Противоречия эстетической медицины. 6. Методы скинтайтинга: миф о схлопывании коллагеновых волокон

1 ВВЕДЕНИЕ

Неинвазивные и минимально инвазивные аппаратные методы лечения находят все большее применение в эстетической медицине. Некоторые из этих методов, особенно те, которые предназначены для подтяжки кожи, декларируют долгосрочную модификацию коллагеновой сети как основную цель их применения. Этот эффект может быть достигнут, в частности, за счет конформационных изменений в коллагеновых структурах, вызываемых локальным выделением тепла в ткани-мишени. Одно из таких конформационных изменений – так называемое схлопывание коллагеновых структур – эффект, который практически всеми лазерными и радиочастотными методами подтяжки кожи заявляется в качестве основы их воздействия. Несмотря на то что молекулы коллагена действительно изменяют свою конфигурацию при нагревании и при этом даже могут существенно схлопываться (что было продемонстрировано во многих исследованиях *in vitro* и *in vivo*), действительный вклад этого феномена в наблюдаемые клинические результаты после применения различных методов подтяжки кожи остается спорным.

И. Кругликов, доктор физико-математических наук, «Веллкомет ГмбХ», Германия
Статья публикуется с разрешения доктора И. Кругликова и журнала KOSMETICHE MEDIZIN (4/2013), Германия

2 МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ КОЛЛАГЕНОВЫХ СТРУКТУР ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ

Сшитый (зрелый) коллаген – *важная составная часть соединительной ткани,* а его содержание определяет механические свойства и стабильность этой ткани. Содержание коллагена в ткани сильно зависит от скорости его обновления, которое протекает на разных уровнях – от активирования матричной рибонуклеиновой кислоты и синтеза проколлагена до производства зрелой коллагеновой сетки. Причем первые стадии этого процесса очень неустойчивы и могут чувствительно реагировать на различные физические факторы [1, 2]. Свободные белки проколлагена нестабильны, их внутримолекулярные связи слабы и могут быть ферментативно, а также под воздействием физических факторов расщеплены. Эти белки сами по себе не играют роли в механических свойствах соединительной ткани, поскольку только коллагеновые волокна, образующиеся путем фибриллогенеза, формируют механически ригидные и ферментативно устойчивые структуры (которые связаны также гликозаминогликанами и потому могут эффективно управлять накоплением воды в тканях).

Общепризнанно, что содержание коллагена в соединительной ткани с возрастом непрерывно уменьшается, что может иметь драматические последствия для ее механических

свойств. Снижение содержания коллагена, а также деформация коллагеновой сетки ведут к возникновению крупнозернистой и несовершенной пространственной структуры, ригидность которой соответственно уменьшается. Искусственное уплотнение и упрочение этой сетки теоретически должно было бы привести к подтяжке кожи, а значит, и к улучшению ее внешнего вида.

Существуют три основные возможности добиться таких изменений. Некоторые из них могут быть реализованы в долгосрочной перспективе, другие – в среднесрочной или краткосрочной.

Смещение равновесия между формированием и разрушением соединительной ткани

Эта стратегия в долгосрочной перспективе может привести к стабильному обновлению коллагеновой сетки. Смещение в направлении разрушения соединительной ткани развивается в течение длительного времени вследствие разных заболеваний, действия солнечного излучения, а также по мере старения. Обратного развития этого процесса можно добиться путем целевого стимулирования фибробластов при одновременном подавлении матриксных металлопротеиназ, отвечающих за разрушение коллагена. Однако следует учесть, что обновление зрелой коллагеновой сетки в коже протекает в квазифизиологических условиях крайне медленно с периодом полураспада коллагена около 15 лет [3], поэтому такое обновление кожи может произойти только спустя длительное время [1].

Локальное повреждение соединительной ткани, которое приводит к образованию рубцов и соответствующему изменению натяжения кожи

Именно такие изменения типичны при проведении минимально инвазивных омолаживающих процедур – лазерных (Fraxel и др.), радиочастотных и других. Эффект подтяжки кожи должен возникнуть при этом в среднесрочной перспективе (от недель до нескольких месяцев) и по времени должен коррелировать с образованием рубцов в соединительной ткани.

Модификация внутри- или межмолекулярных связей в коллагене в целях воздействия на структуры коллагеновой сетки на уровне отдельных коллагеновых молекул, коллагеновых фибрилл и/или коллагеновых волокон

Самым известным примером такой модификации является обратимая или необратимая денатурация коллагена под воздействием тепла, которая терапевтически применяется для укрепления слабой соединительной ткани в нестабильных суставных капсулах с помощью термической капсулорафии, а также в термокератопластике и для подтяжки кожи (Skin Tightening) в эстетической медицине. При массивной денатурации коллагена подтяжка соединительной ткани должна возникнуть сразу или через непродолжительное время после проведения процедуры.

***

Наиболее важные методы скинтайтинга в эстетической медицине основываются на локальном повышении температуры, причем в связи с этим следует различать следующие виды нагрева: с помощью воды, лазерный, ультразвуковой и радиочастотный. Хотя в основе этих методов лежат разные физические механизмы передачи энергии (а значит, и распределение энергии в тканях происходит по-разному), в конечном итоге все они осуществляют некоторое тепловое воздействие на целевую область.

Практически все эстетические методы коррекции, основанные на выделении тепла, декларируют схлопывание коллагеновых волокон как наиболее важный механизм их действия, не только обеспечивающий надежную теоретическую базу для этих методов, но и обосновывающий получение быстрого и относительно долгосрочного эффекта. Данное объяснение было перенято у достаточно хорошо изученных неинвазивных или минимально инвазивных методов (например, у капсулорафии) без критического анализа различий в распределении энергии и длительности воздействия. При этом часто игнорируется и тот факт, что схлопывание коллагеновых волокон зависит от многих, как правило, плохо контролируемых параметров и при квазифизиологических температурах в живом организме может быть в действительности реализовано лишь очень ограниченно. Так, для большинства применяемых на практике радиочастотных методов

коррекции время местного воздействия составляет менее 10 секунд, а во многих случаях оно лежит даже в миллисекундном диапазоне. В большинстве же исследований *in vitro* и клинических исследованиях по применению капсулорафии при температуре 60–70° С используется время воздействия в минутном диапазоне. Кроме того, обычно не принимается во внимание и то, что денатурированные молекулы коллагена не могут долго оставаться в ткани и должны быть элиминированы аутогенными желатиназами, что должно достаточно быстро снизить достигнутый эффект, если бы он действительно возникал от схлопывания коллагеновых волокон.

Все это порождает законный вопрос: насколько реально схлопывание коллагеновых волокон при проведении неинвазивных эстетических процедур. Этот вопрос становится особенно актуальным в свете все большей популярности радиочастотных методов эстетической коррекции независимо от используемых технических решений, связанных с моно-, би-, три- или даже мультиполярным расположением электродов.

3 ТЕРМИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ КОЛЛАГЕНА

Молекулы проколлагена состоят из трех полипептидных цепей, которые с помощью слабых внутримолекулярных связей образуют тройную спиральную структуру (три закрученные в левую сторону спирали составляют суперспираль, закрученную в правую сторону). Слабые внутримолекулярные связи (водородные мостики) возникают между глицинами одной спирали и пролинами другой, так что на каждый триплет приходится обычно один водородный «мостик». Такие тройные спиральные структуры могут в дальнейшем организоваться и удерживаться в параллельно расположенных структурах более высокого порядка – микрофибриллах (состоящих из 5 молекул проколлагена) и фибриллах, а также в коллагеновых волокнах, где их связывают уже альдегидные мостики, которые являются существенно более прочными, чем водородные. Только такие зрелые фибриллярные структуры, а не проколлагены могут отвечать за механические свойства соединительной ткани.

Тройные спирали коллагена формируют матриксные структуры различных типов тканей и при нормальных температурах тела остаются термически и механически относительно стабильными. Поэтому длительное время предполагалось, что эти молекулы обладают маргинальной термостабильностью и денатурируют лишь при температурах, на несколько градусов Цельсия превосходящих температуру тела. Однако в настоящее время многое говорит в пользу того, что температура денатурации (T_D) тройных спиралей проколлагена на самом деле ниже температуры тела [4]. Если это действительно так, то можно предположить, что молекулы проколлагена уже при температуре тела не существуют в устойчивой для них форме тройной спирали, а должны иметь стохастическую (случайную) структуру. Как только молекулы проколлагена выделяются из клетки, они сразу же начинают распадаться. Предполагается, что это может быть связано с отсутствием стабилизирующих белков теплового шока. Такой быстрый распад объясняет, почему абсолютное большинство вновь синтезированных молекул проколлагена снова спонтанно распадаются и никогда не образуют зрелых фибриллярных структур.

Итак, нагревание при квазифизиологических температурах приводит к тому, что неустойчивые внутримолекулярные связи разрушаются, хотя при этом межмолекулярные сшивки могут сохраняться и дальше. Таким образом происходит **денатурация коллагена,** *часто называемая также* **схлопыванием коллагеновых волокон,** – *коллагеновые фибриллы теряют свою внутреннюю спиральную структуру, схлопываются вдоль главной оси и в дальнейшем удерживаются вместе в основном за счет внутримолекулярных связей*. Подобное конформационное изменение соответствует переходу коллагена из высокоорганизованной кристаллообразной структуры в гелеобразное (денатурированное) состояние.

Разрушение молекул коллагена по механизму обратной связи приводит к активации фибриллогенеза (образованию коллагеновых фибрилл из отдельных молекул проколлагена), что позволяет вновь стабилизировать коллагеновые структуры. Так из нестабильных молекул проколлагена могут быть образованы стабильные структуры коллагена [5].

Как уже было сказано, квазифизиологическое нагревание ткани может усилить распад молекул проколлагена. Однако этот процесс в первую очередь затронет именно свободные

молекулы проколлагена и не должен привести к существенному изменению зрелой коллагеновой сетки, для термической модификации которой потребуются намного более высокие температуры. Зрелый коллаген денатурирует обычно при температуре 60–65° С. Здесь имеется в виду так называемая температура перехода, при которой денатурируют 50% всех молекул коллагена. Поскольку конформационные изменения происходят в температурном диапазоне 10–12° С, первые переходы, как правило, могут наблюдаться уже при температуре на 5–6° С ниже среднего значения TD. Это определяет абсолютный предел минимально эффективной температуры денатурации коллагена в соединительной ткани на уровне 55° С.

Предельная температура, при которой наблюдаются первые признаки денатурации зрелого коллагена во время эстетической процедуры, зависит от различных контролируемых и неконтролируемых параметров – скорости нагревания, гидратации ткани, стресса, предшествующих процедур и т.д. Снижение T_D всего на 1° С способно уменьшить длительность распада коллагена с нескольких дней до нескольких часов, вследствие чего может существенно измениться динамический баланс между распадом коллагена и образованием коллагеновых фибрилл.

К этому добавляется еще один важный момент: изменения в структуре коллагена во время нагревания в зависимости от температуры и длительности воздействия могут быть либо обратимыми, либо необратимыми. Умеренное и относительно краткосрочное повышение температуры приводит к локальным изменениям во внутримолекулярной структуре молекул коллагена, которые, однако, регенерируют спустя некоторое время после процедуры (обратимые изменения), если, конечно, прежде эти поврежденные молекулы не были расщеплены ферментативно. При более высоких температурах в молекулах коллагена возникают необратимые структурные изменения, в результате чего они больше не могут спонтанно восстановиться. Такие денатурированные коллагеновые структуры могут быть элиминированы только посредством матриксных металлопротеиназ.

4 УСЛОВИЯ СХЛОПЫВАНИЯ КОЛЛАГЕНОВЫХ МОЛЕКУЛ: ЗАВИСИМОСТЬ ОТ РАЗЛИЧНЫХ ПАРАМЕТРОВ

Результат нагревания коллагена в большой степени зависит от различных параметров. Наиболее важными из них являются:

– максимальная температура в ткани;
– длительность воздействия;
– механический стресс во время нагревания;
– содержание коллагена и ориентация коллагеновых волокон;
– возраст соединительной ткани;
– значение pH в ткани;
– степень гидратации ткани.

Максимальная температура и длительность нагрева

Чем выше температура, до которой нагреваются коллагеновые структуры, тем короче время, необходимое для получения одинакового модифицирующего эффекта. Так, нагрев *in vitro* коллагена из плечевого сустава при температуре воды 65° С в течение 10 минут приводит к 10%-ному схлопыванию его волокон, а нагревание до 80° С уже через 1,5 минуты способно вызвать 60%-ную денатурацию коллагена.

Похожий эксперимент по воздействию на такие же коллагеновые пробы радиочастотным током продемонстрировал другие значения: при нагревании пробы до 65° С произошло схлопывание менее 4% коллагеновых волокон, а при ее нагревании до 80° С – 14% [6]. А при исследовании коллагеновых проб из сухожилий крысиных хвостов [7] денатурация коллагена произошла при еще более низкой температуре: через 1,5 минуты нагрева до 58° С денатурировало менее 10% коллагена, а через 9 минут – уже почти 50%.

Исследования *in vitro* демонстрируют при этом еще один эффект – так называемый эффект плато: при достижении определенной степени денатурации дальнейшего разрушения коллагеновых волокон не происходит, несмотря на последующее повышение температуры.

Если принять во внимание, что повышение температуры всего лишь до 45° С уже существенно влияет на витальность клеток, то представляется совершенно невероятным, что схлопывание коллагена во время неинвазивных радиочастотных процедур (которые,

как правило, не вызвают в тканях локальных ожогов) может быть главной причиной часто наблюдаемого на практике эффекта подтяжки кожи.

Механический стресс

Если ткань во время нагревания подвергается механическому стрессу, то температура денатурации коллагена при прочих равных условиях может отчетливо меняться. Если при этом степень нагрева и длительность теплового воздействия демонстрируют качественно схожее воздействие на деградацию коллагена, то влияние механического стресса может проявиться в снижении процентного количества денатурированных коллагеновых волокон при одинаковой длительности нагрева (или в увеличении необходимой длительности нагрева для достижения той же степени денатурации).

Этот эффект может быть объяснен переориентированием коллагеновых волокон под воздействием механического стресса. Действительно, механический стресс может существенно изменить физические свойства ткани и вызвать искусственную анизотропию в направлении натяжения. Этот феномен может играть важную роль при практическом применении некоторых методов подтяжки кожи (например, при комбинации радиочастотного воздействия с вакуумом).

Содержание коллагена и ориентирование коллагеновых волокон

Чем выше содержание коллагена в ткани и чем упорядоченнее расположены фибриллы, тем более высокие температуры или более длительное время нагрева будут необходимы, чтобы добиться одной и той же степени модификации коллагена. Это может объяснить, почему результаты температурного воздействия (например, при применении радиочастотного тока) на различных участках тела могут отличаться. Участки с особенно правильно упорядоченными коллагеновыми волокнами в значительной степени анизотропны. Известным примером могут служить так называемые линии Лангера, которые определяют не только предпочтительное направление образования кожных складок или рубцов при повреждении кожи, но и поглощения тканью света [8]. При такой анизотропии выбранное направление прохождения электрического тока или распространения света (параллельно или перпендикулярно локальной ориентации коллагеновых волокон) может оказывать существенное влияние на результаты коррекции.

Возраст и значение pH ткани

Восстанавливаемые ковалентные альдегидные связи с возрастом заменяются на невосстанавливаемые мультивалентные связи. Последние значительно более стабильны и для своего разрушения требуют существенно более высоких температур. Это служит еще одной причиной того, что реакция старческой кожи на температурное воздействие заметно слабее, чем молодой.

Умеренное изменение значения pH ткани в щелочном направлении может привести к существенному повышению температуры денатурации коллагена. Поэтому все дополнительные методы воздействия, которые могут вызвать хотя бы временное снижение pH кожи, должны демонстрировать усиление эффекта от коррекции с применением обсуждаемых здесь методов.

Гидратация ткани

Уже давно известно, что дополнительная гидратация ткани приводит к усилению денатурации коллагена при одинаковых температурах нагрева [9]. Ведущие к этому изменения не до конца понятны, однако можно предположить, что свободные молекулы водорода образуют дополнительные связи с деформированными молекулами коллагена, за счет чего последние больше не в состоянии самопроизвольно восстанавливаться.

Снижение гидратации ткани с возрастом приводит к тому, что реакция старческой кожи на тепловое воздействие протекает значительно хуже, чем молодой. Соответственно дополнительные методы воздействия, ведущие к увеличению содержания воды в ткани перед ее нагревом, должны положительно сказываться на результатах коррекции.

Впрочем, гидратация ткани может и сама изменяться при повышении (в определенных пределах) температуры. Это связано, в частности, с тем, что при температурах выше 42° С в ткани происходит дополнительное производство эндогенной гиалуроновой кислоты [10], которое коррелирует с локальной выработкой

белков теплового шока. Добавочное связывание воды новопроизведенной гиалуроновой кислотой ведет к краткосрочному увеличению тургора кожи в районе коррекции, что может повлечь за собой отчетливое, но также относительно краткосрочное улучшение состояния кожи после ее подтяжки радиочастотными токами.

Все это показывает, что денатурация коллагеновых волокон зависит от очень многих параметров и в неодинаковых условиях может протекать совершенно по-разному. Если данный процесс взять за теоретическую основу тепловой трансформации соединительной ткани при применении аппаратных методов подтяжки кожи, то становится очевидно, что результаты лечения разных пациентов должны сильно различаться и, таким образом, будут практически непредсказуемы.

5 МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МЕХАНИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТЕРМИЧЕСКИ ПОВРЕЖДЕННОЙ ТКАНИ

В термически поврежденной ткани в результате денатурации коллагена обычно происходят следующие морфологические изменения:

– размножение и миграция фибробластов (фиброплазия);

– замена нативных бимодальных коллагеновых структур (состоящих из коллагеновых волокон малых и больших диаметров) преимущественно мелкими коллагеновыми волокнами.

Оба этих процесса характерны для заживления ран и образования рубцов, однако они возникают только при настоящем повреждении ткани. Эти же два процесса обеспечивают решающие различия между неинвазивным омоложением кожи и заживлением ран – процессами, которые часто сравнивают друг с другом. Поскольку при продолжительном нагревании ткани при температуре выше 60° С должна происходить не только денатурация коллагеновых волокон, но и массовая гибель клеток, после успешной процедуры радиочастотной коррекции в области обработки теоретически должны наблюдаться как некроз ткани, так и фиброплазия. Впрочем, это скорее исключение, чем правило.

Если бы эффект подтяжки кожи после коррекции радиочастотными токами можно было в основном объяснить денатурацией коллагеновых волокон, то денатурация коллагена должна была бы сочетаться с повышенной упругостью (сопротивлением деформации) кожи. Однако эксперименты показывают совершенно обратное: при подтвержденной денатурации коллагена кожа теряет свою упругость. Более того, известно, что потеря упругости соединительной ткани положительно коррелирует со степенью денатурации коллагеновых волокон (см. обсуждение в [6]). Недавно было также показано, что под влиянием нагрева кожа может по-разному вести себя при растяжении и сжатии: если при растяжении упругость кожи заметно понижается с повышением температуры, то при ее сжатии происходит совершенно обратное [11].

Все это означает, что настоящая термическая денатурация коллагена, хотя и может приводить к краткосрочному увеличению плотности ткани, одновременно должна вызывать ухудшение ее механических свойств, что в капсулорафии даже рассматривается как послеоперационный риск. Такого ухудшения механических свойств кожи после неинвазивного или минимально инвазивного лечения радиочастотным током на практике не наблюдается, что само по себе должно поставить под вопрос всю теорию денатурации коллагеновых волокон как основу тепловых методов подтяжки кожи. Но если существенное механическое ослабление кожи после применения тех или иных неинвазивных методов тепловой коррекции будет действительно установлено, они больше не смогут оцениваться как безопасные из-за возникающих в связи с этим рисков.

6 ВЫВОДЫ

Гипотеза о том, что схлопывание (денатурация) коллагеновых волокон является основной причиной подтяжки кожи при применении различных неинвазивных (прежде всего, связанных с радиочастотным воздействием) методов коррекции должна рассматриваться как крайне сомнительная.

Во-первых, необходимая для этого температура и длительность воздействия находятся далеко за пределами того, что фактически обеспечивают большинство приборов.

Во-вторых, настоящая денатурация коллагеновых волокон должна сопровождаться массовой гибелью клеток в области обработки, чего клинически почти никогда не наблюдается.

В-третьих, существенная зависимость степени денатурации коллагеновых волокон от самых разных параметров сделала бы результаты коррекции очень вариабельными и практически непредсказуемыми.

В-четвертых, массовое схлопывание коллагеновых структур привело бы к значительной потере локальной упругости кожи, которая наблюдалась бы сразу после проведения такой коррекции и привела бы к развитию некоторых побочных явлений.

Хотя феномен денатурации коллагеновых волокон после нагревания действительно существует и во многих исследованиях *in vitro* и *in vivo* был надлежащим образом подтвержден, вопрос о том, может ли он быть главной причиной получения клинических результатов, наблюдаемых после применения описанных методов коррекции, все еще остается предметом дискуссии. Даже в капсулорафии нет единого мнения о том, отвечает ли за укрепление сустава непосредственно денатурация коллагеновых волокон или это, скорее, заслуга последующей фиброплазии, заживления ран и образования рубцов [6]. В пользу второго варианта говорит то, что итоговые результаты можно увидеть лишь через несколько месяцев после лечения. Более того, в [12] было показано, что лечение ахиллова сухожилия радиочастотным током не вызывает денатурации коллагеновых волокон, тем не менее существенное укрепление пролеченного сухожилия было достигнуто через 8 недель после выполнения процедур.

В качестве главного механизма, лежащего в основе термических методов подтяжки кожи, происходящей непосредственно во время или вскоре после проведения процедуры, намного более реалистичным представляется не денатурация коллагеновых волокон, а активация местного синтеза гиалуроновой кислоты. Ее выработка ведет к накоплению воды и соответствующему увеличению тургора кожи в области коррекции – быстровозникающему эффекту, почти моментально улучшающему состояние кожи. Несмотря на то что такая быстрая выработка гиалуроновой кислоты относится к неспецифическим реакциям и в большей или меньшей степени должна была бы возникать при всех типах нагревания ткани, она в значительной мере зависит от конкретного типа распределения тепла в ткани, а также от потенциальной способности соединительной ткани к подобному синтезу, которая в стареющей коже, как правило, существенно снижается. Последнее может обусловливать известный возрастной предел эффективности при применении подобных методов коррекции.

Литература

1. *Kruglikov IL.Neocollagenesis in non-invasive aesthetictreatments. J Cosm Dermat Sci Appl, 2012;3(1A): 1–5.*
2. *Kruglikov IL.Kontroversen in der ästhetischen Medizin: 3. Neokollagenese – Die unendliche Geschichte. Kosmet Med, 2013;34:22–26.*
3. *Verzijl N, DeGroot J, Thorpe SR, et al. Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. J Biol Chem, 2000;245:39027–39031.*
4. *Leikina E, Mertts MV, Kuznetsova N. Type I collagen is thermally unstable at body temperature. PNAS, 2002;99:1314–1318.*
5. *Persikov AV, Brodsky B. Unstable molecules form stable tissues. PNAS, 2002;99:1101–1103.*
6. *Arnoczky SP, Aksan A. Thermal Modification of Connective Tissues: Basic Science Considerations and Clinical Implications. J Am Acad Orthop Surg, 2000;8:305–313.*
7. *Lin SJ, Lo W, Tan HY, et al. Prediction of heat-induced collagen shrinkage by use of second harmonic generation microscopy. J Biomed Opt, 2006;11:034020.*
8. *Nickel S, Hermann M, Essenpreis M, et al. Anisotropyoflightpropagationinhumanskin. Phys Med Biol, 2000;45:2873–2886.*
9. *Weir CE. Rate of shrinkage of tendon collagen – heat, entropy, and free energy of activation of the shrinkage of untreated tendon. Effect of acid, salt, pickle, and tannage on the activation of tendon collagen. J Am Leathe rChem Assoc, 1949;44:108–140.*
10. *Wegrowski Y. Effect of hyperthermia on the extracellular matrix. I. Heat enhances hyaluronan and inhibits sulphated glycosaminoglycan synthesis. FEBS Lett, 1993;334:121–124.*
11. *Xu F, Wen T, Seffen KA, Lu TV. Characterization of thermomechanical behaviour of skin tissue I: tensile and compressive behaviours. In: International Conference of Systems Biology and Bioengineering (ICSBB'07), 2–4.07.2007. – London, UK, 2007. P. 1446–1450.*
12. *Gomes JE, Kruel A, Müller LM. Mechanical changes induced by thermal stimulation in collagenous tissue. J Shoulder Elbow Surg, 2008;17(Suppl):S93–S95.*