

L'INTEGRATORE NUTRIZIONALE

*Chitosano liberalizzato
Carenze negli anziani
Nutraceutici e Marketing*

3/2000

Comitato Scientifico

Bruno Berra

Professore Ordinario - Chimica Biologica - Facoltà di Medicina - Università di Milano

Pierluigi Biagi

Professore Associato - Scienza dell'Alimentazione - Facoltà di Medicina - Università di Bologna

Ezio Bombardelli

Presidente - Comitato Scientifico Indena - Milano

Michele O. Carruba

Presidente - Associazione Nazionale Specialisti in Scienze dell'Alimentazione Farmacologia
Facoltà di Medicina - Università di Milano

Enzo Chiesara

Cattedra di Tossicologia - Facoltà di Medicina - Università di Milano

Fabrizia Costa

Direttore Scientifico - S.I.I.T. - Trezzano sul Naviglio (MI)

Massimo De Vincenzi

Direttore - Dipartimento Alimenti e Nutrizione - Istituto Superiore di Sanità - Roma

Anna Ferro Luzzi

Direttore - Unità Nutrizione Umana - Istituto Nazionale Nutrizione - Roma

Marcello Giovannini

Presidente - Società Italiana di Nutrizione Pediatrica
Direttore - Clinica Pediatrica Ospedale San Paolo - Facoltà di Medicina - Università di Milano

Maria Rosaria Lombardi

Dipartimento Alimenti Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria - Ministero della Sanità - Roma

Fausto Mearelli

Direttore Scientifico - Planta Medica - Pistrino (Perugia)

Renato Minasi

Direttore - Dialfarm - Aprilia

Paolo Morazzoni

Direttore Scientifico - Indena - Milano

Barbara Pacchetti

Direttore Scientifico - Sochim International - Milano

Piergiorgio Pietta

Dirigente Ricerca CNR - Milano

Loretta Signoretto

Sezione Ricerca Specchiasol - Bussolengo (Verona)

Cesare Sirtori

Professore Ordinario Farmacologia Clinica - Direttore Centro E Grossi Paoletti
Facoltà di Medicina - Università di Milano

Andrea Strata

Nutrizione Clinica - Facoltà di Medicina - Università di Parma

Vittorio Vigi

Direttore - Unità Terapia Intensiva Neonatale e Neonatologia - Facoltà di Medicina - Università di Ferrara

CHITOSANO

Tollerabilità nell'uomo

Manuela Visentin, Giovanni Ferraris

Divisione Scientifica - Roeder 1956 Farmaceutici - Torino

Mario Eandi, Carlo Della Pepa

Farmacologia Clinica - Dipartimento di Anatomia-Farmacologia-Medicina Legale - Università di Torino

Parole chiave Chitosano Sicurezza Tollerabilità Vitamine (liposolubili) Colesterolo

INTRODUZIONE

Le fibre costituiscono nutrienti importanti in grado di agevolare la perdita di peso, mediante l'induzione di un significativo effetto saziante e la riduzione dell'assorbimento intestinale dei grassi e degli zuccheri alimentari (1-6).

In particolare i chitosani rappresentano una famiglia di fibre innovative utilizzate in ambito farmaceutico, alimentare ed ambientale (7-14).

Il *chitosano* deriva per deacetilazione dalla *chitina* (poli-N-acetil-glucosamina), il polimero che si ritrova abbondante negli invertebrati marini ed in altre forme di vita terrestre (esoscheletro degli insetti, funghi, ecc.) (15).

La chitina si ottiene industrialmente dalla lavorazione dei crostacei, estraendola dal loro guscio mediante rimozione delle proteine e del calcio e per successiva deacetilazione si ottiene il chitosano. Le difficoltà relative al processo di deacetilazione non consentono l'ottenimento di un chitosano deacetilato al 100%, bensì la realizzazione di chitosani

con un grado di deacetilazione compreso tra 75-90%.

La deacetilazione minima, affinché il chitosano conservi il comportamento di fibra solubile cationica, è pari al 75% (16).

Il chitosano, nello stomaco, acquisisce numerose cariche positive che gli conferiscono la capacità di sequestrare molecole di carica negativa, come gli acidi grassi alimentari o i derivati dell'idrolisi dei trigliceridi (17-23).

Il chitosano, dunque, somministrato prima dei pasti, riduce l'assorbimento dei lipidi alimentari, diminuendo l'apporto calorico dei pasti. In soggetti sottoposti a regime dietetico controllato, l'assunzione della fibra ha inciso favorevolmente sulla graduale riduzione del sovrappeso e dei vari parametri ad esso correlati (6, 24-28).

La fibra di origine marina è in grado di legare una certa quantità di acidi biliari e con essi il colesterolo (29).

Il sequestro di acidi biliari potrebbe indurre, a livello epatico, un maggior consumo del colesterolo circolante, ma in realtà l'azione ipocolesterolemizzante del

chitosano può dipendere da altre ragioni, tra cui la riduzione dell'assorbimento del colesterolo esogeno (1-5, 30-35).

La fibra svolge un'azione nutritiva nei confronti del colonocita producendo propionato e butirrato, e contribuisce al ripristino della flora microbica intestinale (36).

L'azione sequestrante del chitosano si esplica anche su metalli pesanti, coloranti, additivi alimentari ed anche nei confronti dei microrganismi patogeni, il cui potenziale tossico cumulativo non è trascurabile (37-41).

Tuttavia, studi condotti esclusivamente su animali, con dosaggi di chitosano decisamente superiori a quelli consentiti nell'integrazione dietetica, hanno evidenziato una minore disponibilità di nutrienti, in particolare di vitamine liposolubili e di alcuni minerali (42).

Sulla base di queste premesse è stato condotto uno studio clinico finalizzato ad appurare la sicurezza e la tollerabilità gastrointestinale e sistemica del chitosano nell'uomo, ai dosaggi comunemente impiegati negli integratori dietetici. Lo scopo del lavoro è stato quello

di evidenziare eventuali variazioni dell'assetto lipidico (colesterolo totale, HDL, LDL, trigliceridi), interferenze con l'assorbimento delle vitamine liposolubili, dei minerali e degli ormoni steroidei a circolo enteroepatico. Con l'utilizzo di scale analogiche visive si è cercato inoltre di valutare una serie di parametri relativi alla 'qualità della vita' del soggetto trattato con l'integratore dietetico.

MATERIALI E METODI

Disegno sperimentale

E' stata condotta una ricerca clinica ambulatoriale, in doppio cieco, controllata intra-soggetti e tra gruppi paralleli randomizzati trattati con chitosano in confronto con una formulazione dell'integratore dietetico priva di chitosano.

Soggetti

Sono stati reclutati complessivamente 99 volontari (70% donne e 30% uomini) suddivisi in due gruppi randomizzati *versus* placebo con rapporto 2:1. Il gruppo trattato con l'integratore a base di chitosano era costituito da 66 soggetti, mentre il gruppo di controllo trattato con placebo comprendeva 33 soggetti. La randomizzazione è stata bilanciata per sesso.

Criteri di inclusione ed esclusione

Sono stati reclutati soggetti in sovrappeso compresi tra i 18 e i 75 anni di età, con *Body Mass Index* (BMI) tra 25 e 30, stile di vita prevalentemente sedentario, con assenza di patologie acute o croniche, non in trattamento con terapie farmacologiche da almeno 7 giorni e disposti ad accettare un regime alimentare bilanciato con normale apporto lipidico. Sono stati inclusi anche soggetti

Tabella 1 Composizione delle compresse Kalo®

Componenti	mg
Fibra solubile: Chitosano, Guar	750
<i>Proteina concentrata di fagiolo</i>	100
<i>Vitamina C</i>	22.5
<i>Vitamina B3</i>	6.75
<i>Cromo orotato</i>	0.330 (pari a 26.4 µg di cromo)

affetti da dislipidemie che non erano in trattamento farmacologico. L'accettazione è avvenuta, come indicato dalle *Good Clinical Practices* (GCP), mediante sottoscrizione del consenso informato.

I criteri di esclusione comprendevano: gravidanza accertata, presenza di patologie acute gastrointestinali e di patologie croniche flogistiche gastrointestinali (gastrite, colite, morbo di Crohn, IRB), ulcera peptica gastroduodenale, presenza di patologie infettive e parassitarie gastrointestinali, tumori ed altre patologie.

L'assunzione di bevande alcoliche in elevata quantità (> 80g/die) durante i pasti e fuori pasto è stata considerata un criterio di esclusione.

Prodotti sperimentali

Il prodotto in studio (Kalo®, Roeder, Torino), in forma di compressa, conteneva 500 mg di chitosano, nonché fibra di guar, faseolamina, cromo orotato, vitamina B3 e vitamina C (**Tab 1**). Il prodotto di controllo (placebo) conteneva tutte le sostanze sopra elencate, ad eccezione del chitosano, sostituito con 500 mg di eccipienti.

Gli eccipienti, in entrambi i prodotti, erano: cellulosa microcristallina, magnesio stearato e silice colloidale.

Il placebo presentava dimensioni, forma e colore del tutto sovrapponibili al prodotto con chitosano.

Posologia e durata del trattamento

Entrambi i prodotti sono stati somministrati alla posologia di 2 compresse mezz'ora prima dei pasti principali (pranzo e cena) con un apporto giornaliero di chitosano pari a 2g. La durata del trattamento è stata di 8 settimane.

Procedure e criteri di valutazione

All'inizio dello studio, dopo 4 settimane ed al termine del trattamento sono stati effettuati prelievi ematici ed urinari per la determinazione dei parametri ematochimici ed urinari. La verifica della *compliance* è stata attuata mediante registrazione del numero di compresse restituite al controllo intermedio ed al termine dello studio.

Sono stati valutati i seguenti parametri:

- emoglobina, ematocrito, globuli rossi, globuli bianchi, formula leucocitaria, piastrine, azotemia, creatinemia, glicemia, transaminasi, bilirubinemia totale e frazionata, gamma-GT, fosfatasi alcalina, elettroforesi delle proteine seriche, VES, sodiemia, potassiemia, calcemia;
- esame completo delle urine.

Sono stati eseguiti elettrocardiogrammi all'inizio, dopo 4 settimane ed al termine del trattamento.

La tollerabilità gastrointestinale è stata valutata tenendo in conto gli eventi avversi registrati dai pazienti o rilevati all'atto delle visite di controllo previste.

L'assetto lipidico è stato monitorato considerando le concentrazioni plasmatiche di colesterolo totale, HDL, LDL e trigliceridi.

L'utilità soggettiva è stata valutata mediante scale analogiche visive in cui il soggetto è stato invitato ad esprimere il proprio giudizio, indicando una posizione compresa

tra 0 (pessima) e 10 (ottimale), sui seguenti parametri: disagio nei confronti del proprio corpo, astenia, affaticamento a fare una rampa di scale, appetito prima dei pasti, sazietà dopo i pasti, sensazione diffusa di benessere-maleessere.

Analisi statistica

Tutti i dati relativi a ciascun soggetto sono stati tabulati mediante software Excel 97 per Windows 95. Per l'analisi statistica è stato utilizzato il software Minitab per Windows 95 release 12.2.

È stata effettuata l'analisi statistica descrittiva per gruppi di dati omogenei. Sono state calcolate le misure di posizione (media, errore standard della media, valori minimo e massimo, limiti di confidenza 95%) stratificate per prodotto somministrato e sesso dei pazienti.

Il confronto tra gruppi di dati finali e basali entro uno stesso gruppo di trattamento è stato attuato con metodi parametrici per dati appaiati (*paired t test*).

Il confronto tra i valori medi misurati ad ogni visita tra i gruppi di soggetti in trattamento è stato fatto mediante il *test ANOVA*.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Tra i due gruppi non sussistevano differenze statisticamente significative all'inizio dello studio, così come non sono emerse modifiche di rilievo durante il trattamento ed al termine dello studio (**Tab 2**).

Il prodotto a base di chitosano ed il placebo sono stati ben tollerati durante le 8 settimane di trattamento: infatti non sono stati rilevati segni di tossicità ematica, epatica, tiroidea e renale, sia nel gruppo trattato che nel controllo (**Tab 3**).

Per quanto riguarda le vitamine liposolubili, le concentrazioni ematiche di vitamina D non hanno subito modifiche durante le 8

Tabella 2 Valori (Media \pm DS) relativi all'età, peso, altezza e BMI dei due gruppi di soggetti all'inizio dello studio

Parametri	Trattati	Controlli	P
Età (anni)	44.4 \pm 12.8	46.2 \pm 13.4	0.47
Peso (kg)	77.7 \pm 14.3	74.8 \pm 13.7	0.33
Altezza (cm)	163.3 \pm 10.1	161.35 \pm 8.86	0.45
Body Mass Index	29.08 \pm 4.68	28.65 \pm 4.43	0.66

P: Non Significativo (NS)

Tabella 3 Parametri ematochimici (Media \pm DS) prima e dopo il trattamento di 8 settimane

Parametri	INIZIO		FINE	
	Trattati	Controlli	Trattati	Controlli
Globuli Rossi (10^{12} cell/L)	4.393 \pm 0.562	4.593 \pm 0.501	4.397 \pm 0.496	4.444 \pm 0.511
Globuli Bianchi (10^9 cell/L)	6.596 \pm 1.412	6.889 \pm 2.225	6.543 \pm 1.720	6.111 \pm 1.875
Emoglobina (g/L)	135.32 \pm 16.32	137.30 \pm 13.04	134.40 \pm 13.48	132.17 \pm 12.67
Ematocrito (%)	0.696 \pm 0.212	0.670 \pm 0.10	0.609 \pm 0.5	0.675 \pm 0.200
Piastrine (10^9 cell/L)	219.49 \pm 53.33	236.7 \pm 66.4	231.51 \pm 57.56	241.5 \pm 63.3
VES (mm)	16.00 \pm 9.68	14.92 \pm 10.42	16.31 \pm 10.19	14.83 \pm 10.35
Glicemia (mg/dL)	85.54 \pm 23.28	81.41 \pm 8.39	82.70 \pm 14.00	81.56 \pm 12.23
Bilirubina totale (mg/dL)	1.018 \pm 0.133	1.000 \pm 0.000	0.651 \pm 0.482	0.500 \pm 0.514
Bilirubina diretta (mg/dL)	0.250 \pm 0.437	0.593 \pm 0.501	0.333 \pm 0.478	0.167 \pm 0.383
AST (U/L)	27.19 \pm 17.36	24.67 \pm 5.99	28.05 \pm 26.78	22.28 \pm 5.76
ALT (U/L)	38.37 \pm 40.09	31.26 \pm 11.35	41.0 \pm 73.6	32.89 \pm 9.95
GGT (U/L)	33.25 \pm 18.19	32.70 \pm 13.99	27.33 \pm 15.60	24.39 \pm 12.83
Fosfatasi alcalina (U/L)	64.37 \pm 14.62	68.22 \pm 15.08	61.70 \pm 13.95	64.67 \pm 14.32
Azoto ureico (mg/dL)	12.070 \pm 3.831	12.889 \pm 3.274	12.860 \pm 3.821	14.111 \pm 3.708
Creatinina (mg/dL)	0.992 \pm 0.0417	1.002 \pm 0.0077	1.000 \pm 0.0000	1.000 \pm 0.000
PT (%)	95.67 \pm 9.96	94.81 \pm 11.76	98.62 \pm 3.215	97.89 \pm 4.157
Vitamina D (ng/mL)	29.2 \pm 19.0	31 \pm 10.8	29.2 \pm 18.6	32.7 \pm 7.0

NS entro gruppi e tra gruppi

settimane di trattamento e la medesima considerazione è risultata valida anche per la vitamina K, per la quale è stato utilizzato come indicatore indiretto, il tempo di protrombina (**Tab 3**). Non sono state riscontrate differenze significative tra trattati e controlli alla fine della sperimentazione. Gli eventuali effetti sequestranti del chitosano nei confronti dei minerali, con particolare riferimento al ferro, monitorati prendendo in considerazione i parametri ematocrito, emoglobina, MCV, MCH e MCHC, non hanno evidenziato variazioni significative all'interno e tra i due gruppi (**Tab 3**).

Gli esami dei parametri urinari e del sedimento non hanno segnalato alcuna alterazione nei due gruppi in studio.

Gli ECG eseguiti all'inizio, alla visita intermedia ed alla fine del trattamento, non hanno presentato alterazioni patologiche,

Tabella 4 Valori plasmatici (Media \pm DS) degli ormoni steroidei nei soggetti di sesso maschile all'inizio ed alla fine del trattamento

Parametri	INIZIO		FINE	
	Trattati	Controlli	Trattati	Controlli
Testosterone (ng/mL)	4.95 \pm 1.22	4.82 \pm 1.09	4.98 \pm 1.31	4.85 \pm 1.16
Cortisolo (ng/mL)	95.1 \pm 40.3	96.1 \pm 61.4	95.7 \pm 56.0	87.2 \pm 41.0
Estradiolo (pg/mL)	21 \pm 9.44	11.3 \pm 9.44	20.6 \pm 4.82	13 \pm 11.9
Progesterone (ng/mL)	0.55 \pm 0.41	0.80 \pm 0.18	0.56 \pm 0.49	0.98 \pm 0.11

NS entro e tra gruppi

Tabella 5 Valori plasmatici (Media \pm DS) degli ormoni steroidei nei soggetti di sesso femminile all'inizio ed alla fine del trattamento

Parametri	INIZIO		FINE	
	Trattati	Controlli	Trattati	Controlli
Testosterone (ng/mL)	0.35 \pm 0.22	0.42 \pm 0.09	0.48 \pm 0.31	0.35 \pm 0.16
Cortisolo (ng/mL)	85.1 \pm 40.3	86.1 \pm 61.4	85.7 \pm 56.0	87.2 \pm 41.0
Estradiolo (pg/mL)	221 \pm 94.4	161.3 \pm 94.4	206.7 \pm 48.2	183 \pm 91.19
Progesterone (ng/mL)	1.05 \pm 1.81	0.80 \pm 1.48	1.06 \pm 1.99	0.98 \pm 2.11

NS entro e tra gruppi

Tabella 6 Valori plasmatici (Media \pm DS) di colesterolo totale, HDL, LDL e trigliceridi all'inizio, dopo 4 e dopo 8 settimane

Parametri	1° visita		2° visita		3° visita	
	Trattati	Controlli	Trattati	Controlli	Trattati	Controlli
Colesterolo (mg/dL)	207.7 \pm 34.3	217.1 \pm 48.6	190.5 \pm 29.1	199.5 \pm 33.8	188.2 \pm 26.0	204.5 \pm 34.7
Colesterolo HDL (mg/dL)	55.4 \pm 12.2	55.1 \pm 15.1	53.5 \pm 11.4	52.3 \pm 10.7	55.1 \pm 13.2	51.2 \pm 10.8
Colesterolo LDL (mg/dL)	129.6 \pm 30.8	136.1 \pm 38.2	116.9 \pm 24.4	123.6 \pm 32.0	117.1 \pm 24.6	129.6 \pm 31.1
Trigliceridi (mg/dL)	111.5 \pm 52.9	122.5 \pm 71.0	101.9 \pm 49.4	127.5 \pm 83.2	81.4 \pm 35.2	104.9 \pm 48.9

Decrementi/Incrementi (Media \pm DS) dei valori tra visite successive.

Parametri	2° visita vs 1° visita		3° visita vs 2° visita		3° visita vs 1° visita	
	Colesterolo (mg/dL)	-13.2 \pm 22.5	-15.4 \pm 21.5	-0.6 \pm 16.8	-1.8 \pm 12.5	-19.7 \pm 23.5
Trigliceridi (mg/dL)	-3.5 \pm 29.7	1.0 \pm 51.9	-14.6 \pm 37.0	-15.5 \pm 51.4	-16.3 \pm 31.3	-16.8 \pm 31.8

NS entro e tra gruppi

sia nel gruppo trattato che nel controllo.

I valori ematici degli ormoni steroidei, nei maschi e nelle femmine, (**Tab 4 e 5**) sono rimasti invariati per tutto il periodo di osservazione e non sono state riscontrate differenze significative nei due gruppi in studio. I valori del colesterolo plasmatico hanno presentato una progressiva diminuzione, più marcata nel gruppo trattato, durante tutto il periodo di trattamento: infatti nel gruppo trattato il colesterolo è diminuito da 207.7 ± 34.3 a 188.2 ± 26.0 mg/dL, mentre nel gruppo di controllo si è passati da 217.1 ± 48.6 a 204.5 ± 34.7 mg/dL. I valori plasmatici del colesterolo HDL sono rimasti invariati nel gruppo trattato mentre nel gruppo di controllo sono lievemente diminuiti passando da 55.1 ± 15.1 a 51.2 ± 10.8 mg/dL. I valori plasmatici del colesterolo LDL sono diminuiti lievemente nei due gruppi ma la diminuzione è stata superiore nel gruppo trattato, passando da 129.6 ± 30.8 a 117.1 ± 24.6 mg/dL. Infine, anche la concentrazione media dei trigliceridi plasmatici è diminuita in entrambi i gruppi: nel gruppo trattato è passata da 111.5 ± 52.9 a 81.4 ± 5.2 mg/dL, mentre nel gruppo di controllo è diminuita da 122.5 ± 71.0 a 104.9 ± 48.9 mg/dL, al termine dello studio.

Tutte queste variazioni intra-gruppo, che rappresentano complessivamente un processo di aggiustamento del quadro lipidico dei soggetti in studio, non sono risultate statisticamente significative né nel gruppo trattato né in quello di controllo. Analizzando gli andamenti temporali delle singole concentrazioni plasmatiche, nel gruppo trattato con il prodotto a base di chitosano si è notata una più marcata tendenza a riportare nei limiti di normalità i valori plasmatici di colesterolo. Anche per quanto riguarda i livelli plasmatici di trigliceridi, la

tendenza a riportare nei limiti di normalità è risultata maggiormente evidente nel gruppo trattato: i valori individuali, oltre a rientrare tutti entro i limiti di normalità (< 200 mg/dL), al controllo intermedio hanno dimostrato una spiccata riduzione della variabilità inter-individuale, come evidenziato dalla diminuzione della deviazione standard della media (**Tab 6**). L'utilità soggettiva del trattamento, valutata mediante scale analogiche, ha dimostrato, nei due gruppi, una buona accettabilità per entrambi i prodotti.

Lo studio, impostato per valutare la sicurezza d'uso nell'uomo del chitosano, somministrato a dosaggi dietetici, ha confermato che la fibra è ben tollerata, in accordo con i dati di letteratura già disponibili, dimostrando in particolare l'assenza di stati carenziali relativi a vitamine liposolubili e minerali. Il chitosano ha esercitato un effetto favorevole nei confronti dell'assetto lipidico, senza assumere una valenza farmacologica, proprietà attribuitagli in alcuni studi condotti su animali con dosi elevate di fibra. L'azione ipocolesterolemizzante del chitosano è imputabile ad un minore assorbimento gastrointestinale del colesterolo esogeno (**1-5, 30-35**).

Durante i due mesi di studio, l'unico effetto indesiderato manifestatosi riguardava la comparsa di irregolarità dell'alvo in tredici soggetti, undici trattati e due controlli. Nella maggior parte dei soggetti affetti da stipsi, il problema è scomparso aumentando l'idratazione.

In conclusione i risultati hanno dimostrato che l'impiego del prodotto dietetico a base di chitosano, alla concentrazione sino a 2 grammi/die per 8 settimane, non comporta alcun rischio significativo per la salute dell'individuo.

Nota

I risultati di questo studio sono stati notificati da Roeder Farmaceutici al Ministero della Sanità, contribuendo in modo significativo alla decisione del Ministero, nel luglio 2000, di liberalizzare l'uso del chitosano negli integratori.

BIBLIOGRAFIA

- Muzzarelli RA (1996)**
Chitosan-based dietary foods
Carbohydr Pol **29** 309-316
- Muzzarelli RA (1998)**
Management of hypercholesterolemia and overweight by oral administration of chitosans. In: *New Biomedical Materials - Applied and Basic*
Chapman D, Harris PI Eds, IOS Press, London
- Muzzarelli RA (1999)**
Clinical and biochemical evaluation of chitosan for hypercholesterolemia and overweight control. In: *Chitin and Chitinases*
Jollès P, Muzzarelli RA Eds, Birkhauser Verlag, Basel,
- Muzzarelli RA (2000)**
Recent results in the oral administration of chitosan. In: *Advances in Chitin Science*, (vol IV), Peter MG, Domard A, Muzzarelli RA Eds, Universitat Potsdam
- Furda L (2000)**
Reduction of absorption of dietary lipids and cholesterol by chitosan, its derivatives and special formulations. In: *Advances in Chitin Science*, (vol IV), Peter MG, Domard A, Muzzarelli RA Eds, Universitat Potsdam
- Thom E, Wadstein J (2000)** Chitosan in weight reduction: results from a large scale consumer study. In: *Advances in Chitin Science*, (vol IV), Peter MG, Domard A, Muzzarelli RA Eds, Universitat Potsdam
- Illum L (1998)**
Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient
Pharmaceutical Res **15** 1326-1331
- Illum L, Farraj NF, Davis SS (1994)**
Chitosan as a novel nasal delivery system for peptide drugs
Pharmaceutical Res **11** 1186-1189
- Luessen HL, de Leeuw BJ, Langemeyer MW, de Boer AB, Verhoef JC, Junginger HE (1996)**
Mucoadhesive polymers in peroral peptide drug delivery. VI. Carbomer and chitosan improve the intestinal absorption of the peptide drug buserelin *in vivo*
Pharmaceutical Res **13** 1668-1672

10. **Artursson P, Lindmark T, Davis SS, Illum L (1994)**
Effect of chitosan on the permeability of monolayers of intestinal epithelial cells (Caco-2)
Pharmaceutical Res **11** 1358-1361
11. **Dodane V, Amin Khan M, Merwin JR (1999)**
Effect of chitosan on epithelial permeability and structure
Int J Pharmaceutics **182** 21-32
12. **Schipper NG, Varum KM, Artursson P (1996)**
Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs. 1: Influence of molecular weight and degree of acetylation on drug transport across human intestinal epithelial (Caco-2) cells
Pharmaceutical Res **13** 1686-1692
13. **Schipper NG, Olsson S, Hoogstraate JA, deBoer AG, Varum KM, Artursson P (1997)**
Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs. 2: Mechanism of absorption enhancement
Pharmaceutical Res **14** 923-929
14. **Schipper NG, Varum KM, Stenberg P, Ocklind G, Lennernas H, Artursson P (1999)**
Chitosans as absorption enhancers of poorly absorbable drugs. 3: Influence of mucus on absorption enhancement
Eur J Pharm Sci **8** 335-343
15. **Struszczyk MH, Halweg R, Peter MG (2000)**
Comparative analysis of chitosans from insects and crustacea. In: *Advances in Chitin Science*, (vol IV), Peter MG, Domard A, Muzzarelli RA Eds, Universitat Potsdam
16. **Roberts GAF, Wood FA (2000)**
Inter-source reproducibility of the chitin deacetylation process. In: *Advances in Chitin Science*, (vol IV), Peter MG, Domard A, Muzzarelli RA Eds, Universitat Potsdam
17. **Nauss JL, Thompson JL, Nagyvary JJ (1983)**
The binding of micellar lipids to chitosan
Lipids **18** 714-719
18. **Vahouny GV, Satchithanandam S, Cassidy MM, Lightfoot FB, Furda I (1983)**
Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat
Am J Clin Nutr **38** 278-284
19. **Solov'eva MA, Gorbacheva IN, Vikhoreva GA, Gal'braikh LS, Ryzhenkov VE (1994)**
Effect of chitosan sulfates on lipoprotein lipase activity [Russian]
Voprosy Meditsinskoi Khimii **40** 37-39
20. **Deuchi K, Kanauchi O, Imasato Y, Kobayashi E (1995)**
Effect of the viscosity or deacetylation degree of chitosan on fecal fat excreted from rats fed on a high-fat diet
Biosci Biotech Biochem **59** 781-785
21. **Kanauchi O, Deuchi K, Imasato Y, Shizukuishi M, Kobayashi E (1995)**
Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate
Biosci Biotech Biochem **59** 786-790
22. **Ryzhenkov VE, Solov'eva MA, Remezova OV, Okunevich IV (1996)**
Hypolipidemic effect of sulfated polysaccharides [Russian]
Voprosy Meditsinskoi Khimii **42** 115-9
23. **Han LK, Kimura Y, Okuda H (1999)**
Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet
Int J Obes Rel Met Disord **23** 174-179
24. **Giustina A, Ventura P (1995)**
Weight-reducing regimens in obese subjects: effects of a new dietary fiber integrator.
Acta Toxicol Ther, **16**(4) 199-213
25. **Sciutto AM, Colombo P (1995)**
Lipid-lowering effect of chitosan dietary integrator and hypocaloric diet in obese subjects.
Acta Toxicol Ther, **16**(4) 215-230
26. **Veneroni G, Veneroni F, Contes P, Tripodi S, De Bernardi M, Guarinom C, Marletta M (1996)**
Effect of a new chitosan dietary integrator and hypocaloric diet on hyperlipidemia and overweight in obese patients
Acta Toxicol Ther **17**(1) 53-70
27. **Macchi G (1996)**
A new approach to the treatment of obesity: chitosan's effects on body weight reduction and plasma cholesterol's levels
Acta Toxicol Ther **17**(4) 303-320;
28. **Pittler MH, Abbot NC, Harkness EF, Ernst E (1999)**
Randomized, double-blind trial of chitosan for body weight reduction.
Eur J Clin Nutr **53** 379-81
29. **Fukada Y, Kimura K, Ayaki Y (1991)**
Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats
Lipids **26** 395-9
30. **Sugano M, Fujikawa T, Hiratsuji Y, Nakashima K, Fukuda N, Hasegawa Y (1980)**
A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats
Am J Clin Nutr **33**:787-793
31. **Sugano M, Watanabe S, Kishi A, Izume M, Ohtakara A (1988)**
Hypocholesterolemic action of chitosans with different viscosity in rats
Lipids **23** 187-191
32. **Zacour AC, Silva ME, Cecon PR, Bambirra EA, Vieira EC (1992)**
Effect of dietary chitin on cholesterol absorption and metabolism in rats.
J Nutr Sci Vitaminol **38** 609-613
33. **Maezaki Y, Tsuji K, Nakagawa Y, Kawai Y, Akimoto M, Tsugita T, Takekawa W, Terada A, Hara H, Mitsuoka T (1993)**
Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males
Biosci Biotech Biochem, **57**(9) 1439-1444
34. **Lee JK, Kim SU, Kim JH (1999)**
Modification of chitosan to improve its hypocholesterolemic capacity.
Biosci Biotech Biochem **63** 833-9
35. **Wuolijoki E, Hirvela T, Ylitalo P (1999)**
Decrease in serum LDL cholesterol with microcrystalline chitosan
Meth Find Exp Clin Pharmacol **21** 357-361
36. **Terada A, Hara H, Sato D, Higashi T, et al (1995)**
Effect of dietary chitosan on faecal microbiota and faecal metabolites of humans
Microbial Ecol Health Dis **8** 15-21
37. **Suzuki K, Okawa Y, Hashimoto K, Suzuki S, Suzuki M (1984)**
Protecting effect of chitin and chitosan on experimentally induced murine candidiasis.
Microbiol Immunol **28** 903-912
38. **Okamoto Y, Tomita T, Minami S, Matsuhashi A, Kumazawa NH, Tanioka S, Shigemasa Y (1995)**
Effects of chitosan on experimental abscess with *Staphylococcus aureus* in dogs.
J Vet Med Sci **57** 765-767
39. **Okamoto Y, Shibazaki K, Minami S, Matsuhashi A, Tanioka S, Shigemasa Y (1995)**
Evaluation of chitin and chitosan on open wound healing in dogs.
J Vet Med Sci **57** 851-854
40. **Rao SB, Sharma CP (1997)**
Use of chitosan as a biomaterial: studies on its safety and haemostatic potential.
J Biomed Materials Res **34** 21-28
41. **Roller S, Covill N (1999)**
The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice.
Int J Food Microbiol **47** 67-77
42. **Deuchi K, Kanauchi O, Shizukuishi M, Kobayashi E (1995)**
Continuous and massive intake of chitosan affects mineral and fat-soluble vitamin status in rats fed on a high-fat diet.
Biosci Biotech Biochem **59** 1211-1216