周術期患者における角層水分量と経皮吸収性 ビスプロロール・テープ剤の安全性および有効性の検証

高井 靖^{*1}, 西村善幸²

三重ハートセンター薬局¹, 三重ハートセンター心臓血管外科²

Evaluation of Stratum Corneum Moisture Content and the Safety and Efficacy of Percutaneously Absorbable Bisoprolol Tape Preparation in Perioperative Patients

Yasushi Takai^{*1} and Yoshiyuki Nishimura²

Department of Pharmacy, Mie-Heart Center Hospital¹, Cardiovascular Surgery, Mie-Heart Center Hospital²

〔 Received December 26, 2016 〕
〔 Accepted March 3, 2016 〕

This study was conducted to investigate the safety (adverse events) and efficacy (drug absorption rate, blood concentration, blood pressure, and pulse rate) of a transdermal bisoprolol formulation in perioperative patients. There was a strong positive correlation between the apparent absorption rate and water content of the stratum corneum. The blood concentration correlated with the apparent absorption rate and water content of the stratum corneum. The systolic blood pressures at the start of patch attachment and after 24 hours were 136.0 ± 8.9 and 116.2 ± 17.0 mmHg, respectively, showing a significant decrease ($P < 0.05$). The diastolic blood pressures at the start of patch attachment and after 24 hours were 82.8 ± 12.9 and 69.4 ± 5.6 mmHg, respectively, showing a significant decrease ($P < 0.05$). The pulse rates at the start of patch attachment and after 6 hours were 93.0 ± 7.2 and 78.2 ± 6.7 bpm, respectively, showing a significant decrease ($P < 0.05$). The effect persisted until 24 hours after patch attachment. There were no adverse events. In this study, the bisoprolol patch influenced the pulse rate earlier than the blood pressure; therefore, the dose must be regulated while monitoring the pulse rate.

Key words — bisoprolol patch, drug absorption rate, blood concentration, water content of the stratum corneum, pulse rate

緒 言

周術期の心血管イベント予防を目的としたβ遮断薬導入の是非について検討した臨床試験では、β遮断薬の種類、投与開始時期や投与量等が統一されておらず、一定の見解が得られていない^{1,2)}ものの、医療現場では虚血性心疾患合併症や心房細動発症のリスク軽減を期待して冠動脈疾患の高リスク患者ではβ遮断薬が投与されている。³⁾しかし周術期においては経口投与ができないケースや点滴ラインを確保することが難しいケースもあり、第三の経路として経皮吸収型製剤が望まれた。2013年9月、世界初のβ₁遮断薬テープ剤であ

るビスプロロール・テープ剤が上市された。経皮吸収型製剤ということで経口製剤とは異なる薬物動態を示し（ビソノ[®]テープ承認時申請資料：経口製剤との薬物動態試験成績，トーアエイヨー株式会社，2013年8月作成），周術期においてビスプロロール・テープ剤の少数例での検討はある^{4,5)}が、今後周術期への導入データの蓄積に期待がもたれる。その一方で、テープ剤は貼付部位の乾燥皮膚が薬剤の吸収に影響することが報告されており、薬効発現のばらつきが懸念される。^{6,7)}今回、我々は心臓血管外科の術後にビスプロロール・テープ剤を導入した症例について、安全性と有効性について皮膚状態と併せて検証を行った。

*〒515-0302 三重県多気郡明和町大字大淀2227-1

方 法

1. 対象患者

対象患者は、試験責任医師が適格と判断し、本研究について十分な説明を行い、本人の自由意思に基づき、文書で同意を得た心臓血管外科で、弁膜症（僧帽弁閉鎖不全症や大動脈弁狭窄症等）や

腹部大動脈瘤で手術施行予定の患者、連続5名（男性3名、60%）である。平均年齢は 70.4 ± 9.5 歳であった。コントロール群として、研究を行う1カ月前に手術を受けた連続5名（男性2名、40%）の患者のデータを用いた。平均年齢は 69.8 ± 12.4 歳であった。患者背景を表1に示す。

表1 患者背景

対象患者群

年齢	性別	術名	病名	合併症	術後併用薬
A 82	男性	腹部大動脈瘤 人工血管置換術	腹部大動脈瘤	高血圧症、 陳旧性心筋梗塞	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後12時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液、ジノプロスト注射液
B 74	男性	腫瘍切除 +パッチ閉鎖	左心房粘液腫	高血圧症、 心房細動、 胆嚢炎	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後12時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液
C 56	女性	僧帽弁置換術 +三尖弁形成術	僧帽弁狭窄症 三尖弁閉鎖不全症	心房細動、心不全、 脂質異常症	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後12時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液
D 72	男性	腹部大動脈瘤 人工血管置換術	腹部大動脈瘤	高血圧症、 心房細動、心不全、 両側総腸骨動脈瘤	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後12時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液、ジノプロスト注射液
E 68	女性	大動脈弁置換術	大動脈弁閉鎖不全症	脂質異常症、 狭心症、心不全、 慢性腎不全、 2型糖尿病	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後12時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液、ヒトインスリン（遺伝子組換え）

コントロール群

年齢	性別	術名	病名	合併症	術後併用薬
F 52	女性	僧帽弁置換術	僧帽弁閉鎖不全症	心不全、 心房細動	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後24時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液
G 85	女性	大動脈弁置換術	大動脈弁狭窄症	狭心症、 高血圧症、 脂質異常症	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後24時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液
H 64	女性	僧帽弁置換術	僧帽弁閉鎖不全症	高血圧症、 心房細動	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後24時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液
I 73	男性	大動脈弁置換術	大動脈弁狭窄症	狭心症、 心房細動、 心不全	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後24時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液
J 75	男性	腹部大動脈瘤 人工血管置換術	腹部大動脈瘤	高血圧症、 陳旧性心筋梗塞、 両側総腸骨動脈瘤	ニカルジピン塩酸塩注射液（術後24時間）、酢酸リンゲル液、維持液、ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩注射液、パンテチン注射液、セファゾリンナトリウム注射液、生理食塩液、ジノプロスト注射液

2. 試験製剤

現在臨床現場での汎用規格であるビソプロロール・テープ剤 4 mg（商品名：ビソノ[®]テープ 4 mg, トーアエイヨー(株), 福島）を用いた。

3. 研究デザイン

本研究は、図 1 に示した研究デザインに則り、実施した。手術終了時に下記の様々な項目を測定し、測定部位にビソプロロール・テープ剤 4 mg を胸部または腹部に貼付し、24 時間毎に同じ部位（点線範囲）に貼り替えた。貼付開始 24 時間後の製剤は剥離後ただちに、製剤回収用シートに接着させ、アルミ袋に入れて密封後、測定時まで冷蔵保存した。投与開始 3 日目の製剤剥離後（トラフ値）に採血し、ただちに遠心分離を行い、上清をセラムチューブに分取し -20℃ 以下で保存した。

なお、術中は血圧コントロールの目的でニカルジピン塩酸塩注射液（ニカルジピン注）を用い、術後 12 時間まで持続投与した。術後は、食事が開始されるまでは本注射液とビソプロロール・テープ剤 4 mg 投与のみとした。またコントロール群を、2016 年 1 月に心臓外科において手術を

実施した連続患者 5 名（ニカルジピン注を術中および、術後 24 時間持続投与、その後経過観察）とした。

4. 臨床観察および検査項目

試験スケジュール（図 1）に従い、医師の診察、生理学的検査、臨床検査を実施した。また、試験期間中に発現した自覚症状および他覚所見（血圧、脈拍数、その他）については、医師および薬剤師が確認した。

5. 貼付部位の角層水分量の測定

Mobile Moisture HP 10-N（Courage + Khazaka Electronic GmbH, Cologne, Germany）を用い測定した。Mobile Moisture HP 10-N は「静電容量法」を用いた携帯型研究用皮膚水分計である。そのプローブの先端は櫛形電極が向かい合った形状をしており、ガラス版を介して電解を皮膚に発生させ静電容量を計測する。静電容量法とは水の誘電定数（81）がほかの物質の誘電定数（＜7）に比べて著しく高いことを利用して、主に角層の水分量に応じて異なる静電容量（キャパシタンス）によ

図 1 研究デザインと試験スケジュール

心臓血管手術後に貼付を行い、24 時間後にテープを剥離回収する。72 時間後に採血を行う。

り角層水分量を間接的に算出するもので、角層の水分量が多い程静電容量は大きくなる。これを相対値で数値化したものを任意単位 (arbitrary unit: au) で示した。

6. 製剤中薬物残存量の測定

試験製剤は冷蔵状態で、トーアエイヨー(株)研究開発部 製剤技術研究所へ輸送し、測定を委託した。回収製剤からビソプロロールを抽出し、液体クロマトグラフィー (LC) により残存量を求めた。

見かけの吸収量および吸収率については以下の方法にて算出した。

見かけの吸収量 (mg)

= (試験製剤 4 mg) - (回収製剤から抽出したビソプロロール残存量)

吸収率 (%)

= (見かけの吸収量) / (試験製剤 4 mg) × 100

7. 血中濃度測定

血中ビソプロロール濃度の測定はトーアエイヨー(株)を通じ、セラムチューブに入れた血液上清検体を外部委託機関へ-20℃以下で輸送し、

LC-MS/MS 法で測定した。

8. 統計解析

統計解析は、対応のある *t* 検定を用いて実施し、危険率 5% 未満 ($P < 0.05$) を有意差ありとした。

9. 各基準の遵守

本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守して実施し、医療法人三重ハートセンターの倫理委員会にて承認 (承認番号 2014-16-067) を得て実施した。

結 果

1. 見かけの吸収率、角層水分量と血中濃度

見かけの吸収率、角層水分量と血中濃度の結果を表 2 に示す。製剤の貼付部位の角層水分量は概ね 60~70 (au) であり、見かけの吸収率は 70% 以上であった。見かけの吸収率と角層水分量は、強い正の相関関係にあった (図 2)。血中濃度と見かけの吸収率および角層水分量は正の相関関係という結果であった (図 2)。

表 2 見かけの吸収率、角層水分量と血中濃度

症例	貼付製剤 (mg)	貼付部位	角層水分量の測定時室温 (℃)	貼付部位角層水分量 (au)	ビソプロロール残存量 (mg)	見かけの吸収量 (mg)* ¹	見かけの吸収率 (%) ^{*2}	血中濃度 (ng/mL)	生化学検査値
測定のタイミング			術直後	術直後	24 時間後	24 時間後	24 時間後	3 日後	3 日後
A	4	胸部	26	79	0.48	3.52	88.0	15.9	AST (31 IU/L), ALT (21 IU/L), Cr (0.83 mg/dL), Na (138 mEq/L), K (3.8 mEq/L)
B	4	腹部	26	62	1.14	2.86	71.5	14.8	AST (30 IU/L), ALT (14 IU/L), Cr (0.75 mg/dL), Na (139 mEq/L), K (4.5 mEq/L)
C	4	腹部	26	74	0.76	3.24	81.0	16.3	AST (28 IU/L), ALT (26 IU/L), Cr (0.69 mg/dL), Na (142 mEq/L), K (3.9 mEq/L)
D	4	胸部	26	72	0.66	3.34	83.5	14.3	AST (18 IU/L), ALT (11 IU/L), Cr (0.85 mg/dL), Na (142 mEq/L), K (4.0 mEq/L)
E	4	腹部	26	68	0.97	3.03	75.8	12.9	AST (17 IU/L), ALT (15 IU/L), Cr (0.73 mg/dL), Na (139 mEq/L), K (4.4 mEq/L)

* 1: 見かけの吸収量 (mg) = (試験製剤 4 mg) - (回収製剤から抽出したビソプロロール残存量)

* 2: 見かけの吸収率 (%) = (見かけの吸収量) / (試験製剤 4 mg) × 100. au: arbitrary unit, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, Cr: creatinine, Na: natrium, K: kalium

図2 見かけの吸収率，角層水分量，血中濃度のそれぞれの関係

A：見かけの吸収率と角層水分量の関係，B：見かけの吸収率と血中濃度の関係，C：角層水分量と血中濃度の関係。au: arbitrary unit

図3 血圧の推移

◆ (実線): ビソプロロール・テープ剤貼付時の収縮期血圧，▲ (実線): ビソプロロール・テープ剤貼付時の拡張期血圧，◇ (点線): コントロールの収縮期血圧，△ (点線): コントロールの拡張期血圧。横軸は投与開始からの時間を示している。平均 ± 標準偏差を示す。* $P < 0.05$ 開始時 vs 各時間。対応のある t 検定

図4 脈拍の推移

● (実線): ビソプロロール・テープ剤貼付時の脈拍数，○ (点線): コントロールの脈拍数。横軸は投与開始からの時間を示している。平均 ± 標準偏差を示す。* $P < 0.05$ 開始時 vs 各時間。対応のある t 検定

2. 血圧 (収縮期血圧 / 拡張期血圧) と脈拍数

血圧の推移を図3に示す。コントロール群においては、有意な低下はみられなかったが、ビソプロロール・テープ剤の投与開始時、収縮期血圧は 136.0 ± 8.9 mmHg、6時間後には 120.0 ± 11.8 mmHg と低下傾向がみられ、24時間後には 116.2 ± 17.0 mmHg、拡張期血圧は投与開始時 82.8 ± 12.9 mmHg から6時間後には 70.8 ± 13.2 mmHg と低下傾向がみら

れ、24時間後には 69.4 ± 5.6 mmHg と有意な低下 ($P < 0.05$) が認められた。

脈拍数の推移を図4に示す。コントロール群においては、有意な変化はみられなかったが、ビソプロロール・テープ剤の投与開始時脈拍数は 93.0 ± 7.2 bpm、貼付後6時間後には 78.2 ± 6.7 bpm と有意な低下 ($P < 0.05$) がみられ、24時間後もその効果は持続していた。

3. 安全性

術後 72 時間の生化学検査結果を表 2 に示す。特にビソプロロール・テープ剤の中止に至る結果は認められなかった。その他、生理学的検査にも異常は認められなかった。今回の投与期間において、ビソプロロール・テープ剤の有害事象は認められなかった。

考 察

本研究は、周術期患者へのビソプロロール・テープ剤投与について、安全性面（有害事象）および有効性面（薬物吸収率、血中濃度、血圧、脈拍数）より検証することを目的に実施した。

本研究において、製剤の貼付部位の角層水分量は概ね 60~70 (au) であった。角層水分量は、体の部位によって異なり、腹部で 50~60 (au)、胸部で 60~70 (au) と報告されている。⁷⁾ 今回の結果では、この平均値より高めであった。この理由として、術後で点滴による水分補給が行われており、通常より体内に多くの水分が貯留している状態であったことが考えられた。

一般に、乾燥皮膚の状態では、テープ剤は吸収が低下して臨床効果も得にくいとされる。^{6,7)} 今回の結果では、すべて 70% 以上の吸収率であった。いずれの患者も術後の経過に問題はなく、薬物動態に影響する循環血流量に個人差はなかったと考えられ、角層水分量がほかより低めである症例 B は、吸収率もほかより低めであり、図 2 で示す通り、角層水分量が製剤の吸収率と関係していると推察された。

ビソプロロール・テープ剤の血中濃度は投与 4 日以降に定常状態に達するといわれているが、今回は食事開始時期に合わせ、3 日目の採血とした。血中濃度においても角層水分量と弱い正の相関関係が認められた。今回の対象者 5 名は 60~70 代であり、血中濃度は 13~16 ng/mL であった。健康高齢者（65 歳以上）にビソプロロール・テープ剤 8 mg を 14 日間反復投与した 14 日目の C_{max} は 27.1 ± 10.80 ng/mL（ビソノ[®] テープ承認時申請資料：薬物動態試験成績 反復投与，トーアエイヨー株式会社，2013 年 6 月作成）であり、本研

究で用いた 4 mg は 8 mg の半量ということを考慮するとほぼ同様であったと言える。以上のことから、角層水分量は吸収率、血中濃度を規定する 1 つの因子であることが今回の結果からも推察された。^{8,9)}

周術期の至適血圧に関する明確な指標は少なく、確立されていないのが現状である。今回、術中から術後 24 時間にかけてニカルジピン注が投与されているコントロール群では、術後の急激な血圧上昇はみられず、24~72 時間にかけて血圧の変化はみられなかった。ビソプロロール・テープ剤では術後 12 時間までニカルジピン注が併用されているが、投与開始 6 時間後では術後の併用による過度の血圧低下は認められなかった。以上のことから、ニカルジピン注の影響はなかったものと推察される。投与開始 24 時間後からは有意な低下 ($P < 0.05$) が認められ、その後、収縮期血圧は 110~120 mmHg を維持していた。これは、ビソプロロール・テープ剤は最高血中濃度に達するのに約 11 時間と経口薬に比して立ち上がりが遅く、半減期が約 18 時間と緩やかである（ビソノ[®] テープ承認時申請資料：経口製剤との薬物動態試験成績，トーアエイヨー株式会社，2013 年 8 月作成）特徴を示したものである。

安静時の脈拍数について、周術期には 60~65 bpm を目標とされる¹⁰⁾。今回の結果では、コントロール群で有意な脈拍数の変化はみられなかったが、ビソプロロール・テープ剤の投与開始時の平均脈拍数（93 bpm）は、投与開始 6 時間後には有意に低下し（60~70 bpm； $P < 0.05$ ），目標脈拍数に達し、その後も維持していた。

今回の検討では、術直後 3 日およびその後の経過観察において、心血管イベントはみられず、当薬剤を中止する検査値の所見もなかった。また術後の注射薬との相乗効果とみられる過度の血圧低下や臨床所見も認められなかった。β 遮断薬にみられる立ちくらみ、めまいやふらつきなどの自覚症状は認められなかったが、ビソプロロール・テープ剤は血圧に比べて脈拍への影響が早期に出現しやすい結果であったことから、安全性面と有効性面を考慮し、脈拍を中心とするバイタルサインの確認とフィジカルアセスメントを行いなが

ら、脈拍数が 60 bpm 以下に低下した場合は減量（用量を調節するために半分に切る）するなど対応が求められると考えられた。

周術期の β 遮断薬導入について、American College of Cardiology / American Heart Association (ACC/AHA) 非心臓手術のための周術期心血管評価ガイドライン（2009 年改訂版）³⁾ では低リスク患者においての投与はすべきでないが、中等度以上の心血管危険度がある場合には有用とされている。¹¹⁾ 今回の対象患者は中等度以上の危険度であり、 β 遮断薬投与は推奨される。

今回の試験製剤ビスプロロール・テープ剤は効能・効果が本態性高血圧症（軽症～中等症）であることから、周術期への β 遮断薬導入論文を参考^{1, 2, 3)} に慎重にモニタを監視しながら投与した。窪田ら⁵⁾ は、人工心肺手術症例（65 例）を対象にビスプロロール・テープ剤 4 mg 使用群（41 例）と非使用群（24 例）で術後の血圧、脈拍数および心房細動の発症について比較検討している。ビスプロロール・テープ剤の貼付時の平均血圧は 128.9 mmHg、脈拍数は 91.7 bpm であり、翌日の平均血圧は 110.7 mmHg、脈拍数は 81.7 bpm であった。また術後心房細動発症数はビスプロロール・テープ剤使用群で有意に少なかった（ $P < 0.0489$ ）と報告している。

以上のことから、今回の検討は 5 例と少ないものの、ビスプロロール・テープ剤は周術期において血圧および脈拍数を低下させ、その後の継続投与により虚血性心疾患合併症や心房細動発症を予防できる可能性が示唆された。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) Bouri S, Shun-Shin MJ, Cole GD, Mayet J, Francis DP, Meta-analysis of secure andomised controlled trials of β -blockade to prevent perioperative death in non-cardiac surgery, *Heart*, 2014, **100**, 456-464.
- 2) London MJ, Hur K, Schwartz GG, Henderson WG,

Association of perioperative β -blockade with mortality and cardiovascular morbidity following major noncardiac surgery, *JAMA*, 2013, **309**, 1704-1713.

- 3) Fleisher LA, Beckman JA, Brown KA, Calkins H, Chaikof E, Fleischmann KE, Freeman WK, Froehlich JB, Kasper EK, Kersten JR, Riegel B, Robb JF, Smith SC Jr, Jacobs AK, Adams CD, Anderson JL, Antman EM, Buller CE, Creager MA, Ettinger SM, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Lytle BW, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Tarkington LG, Yancy CW, American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines on Perioperative Cardiovascular Evaluation for Noncardiac Surgery), American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Rhythm Society, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society for Vascular Surgery, ACC/AHA 2007 guidelines on perioperative cardiovascular evaluation and care for noncardiac surgery, a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines on Perioperative Cardiovascular Evaluation for Noncardiac Surgery), developed in collaboration with the American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Rhythm Society, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, and Society for Vascular Surgery, *Circulation*, 2007, **116**, e418-e499.
- 4) Hara T, Yagi S, Akaike M, Sata M, Transdermal patch of bisoprolol for the treatment of hypertension complicated with aortic dissection, *Int J Cardiol*, 2015, **198**, 220-221.
- 5) 窪田武浩, 松井善郎, 心臓血管外科手術後のビスノ®テープの使用経験, *心臓*, 2017, **49**, 25-29.
- 6) 石永隆成, 小松親義, 田野入高史, 徳久靖高, 立石修, 岡村哲生, 硝酸イソソルビドテープ剤の皮膚吸収に関する検討 血中濃度と貼付部位, 皮膚状態等との関係, *総合臨床*, 1987, **36**, 543-547.
- 7) 平本恵一, 井上直子, “そこが知りたい! 貼付剤－皮膚特性に応じた適正使用－”, 大井一弥編, 講談社, 東京, 2014, pp50-62.

- 8) Ooi K, Sasaki H, Yoshizawa N, Sugawa T, Kimura S, Ueda H, Numajiri S, Kojima S, Katayama T, Mizutani Y, Morimoto Y, Influence of Skin Hydration on Anesthetic Effect of Lidocaine Tape in Hemodialysis Patients, *Jpn J Pharm Health Care Sci*, 2008, **34**, 1011-1016.
- 9) Björklund S, Engblom J, Thuresson K, Sparr E, Glycerol and urea can be used to increase skin permeability in reduced hydration conditions, *Eur J Pharm Sci*, 2013, **50**, 638-645.
- 10) Fleischmann KE, Beckman JA, Buller CE, Calkins H, Fleisher LA, Freeman WK, Froehlich JB, Kasper EK, Kersten JR, Robb JF, Valentine RJ, American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Rhythm Society, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine, Society for Vascular Surgery, 2009 ACCF/AHA focused update on perioperative beta blockade, *J Am Coll Cardiol*, 2009, **54**, 2102-2128.
- 11) Lindenauer PK, Pekow P, Wang K, Mamidi DK, Gutierrez B, Benjamin EM, Perioperative beta-blocker therapy and mortality after major noncardiac surgery, *N Engl J Med*, 2005, **353**, 349-361.