperature below the crystallization starting temperature (10.38°C) in half the total time of treatment (35 minutes). Compared with the other handpieces, Tiny HP reached a larger fat percentage, at a lower temperature and in less time (Fig. 6), due to the smaller volume of its cavity. With this handpiece, fat percentage below the assessed temperatures suddenly increased after 5 minutes of treatment, growing very fast between 5–20 minutes and finally stabilizing. In the case of the Tight HP handpiece, the evolution of fat percentage below the reference temperatures can be divided into three regions for analysis: the first region ranged from 0–20 minutes and showed no fat at the evaluated temperatures; in the second region, fat percentage steadily increased, and in the third, there was a change in slope and a steady growth of fat percentage but with a much smaller ratio than in region 2 (Fig. 6). In the case of the Straight HP handpiece, there was also a change in slope in all curves, although with more similar slopes. Finally, evolution of fat percentage below the reference temperatures in the Double HP handpiece can also be described in three regions: the first region showed no fat below the evaluated temperature; in the second region, fat percentage grew, and the curve slope increased fast, and in the third, fat percentage stabilized, and the slope decreased (Fig. 6).

For a total treatment time of 70 minutes, average temperatures for the simulations of all handpieces were found to be equal to, or less than the crystallization starting temperature of adipocytes. Some handpieces, like Tiny HP, reached this temperature in less time than the rest, between 4 and up to 7 times less than handpieces with a larger capacity. On the other hand, with the Double HP hand-



ний, также можно описать в трех областях: в первой – таковая доля ткани также не установлена; во второй – доля жировой ткани и наклон кривой увеличивались; в третьей – доля жировой ткани стабилизировалась, наклон кривой уменьшался (рис. 6).

После 70-минутной процедуры средние температуры при моделировании для всех насадок были одинаковыми или ниже начальной температуры кристаллизации адипоцитов. Некоторые насадки, в частности «Tiny HP», достигали этой температуры за меньшее время (от 4 до 7 раз), чем насадки с большей вместимостью полости. При этом с помощью насадки «Double HP», имеющей большую вместимость, более 80% жировой ткани достигало начальной температуры кристаллизации в конце процедуры.

В работе была проведена оценка эффективности использования каждого типа насадки. Наряду с другими переменными анализировали их охлаждающую способность, геометрию и тепловую гомогенность. Эта информация была получена впервые и подтверждена клиническими данными [3]. Установлено, что все используемые насадки эффективны для охлаждения жировой ткани в течение стандартной 70-минутной процедуры при температуре -8°C . При использовании насадок с наибольшей вместимостью полости однородность в распределении температуры была ниже. Насадка «Tiny HP» показала наибольшую охлаждающую способность, при этом охлаждение ткани происходит однородно и в более короткий срок по сравнению с другими насадками. Она обеспечивала всасывание большей доли жировой ткани, которая может быть охлаждена до температур кристаллизации (100%), что объясняется меньшей вместимостью ее полости. Напротив, насадка «Straight HP» дает менее однородное распределение температуры, самое медленное достижение целевых температур и вмещает меньшую долю жировой ткани (69,06%), которая охлаждается до температур кристаллизации. Тем не менее, общая конструкция и конфигурация полости насадки «Straight HP» являются наиболее подходящими для криоадиполиза некоторых областей тела и различных форм жировых складок. Насадка «Double HP» с наибольшей вместимостью полости позволяет в конце процедуры достигать 81,93% жировой ткани, охлажденной ниже температуры кристаллизации. Это связано с ее длинной и узкой конструкцией, обеспечивающей большую площадь контакта с кожей и, следовательно, лучшее охлаждение объема находящейся внутри жировой ткани.

piece containing the larger volume capacity, over 80% of fat would reach the crystallization starting temperature at the end of the treatment.

In recent years, cryoadipolysis has been found to be an efficient technique for body contouring and reduction of localized body fat. Thanks to its non-invasive nature and effectiveness, it is a good alternative to other invasive methods that represent a greater risk for patients. Cryoadipolysis platforms have evolved and developed better solutions for patients. The use of handpieces with different shapes and cavities able to better fit different parts of the human body is a good example of this.

In this paper, we have used a mathematical model that had already been mentioned in a previous study, where the importance of modelling all factors that influence a real cryoadipolysis treatment was revealed [16]. The high level of truthfulness of the suggested model is supported by data and good clinical results from hundreds of thousands of treatments carried out all over the world [3]. In turn, the effectiveness of the original model supports the results obtained in this simulation, since these are consistent with reports of good clinical results obtained with the Cooltech® technology [4].

The efficacy of each handpiece has been assessed, specifically analysing their cooling capacity, geometry or heat homogeneity, among other variables. This information has no precedents and adds great value to the clinical experience already obtained. All simulated handpieces were found to be effective for cooling fat during a standard 70-minute treatment at -8°C . Figure 6 shows fat percentages below crystallization temperatures obtained through numerical simulations for each handpiece, and Table 3 summarizes all findings. Handpieces with most volume capacity show less homogeneity in temperature distribution. The handpiece with most cooling capacity was Tiny HP, which cools tissues in a more homogeneous way and can lower the temperature of tissues faster than the others.

This handpiece can also lodge a larger percentage of fat subjected to temperatures that can reach crystallization (100%). This is because Tiny HP is the handpiece that lodges less volume of fat. In contrast, the Straight HP handpiece has a less homogeneous temperature distribution, besides being the slowest to reach target temperatures and lodging a smaller percentage of fat (69.06%) at crystallization temperatures. However, thanks to its general design and that of its cavity, Straight HP is the handpiece that better fits several areas of the body and various shapes of fat folds. It should also be noted that the handpiece that lodges the larger volume of fat, Double HP, reaches 81.93%



Выводы

Представлены трехмерная биологическая модель охлаждения кожи/жировой ткани до температуры -8°C с помощью различных насадок для криоадиполиза, а также численное решение уравнения теплопередачи с использованием программного обеспечения «Comsol Multiphysics®». Результаты показывают, что наиболее релевантными переменными для оценки эффективности использования такого рода насадок являются охлаждающая способность, геометрия и гомогенность температуры в ткани. Установлено, что численное моделирование и, в частности, применяемая модель являются полезным инструментом для оптимизации времени использования, улучшения дизайна и терапевтической эффективности каждой насадки. В настоящем исследовании рассматривались такие параметры, как форма полости, область контакта насадки с кожей, объем, присущие конструкции насадок, используемых при моделировании.

Для подтверждения возможности применения описанных моделей необходимо проведение специальных клинических испытаний, которые позволят проверить надежность моделирования путем сравнения моделируемых процессов с реальными клиническими результатами, полученными после криоадиполиза. Дальнейшее усовершенствование модели будет направлено на определение взаимосвязи между ишемией, возникающей во время аспирации ткани и перфузией крови.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов или каких-либо других финансовых обязательств.

Литература

1. Alumina ceramic (94% alumina) [SubsTech] [Internet]. [cited 2018 Jun 4]. Available from: http://www.substech.com/dokuwiki/doku.php?id=alumina_ceramic_94_alumina.
2. COMSOL Multiphysics® Modeling Software [Internet]. [cited 2018 Sep 7]. Available from: <https://www.comsol.es/>.
3. Cosmetic Surgery National Data Bank Statistics [Internet]. American Society for Aesthetic Plastic Surgery (ASAPS). 2017. 27 p. [cited 2018 Sep 7]. Available from: <https://www.surgery.org/sites/default/files/ASAPS-Stats2017.pdf>
4. Ingargiola MJ, Motakef S, Chung MT, et al. Cryolipolysis for Fat Reduction and Body Contouring: Safety and Efficacy of Current Treatment Paradigms. *Plast Reconstr Surg*. 2015 Jun;135(6):1581–90.
5. Manstein D, Laubach H, Watanabe K, et al. Selective cryolysis: A novel method of non-invasive fat removal. *Lasers Surg Med*. 2008 Nov;40(9):595–604.
6. Pham QT. Food freezing and thawing calculations. New York: Springer-Verlag; 2014. 153 p.

of fat below crystallization temperature at the end of treatment. This is due to its long and narrow design, which provides an elevated contact area with the skin, and therefore better cooling of the fat volume lodged inside.

Conclusion

A 3D biological model of skin/fat tissues cooled to -8°C with different cryoadipolysis handpieces and the numerical resolution of the heat transfer equation using Comsol Multiphysics® software is presented. The results show that most relevant variables to assess the efficacy of this kind of handpieces are the cooling capacity, geometry and heat homogeneity. Numerical simulations, and particularly the model applied, are found to be a very useful tool to optimize treatment time and improve the designs and therapeutic efficacy of each handpiece. In this study, the shape of the cavity, the area where the handpiece touches the skin and its volume, among others, are considered, since they are inherent to the design used in the simulation.

A complete validation of these simulations will require specifically designed clinical trials that enable to check the reliability of the simulations by comparing simulated clinical surveys with real clinical results obtained after a cryoadipolysis treatment. A future improvement of the model would be determining the relation of the ischemia, produced in the suctioned tissue within the handpiece, with the blood perfusion.

Authors have no conflicts of interest or financial ties to disclose.

References

1. Alumina ceramic (94% alumina) [SubsTech] [Internet]. [cited 2018 Jun 4]. Available from: http://www.substech.com/dokuwiki/doku.php?id=alumina_ceramic_94_alumina.
2. COMSOL Multiphysics® Modeling Software [Internet]. [cited 2018 Sep 7]. Available from: <https://www.comsol.es/>.
3. Cosmetic Surgery National Data Bank Statistics [Internet]. American Society for Aesthetic Plastic Surgery (ASAPS). 2017. 27 p. [cited 2018 Sep 7]. Available from: <https://www.surgery.org/sites/default/files/ASAPS-Stats2017.pdf>
4. Ingargiola MJ, Motakef S, Chung MT, et al. Cryolipolysis for Fat Reduction and Body Contouring: Safety and Efficacy of Current Treatment Paradigms. *Plast Reconstr Surg*. 2015 Jun;135(6):1581–90.
5. Manstein D, Laubach H, Watanabe K, Farinelli W, Zurakowski D, Anderson RR. Selective cryolysis: A novel method of non-invasive fat removal. *Lasers Surg Med*. 2008 Nov;40(9):595–604.
6. Pham QT. Food freezing and thawing calculations. New York: Springer-Verlag; 2014. 153 p.
7. Pinto H. Lipocryolysis: Cooling Speed Affects Adipocyte Survival. *J Surg*. 2015;3(1):11.



7. Pinto H. Lipocryolysis: Cooling Speed Affects Adipocyte Survival. *J Surg*. 2015;3(1):11.
8. Pinto HR, Garcia-Cruz E, Melamed GE. A study to evaluate the action of lipocryolysis. *Cryo-Letters*. 2012;33(3):177–81.
9. Pinto H, Ricart-Jane D, Pardina E. X-ray diffraction study confirms intra-adipocitary lipid crystallization after lipocryolysis stimulus. *Cryo Letters*. 2013;34(6):619–23.
10. Raulin C, Karsai S, editors. *Laser and IPL Technology in Dermatology and Aesthetic Medicine*. Berlin: Springer-Verlag; 2016. 419 p.
11. Rosario N, Jazmin K, Yasmeen M, Michelle B. Cool-sculpting: Optimizing Total Fat Loss During Cryolipolysis [Internet]. Ithaca (NY): College of Agriculture and Life Sciences, Cornell University; 2018 May 19; 35 p. [cited 2018 Jun 4]. Final Report: MAE/BEE 4530: Computer-Aided Engineering Group 1. Available from: <https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/57227/Group1-%20final%20report%202.pdf?sequence=2>.
12. Sajjadi AY, Manstein D, Carp SA. Measuring Temperature Induced Phase Change Kinetics in Subcutaneous Adipose Tissues Using Near Infrared Spectroscopy, MR Imaging and Spectroscopy and OCT. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 19 [cited 2018 Jun 4];7(1):17786. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-18145-9>.
13. Scott EP, Robinson PS, Diller TE. Development of methodologies for the noninvasive the estimation of blood perfusion using a minimally invasive thermal probe. *Meas Sci Technol*. 1998;9(6):888–97.
14. Serena R. Cryolipolysis: a technique that delivers results. *Aesth Med*. 2017;3(2):53–6.
15. Thermal Properties of Plastic Materials Material Formula Coefficient of thermal expansion $\times 10^{-6}$ K [Internet]. [cited 2018 Jun 4]. Professional Plastics. Available from: <https://www.professionalplastics.com/professionalplastics/ThermalPropertiesofPlasticMaterials.pdf>.
16. Viera-Mármol G, García P, Villena J. Validation of Cooling and Freezing Dynamics of Cooltech® Using an Experimentally Adjusted Physical Model. *SAS J Med*. 2017; 3(12):343-9.
17. Williams LR, Leggett RW. Reference values for resting blood flow to organs of man. *Clin Phys Physiol Meas*. 1989 Aug;10(3):187–217.
8. Pinto HR, Garcia-Cruz E, Melamed GE. A study to evaluate the action of lipocryolysis. *Cryo-Letters*. 2012;33(3):177–81.
9. Pinto H, Ricart-Jane D, Pardina E. X-ray diffraction study confirms intra-adipocitary lipid crystallization after lipocryolysis stimulus. *Cryo Letters*. 2013;34(6):619–23.
10. Raulin C, Karsai S, editors. *Laser and IPL Technology in Dermatology and Aesthetic Medicine*. Berlin: Springer-Verlag; 2016. 419 p.
11. Rosario N, Jazmin K, Yasmeen M, Michelle B. Cool-sculpting: Optimizing Total Fat Loss During Cryolipolysis [Internet]. Ithaca (NY): College of Agriculture and Life Sciences, Cornell University; 2018 May 19; 35 p. [cited 2018 Jun 4]. Final Report: MAE/BEE 4530: Computer-Aided Engineering Group 1. Available from: <https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/57227/Group1-%20final%20report%202.pdf?sequence=2>.
12. Sajjadi AY, Manstein D, Carp SA. Measuring Temperature Induced Phase Change Kinetics in Subcutaneous Adipose Tissues Using Near Infrared Spectroscopy, MR Imaging and Spectroscopy and OCT. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 19 [cited 2018 Jun 4];7(1):17786. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-18145-9>.
13. Scott EP, Robinson PS, Diller TE. Development of methodologies for the noninvasive the estimation of blood perfusion using a minimally invasive thermal probe. *Meas Sci Technol*. 1998;9(6):888–97.
14. Serena R. Cryolipolysis: a technique that delivers results. *Aesth Med*. 2017;3(2):53–6.
15. Thermal Properties of Plastic Materials Material Formula Coefficient of thermal expansion $\times 10^{-6}$ K [Internet]. [cited 2018 Jun 4]. Professional Plastics. Available from: <https://www.professionalplastics.com/professionalplastics/ThermalPropertiesofPlasticMaterials.pdf>.
16. Viera-Mármol G, García P, Villena J. Validation of Cooling and Freezing Dynamics of Cooltech® Using an Experimentally Adjusted Physical Model. *SAS J Med*. 2017; 3(12):343-9.
17. Williams LR, Leggett RW. Reference values for resting blood flow to organs of man. *Clin Phys Physiol Meas*. 1989 Aug;10(3):187–217.

