

Attività adiuvante con un composto nutrizionale a base di resveratrolo in soggetti affetti da sindrome influenzale

Adjuvant activity of a resveratrol based food supplement in flu subjects

Abstract

Premessa. Analogamente a quanto suggerito da altri sistemi sanitari, le autorità sanitarie italiane raccomandano la vaccinazione antinfluenzale annuale per le fasce di età superiori a 65 anni. Inoltre, molti studi suggeriscono una ridotta risposta immunitaria ai vaccini attenuati convenzionalmente impiegati. Per queste ragioni sono in corso di studio sostanze nutrizionali adiuvanti da associare al vaccino per integrare la risposta immunitaria.

Obiettivi. Valutare se la supplementazione orale con una combinazione nutrizionale di resveratrolo più vitamina C, zinco e antocianine (trattamento adiuvante) sia in grado di svolgere un'utile azione di complemento per la risposta immunitaria al vaccino antinfluenzale in soggetti anziani.

Popolazione. Novantadue soggetti di entrambi i sessi (età 53-100 anni; età media 84.7) ospitati in casa di riposo (n°=60 NH) o residenti in comunità (n°=32 CR) sono stati randomizzati in tre bracci: un braccio (28 soggetti NH) ha ricevuto il vaccino antinfluenzale standard più un trattamento adiuvante per 30 giorni; un secondo braccio (32 soggetti NH) ha ricevuto il solo vaccino antinfluenzale (gruppo di controllo); un terzo braccio (32 soggetti CR) ha ricevuto vaccinazione antinfluenzale più trattamento nutrizionale adiuvante per 60 giorni.

Interventi. La supplementazione nutrizionale orale con resveratrolo (2.5 mg/b.i.d.) più vitamina C (90 mg b.i.d.), zinco (7 mg b.i.d.) e flavonoidi (80 mg b.i.d.) è stata somministrata con due differenti modalità: 1) quindici giorni prima di iniziare la vaccinazione antinfluenzale ed a seguire per i successivi 45 giorni (n°=32 CR); 2) 5 giorni dopo la somministrazione del vaccino per una durata di 30 giorni (n°=28 NH). I soggetti sottoposti a vaccinazione convenzionale costituivano quindi il gruppo di controllo.

Risultati. La supplementazione nutrizionale con resveratrolo più zinco, vitamina C e flavonoidi, somministrata 15 giorni prima di iniziare la vaccinazione, è risultata utile nello svolgere un'azione adiuvante per la fisiologica risposta immunitaria con una incidenza lievemente ridotta di episodi influenzali. Inoltre, nei soggetti trattati si è osservata, rispetto ai controlli, una minore incidenza di infezioni delle basse vie respiratorie (bronchiti e polmoniti).

Ripoli RC, D'Intino MV, Pedicino MO, et al. Adjuvant activity of a resveratrol based food supplement in flu subjects. *Trends Med* 2006; 6(4):285-291.

© 2006 Pharma Project Group srl

Rosa Carmela Ripoli¹, Maria Vincenza D'Intino¹, Marco Ottorino Pedicino¹, Franco Antonio Palmaro¹, Roberto Cogo²

¹RSA Fondazione Luigi Porro
Barlassina - Milano

²Unità Operativa di Riabilitazione Cardiorespiratoria
Ospedale di Cassano d'Adda -MI-

Key words:
resveratrol
elderly
immunity
adjuvant

✉ **Roberto Cogo**

Unità Operativa di Riabilitazione Cardiorespiratoria
Ospedale di Cassano d'Adda
Via di Vona, 41
20062 Cassano d'Adda -MI-

La malattia influenzale costituisce una delle più importanti cause di morbilità invernale nella popolazione generale. Nei soggetti anziani, nei soggetti cachettici ed in quelli immunocompromessi il contagio influenzale si accompagna ad elevata incidenza di polmonite, con tassi di mortalità considerevoli (10-15%)¹. Per queste ragioni, in tutti i Paesi occidentali la vaccinazione antinfluenzale è fortemente consigliata dalle autorità sanitarie alla popolazione >65 anni ed a tutti i soggetti con comorbilità cardiovascolari, respiratorie o sottoposti a trattamenti immunosoppressivi². Nella stagione influenzale 2005, il Ministero della Salute ha sollecitato l'adozione di strategie vaccinali su vasta scala, con particolare riferimento ai soggetti molto anziani o residenti in case di cura per lungodegenti³.

Purtroppo numerosi studi sperimentali e clinici hanno dimostrato che la protezione offerta dai vaccini antinfluenzali si riduce progressivamente con l'avanzare dell'età e, dopo il settantacinquesimo anno di età, l'effetto appare modesto⁴⁻⁶. Le motivazioni sottese alla ridotta risposta anticorpale nei soggetti molto anziani possono essere ricondotte sia al progressivo declino delle riserve d'organo (milza, midollo, involuzione timica) sia alla disarticolazione quantitativa e funzionale delle sottopopolazioni linfocitarie e del rapporto fra citochine Th1 e Th2⁷⁻⁹.

Nei soggetti ricoverati in reparti di lungodegenza la ridotta risposta immunitaria è un aspetto particolarmente sentito a causa dell'elevato rischio di contagio a tutti i residenti^{10,11}. L'anergia immunitaria tipica dell'anziano è associata, oltre che ai deficit funzionali sopra menzionati, a numerose variabili individuali ed ambientali, in modo particolare allo stato nutrizionale, alla presenza di trattamenti farmacologici non sospendibili (corticosteroidi, etc.) ed all'eventuale allettamento forzato^{12,13}. Con specifico riferimento allo stato nutrizionale, è stato dimostrato che l'indice di massa corporea (BMI), il rapporto massa grassa/massa magra e l'influenza degli elementi traccia (zinco, rame e ferro) e di alcune vitamine (vitamine A, E e C) è essenziale ai fini di una adeguata risposta immunitaria¹⁴⁻¹⁶. In tal senso è stato ripetutamente sollevato il problema di migliorare la risposta vaccinale nei soggetti molto anziani¹⁷. Le strategie prevalentemente adottate per raggiungere questo obiettivo sono sostanzialmente di due tipi: 1) migliorare lo stato nutrizionale del soggetto, con la supplementazione esogena di elementi coinvolti nella modulazione immunitaria (zinco, arginina, vitamina C, etc.)¹⁸⁻²⁰; 2) introduzione nel pre-

parato vaccinale di sostanze con proprietà di immunostimolazione diretta (RU41740, MF59, imuthiol)²¹⁻²³.

Oggetto della nostra indagine era verificare l'efficacia di un integratore alimentare [contenente resveratrolo (2.5 mg), vitamina C (90 mg), zinco (7 mg) e flavonoidi (80 mg)] come adiuvante nutrizionale al vaccino antinfluenzale standard, in considerazione proprio della carenza nutrizionale da cui erano affetti i soggetti da noi inclusi nel presente studio.

Materiali e metodi

Lo studio, randomizzato, a tre bracci paralleli, è iniziato nel mese di Ottobre 2005 ed è terminato nel mese di Marzo 2006. Complessivamente sono stati esaminati 126 soggetti provenienti da nursing home (NH) o residenti in comunità (CR). Sono stati inclusi nello studio 92 soggetti, 60 NH e 32 CR. La popolazione studiata era costituita da soggetti di entrambi i sessi. L'età media del campione studiato era di 74.6 anni, con un valore sensibilmente maggiore per i soggetti NH (53-100 anni; media 84.7 anni) rispetto ai soggetti esterni (56-83 anni; media 71.2 anni). Il 96% dei soggetti riceveva terapie cardiovascolari con antiipertensivi (84%) e antiaggreganti (92%); il 37% riceveva farmaci antiulcera o gastroprotettori ed il 45% era trattato con nootropi. In tabella 1 sono riportate le caratteristiche epidemiologiche e cliniche della popolazione inclusa.

Ai fini dei risultati clinici, i soggetti sono stati valutati operando una distinzione fra soggetti lungodegenti e soggetti in comunità, poiché l'età media, un fattore di rischio cruciale, era sensibilmente diversa fra i due gruppi. Tutti i soggetti inclusi erano in condizioni cliniche stabili al momento della vaccinazione. Le princi-

Tabella 1. Caratteristiche cliniche e demografiche dei soggetti randomizzati al trattamento adiuvante rispetto ai controlli (solo vaccino antinfluenzale).

Caratteristiche	Soggetti NH		Soggetti CR
	Vaccino	Vaccino+Adiuvante	Vaccino+Adiuvante
Soggetti totali (n°=92)	n°=32	n°=28	n°=32
Età media (aa)	84.1	85.4	71.2
BMI	n.v.	n.v.	21.3
Maschi (%)	5/32 (15.6%)	4/28 (14.2%)	19/32 (59.3%)
Femmine (%)	27/32 (84.4%)	24/28 (85.8%)	13/32 (40.6%)
Presenza BPCO (%)	4/32 (12.5%)	6/28 (21.4%)	12/32 (37.5%)

pali malattie presenti erano di natura psichiatrica, cardiovascolare o respiratoria: 10/60 soggetti NH (16.6%) presentavano BPCO, una condizione riscontrata in 12/32 CR (37.5%). Nel corso del follow-up due soggetti NH (90 e 100 anni) sono deceduti.

Criteria di inclusione

Sono stati inclusi soggetti di entrambi i sessi. Per tutti i soggetti sono stati raccolti i dati clinici fondamentali e sono stati registrati i farmaci assunti. Sono stati esclusi i soggetti cachettici, quelli con BMI <19.5 e quelli con alterazione dell'emopoiesi e dell'emocateresi. Sono stati esclusi anche i soggetti con diagnosi di cirrosi epatica, con neoplasie e quelli che avevano assunto nei 60 giorni precedenti corticosteroidi.

Obiettivo e disegno dello studio

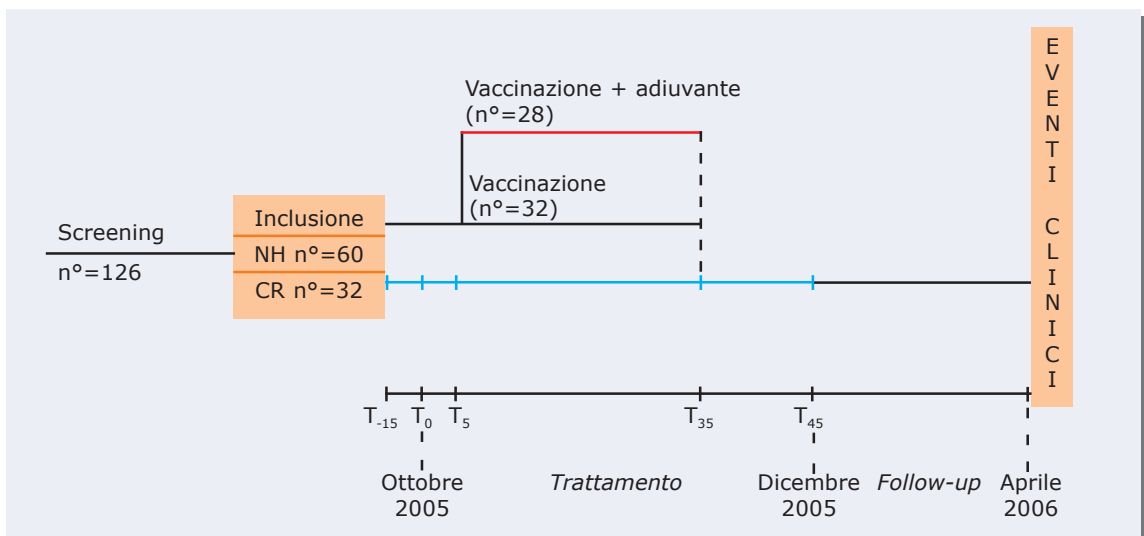
Questo studio è stato allestito per misurare l'efficacia del trattamento nutrizionale adiuvante. I soggetti inclusi (n°=92) sono stati randomizzati in tre bracci di trattamento. Due bracci erano costituiti dai soggetti lungodegenti (n°=60), mentre il terzo braccio era costituito dai soggetti residenti in comunità (n°=32). La randomizzazione al trattamento con adiuvante è avvenuta con le seguenti modalità: 1) un braccio, costituito da 32 soggetti lungodegenti, è stato

sottoposto a vaccinazione antinfluenzale standard (gruppo di controllo); 2) un braccio, costituito da 28 soggetti lungodegenti, è stato trattato con lo stesso vaccino più un adiuvante nutrizionale (supplemento nutrizionale di resveratrolo, zinco, vitamina C e flavonoidi in compresse dispersibili a partire dal giorno 5 dopo la vaccinazione e per complessivi 30 giorni); 3) un braccio, costituito dai 32 soggetti esterni, è stato trattato con vaccino antinfluenzale più adiuvante, ma con una diversa schedula di somministrazione (15 giorni prima della vaccinazione fino a 45 giorni dopo la vaccinazione, per complessivi 60 giorni di trattamento adiuvante). In figura 1 è schematizzato il disegno dello studio. Per la valutazione degli eventi clinici, i soggetti sono stati seguiti o direttamente (NH) da un medico che ha provveduto al rilevamento degli episodi influenzali e delle complicanze legate a tale evento, o indirettamente (CR) dal medico di famiglia. La durata dello studio è stata di oltre 5 mesi (Ottobre 2005-Marzo 2006). In questo arco di tempo sono stati valutati sia i singoli episodi influenzali occorsi sia le relative complicanze respiratorie (bronchiti e polmoniti) che hanno richiesto un trattamento antibiotico.

Obiettivo primario

L'obiettivo primario dello studio era valutare l'incidenza degli episodi influenzali nei soggetti

Figura 1. Disegno dello studio e trattamenti adottati. I soggetti lungodegenti sono stati suddivisi in due bracci: un braccio è stato sottoposto a profilassi vaccinale standard (T0) mentre l'altro braccio è stato trattato con adiuvante a partire dal giorno cinque (T+5) dopo la vaccinazione per trenta giorni (linea rossa). Il terzo braccio era costituito dai 32 soggetti esterni, tutti trattati con adiuvante a partire da 15 giorni prima della vaccinazione (T-15) per i 45 giorni successivi alla vaccinazione (T+45).



in trattamento adiuvante rispetto ai controlli. L'episodio influenzale era classificato, in accordo con quanto riportato da altri, come comparsa di sintomi respiratori (tosse, faringodinia, e/o congestione nasale) in presenza di febbre; la febbre è stata definita come aumento della temperatura $\geq 37.8^{\circ}\text{C}$, un valore dotato di buona specificità nei soggetti anziani²⁴.

Obiettivo secondario

A causa dell'elevato rischio di complicanze respiratorie associate agli episodi influenzali nei soggetti molto anziani (>75 anni), sono stati registrati anche tutti gli episodi di bronchite o polmonite occorsi nel follow-up.

Trattamento

La profilassi vaccinale è stata effettuata nel mese di Ottobre 2005. Tutti i soggetti sono stati vaccinati con vaccino antinfluenzale standard per la stagione invernale 2005-2006. Ai soggetti in trattamento attivo è stato somministrato un supplemento nutrizionale con l'intento di aumentare la stimolazione immunitaria al vaccino. Il supplemento è stato somministrato per via orale. Le compresse, contenenti 2.5 mg di resveratrolo, 90 mg di vitamina C, 7 mg di zinco e 80 mg di flavonoidi e antocianine, sono state somministrate ogni 12 ore con due diversi scheduling: una compressa due volte al giorno ai 28 soggetti NH, a partire dal 5° giorno successivo alla somministrazione del vaccino, per complessivi 30 giorni; viceversa, ai soggetti CR è stato chiesto di assumere il trattamento adiuvante con lo stesso dosaggio, ma a partire dal 15° giorno precedente la vaccinazione e proseguendo per ulteriori 45 giorni, per complessivi 60 giorni di trattamento.

Valutazione statistica

Le caratteristiche epidemiologiche e di inclusione pre-trattamento sono state riportate usando tecniche di statistica descrittiva, con indici di tendenza centrale (medie aritmetiche) e di dispersione (deviazione standard). L'omogeneità dei dati all'inclusione è stata verificata con il test t di Student e con il test del χ^2 . I risultati ottenuti sono stati raccolti e comparati fra i bracci di trattamento usando test parametrici e non parametrici. La significatività statistica è stata fissata ad un livello del 5% ($p < 0.05$).

Risultati

Complessivamente 60 soggetti (28 soggetti NH e 32 soggetti CR) sono stati sottoposti a trattamento adiuvante; i risultati ottenuti in questi due bracci sono stati confrontati con quelli ottenuti nei 32 soggetti NH cui è stato somministrato solo il vaccino antinfluenzale standard. Nel corso dello studio 2 soggetti NH sono deceduti. Tre dei 32 soggetti esterni non si sono presentati ai controlli concordati. Sono risultati quindi valutabili 87/92 soggetti (94.5%).

Eventi osservati

Soggetti lungodegenti

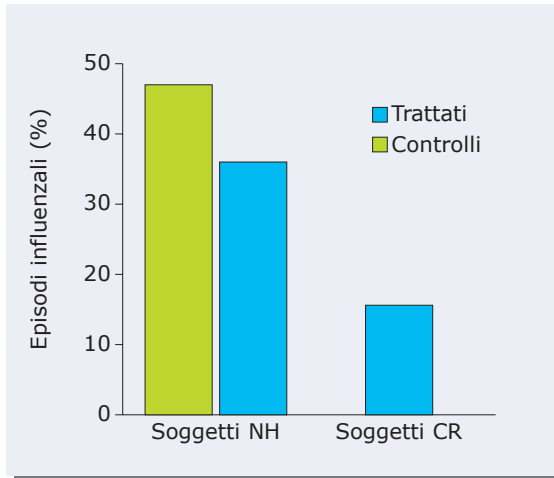
Episodi influenzali. Nei 58 soggetti lungodegenti valutabili sono stati registrati 24 episodi influenzali (41.4%). Ciò dimostra, analogamente a quanto riportato in altri studi clinici, la bassa efficacia della vaccinazione antinfluenzale nei soggetti molto anziani^{24,25}. L'età media dei soggetti NH era infatti pari ad 84.7 anni e ciò potrebbe giustificare l'elevato tasso di eventi clinici totali (episodi influenzali e complicanze infettive) osservato. Dei 24 episodi influenzali, 10 sono occorsi nei 28 soggetti in trattamento adiuvante (36%) e 14 sono occorsi nei 30 soggetti di controllo (47%). Poiché le variabili confondenti (età media e comorbilità) erano sovrapponibili nei due gruppi, la differenza (11%) fra trattati e controlli è da imputarsi al trattamento adiuvante (figura 2).

Complicanze infettive delle basse vie respiratorie. Nei 58 soggetti NH valutabili, oltre agli episodi influenzali, sono stati osservati anche 8 casi di infezioni delle basse vie respiratorie (7 bronchiti ed una polmonite). Questi episodi sono avvenuti prevalentemente nei 30 controlli (5 bronchiti ed una polmonite) rispetto ai 28 soggetti in trattamento adiuvante (2 episodi di bronchite).

Soggetti in comunità

Episodi influenzali. Nei 29 soggetti esterni valutabili, tutti in adiuvante, sono stati registrati 5 casi di influenza, con un'incidenza media pari al 15.6% contro il 36% osservato nei soggetti NH trattati con adiuvante. La riduzione media del 20% dell'end-point primario fra trattati NH e trattati CR può essere attribuita a vari fattori: i soggetti esterni presentavano un'età media di 71.2 anni, contro

Figura 2. Incidenza di episodi influenzali dopo stratificazione per setting (soggetti NH vs CR) e trattamento adiuvante. L'incidenza di episodi influenzali è apparsa significativamente più elevata nei soggetti lungodegenti (indipendentemente dal trattamento adiuvante), rispetto ai soggetti esterni.



un'età media di 84.7 anni dei soggetti NH. Poiché fra i soggetti esterni non esisteva un braccio di controllo, la migliore risposta osservata potrebbe essere attribuita anche al diverso scheduling adottato per il trattamento adiuvante: i soggetti esterni sono stati trattati con lo stesso dosaggio di resveratrolo adottato per i soggetti NH, ma iniziando 15 giorni prima della vaccinazione e proseguendo per i successivi 45 giorni. Ciò potrebbe avere migliorato l'anergia immunitaria, predisponendoli ad una maggiore risposta anticorpale. Tre episodi influenzali su un totale di cinque eventi si sono verificati nei 12 soggetti con precedente diagnosi di BPCO (25%) rispetto ad un'incidenza media del 10% osservata nei soggetti senza BPCO. Questo dato dimostra che la BPCO costituisce un fattore di rischio molto forte per il contagio del virus influenzale.

Tabella 2. Complicanze respiratorie osservate nei soggetti esterni (trattati con adiuvante) rispetto ai soggetti NH (trattati o non trattati con adiuvante).

Complicanze	Soggetti		
	NH (trattati)	NH (controlli)	CR
Bronchite acuta	1 (3.5%)	2 (6.2%)	—
Riacutizzazione BPCO	1 (3.5%)	3 (9.3%)	4 (12.5%)
Polmonite	—	1 (3.5%)	—

Complicanze infettive delle basse vie respiratorie. Poiché nel braccio CR era presente una maggior incidenza di BPCO, era atteso anche un maggior numero di complicanze batteriche delle basse vie. In realtà in questo braccio sono state osservate 4 riacutizzazioni infettive della BPCO e nessun caso di polmonite (tabella 2). Nel nostro studio non è stato previsto il dosaggio del titolo anticorpale specifico ed uno studio apposito sarebbe auspicabile. Analogamente sarebbe di grande interesse valutare i rapporti fra le sottopopolazioni linfocitarie, gli indici di attivazione macrofagica ed il dosaggio delle citochine infiammatorie coinvolte nei meccanismi di *alerting* immunitario, sia nei soggetti sottoposti alla sola vaccinazione standard sia in quelli con integrazione alimentare adiuvante.

Tollerabilità ed eventi avversi

Non si sono verificati episodi di intolleranza all'integratore alimentare, che è stato assunto da tutti i soggetti valutati per il periodo prescritto.

Discussione

Per quanto la vaccinazione antinfluenzale sia fortemente raccomandata nei soggetti anziani ed in quelli a maggior rischio di contagio, l'efficacia dei vaccini inattivati attualmente disponibili si riduce progressivamente con l'età a causa di alterazioni della risposta immunitaria età-correlate^{26,27}. Nei soggetti molto anziani (>75 anni) è stata dimostrata una ridotta risposta dell'immunità umorale dopo stimolazione con vari antigeni²⁸⁻³⁰. La ridotta efficacia dei vaccini antinfluenzali negli anziani istituzionalizzati rispetto a popolazioni più giovani è stata evidenziata in vari studi, che hanno attribuito questo fenomeno alla riduzione quantitativa e funzionale dei linfociti

B, ma anche a ridotta attivazione del network delle citochine^{5,11}.

Nel corso degli ultimi anni sono stati studiati numerosi potenziatori della risposta anticorpale, da somministrare come trattamento adiuvante a vari vaccini, con risultati variabili³¹. Il ripristino del pool di micronutrienti e vitamine costituisce uno dei punti di intervento più frequentemente impiegati per migliorare l'anergia immunitaria dell'anziano. In questo contesto, la somministrazione di un composto nutrizionale a base di resveratrolo più micronutrienti e vitamine potrebbe giocare un ruolo nell'integrare la risposta immune e antiossidante nei soggetti anziani, soprattutto se defedati.

Il nostro studio ha dimostrato che la supplementazione dietetica con resveratrolo più micronutrienti e vitamine è utile nello svolgere un'azione adiuvante per la risposta immunitaria

ai vaccini antinfluenzali standard. L'effetto da noi osservato è stato importante, in termini di riduzione degli episodi influenzali, soprattutto nei soggetti più giovani, nei quali le riserve d'organo appaiono meno compromesse. Si deve tuttavia tener conto che i maggiori tassi di contagio osservati nei soggetti istituzionalizzati, sia nei trattati che nei controlli, possono essere attribuiti anche, ed in misura rilevante, alla maggior facilità di trasmissione del virus influenzale in comunità chiuse, una variabile non presente nei soggetti esterni. Infine una nota di natura economica: la maggior incidenza di bronchiti acute, riacutizzazioni di BPCO e polmoniti nei soggetti non trattati ha necessitato adeguato trattamento antibiotico empirico, con incremento dei costi di gestione. Una valutazione economica su vasta scala sarebbe particolarmente auspicabile in questo setting. **TiM**

Bibliografia

1. Nichol KL. Influenza vaccination in the elderly: impact on hospitalisation and mortality. *Drugs Aging* 2005; 22:495-515.
2. While A, George C, Murgatroyd B. Promoting influenza vaccination in older people: rationale and reality. *Br J Community Nurs* 2005; 10:427-430.
3. Ministero della Salute. www.ministerosalute.it
4. Howells CHL, Vesselinova-Jenkins CK, Evans AD, et al. Influenza vaccination and mortality from bronchopneumonia in the elderly. *Lancet* 1975; 15:381-383.
5. Phair J, Kaufmann CA, Bjornson A. Failure to respond to influenza vaccine in the aged: correlation with B-cell number and function. *J Lab Clin Med* 1978; 92:822-825.
6. Stepanova L, Naykhin A, Kolmskog C, et al. The humoral response to live and inactivated influenza vaccines administered alone and in combination to young adults and elderly. *J Clin Virol* 2002; 24:193-201.
7. Mackall CL, Gress RE. Thymic aging and T-cell regeneration. *Immunol Rev* 1997; 160:91-102.
8. Sakata-Kaneko S, Wakatsuki Y, Matsunaga Y, et al. Altered Th1/Th2 commitment in human CD4+ T cells with ageing. *Clin Exp Immunol* 2000; 120:267-273.
9. Saurwein-Teissl M, Lung TL, Marx F, et al. Lack of antibody production following immunization in old age: association with CD8(+)/CD28(-) T cell clonal expansions and an imbalance in the production of Th1 and Th2 cytokines. *J Immunol* 2002; 168:5893-5899.
10. Patriarca PA, Weber JA, Parker RA, et al. Efficacy of influenza vaccine in nursing homes. *J Am Med Assoc* 1985; 253:1136-1139.
11. Provinciali M, Di Stefano G, Muzzioli M, et al. Impaired antibody response to influenza vaccine in institutionalized elderly. In Fabris N, Harman D, Kitani D, Zs-Nagy I eds. *Pharmacology of Aging Processes: methods of assessment and potential interventions*. Ann NY Acad Sci 1994; 717:307-374.
12. Ahluwalia N. Aging, nutrition and immune function. *J Nutr Health Aging* 2004; 8:2-6.
13. Fulop T Jr, Wagner JR, Khalil A, et al. Relationship between the response to influenza vaccination and the nutritional status in institutionalized elderly subjects. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1999; 54:M59-M64.
14. Bogden JD. Influence of zinc on immunity in the elderly. *J Nutr Health Aging* 2004; 8:48-54.
15. Ahluwalia N, Sun J, Krause D, et al. Immune function is impaired in iron-deficient, homebound, older women. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:516-521.
16. Chandra RK. Impact of nutritional status and nutrient supplements on immune responses and incidence of infection in older individuals. *Ageing Res Rev* 2004; 3:91-104.
17. Ershler WB. Influenza vaccination in the elderly: can efficacy be enhanced? *Geriatrics* 1988; 43:79-83.
18. High KP. Nutritional strategies to boost immunity and prevent infection in elderly individuals. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1892-1900.
19. Ibs KH, Rink L. Zinc-altered immune function. *J Nutr* 2003; 133(5 Suppl 1):1452S-1456S.
20. Cassino R, Della Torre F, Fabris N. Effect of zinc or zinc plus arginine supplementation on antibody titre and lymphocyte subsets after influenza vaccination in elderly subjects: a randomized controlled

- trial. *Age Ageing* 1998; 27:715-722.
21. **Profeta ML, Guidi G, Meroni PL, et al.** Influenza vaccination with adjuvant RU41740 in the elderly. *Lancet* 1987; 8539:973.
 22. **Lesourd BM, Vincent-Falquet JC, Deslandes D, et al.** Influenza vaccination in the elderly: improved antibody response with imuthiol (NA diethyldithiocarbamate) adjuvant therapy. *Int J Immunopharmacol* 1988; 10:135-143.
 23. **Gasparini R, Pozzi T, Montomoli E, et al.** Increased immunogenicity of the MF59-adjuvanted influenza vaccine compared to a conventional subunit vaccine in elderly subjects. *Eur J Epidemiol* 2001; 17:135-140.
 24. **Brydak LB, Machala M, Mysliwska J, et al.** Immune response to influenza vaccination in an elderly population. *J Clin Immunol* 2003; 23:214-222.
 25. **Monto AS, Hornbuckle K, Ohmit SE.** Influenza vaccine effectiveness among elderly nursing home residents: a cohort study. *Am J Epidemiol* 2001; 154:155-160.
 26. **Hara M, Tanaka K, Hirota Y.** Immune response to influenza vaccine in healthy adults and the elderly: association with nutritional status. *Vaccine* 2005; 23:1457-1463.
 27. **Lesourd B.** Immune response during disease and recovery in the elderly. *Proc Nutr Soc* 1999; 58:85-98.
 28. **Thompson JS, Robbins J, Cooper JK.** Nutrition and immune function in the geriatric population. *Clin Geriatr Med* 1987; 3:309-317.
 29. **Fagiolo U, Amadori A, Cozzi E, et al.** Humoral and cellular immune response to influenza virus vaccination in aged humans. *Aging* 1993; 5:451-458.
 30. **Glathe H, Bigl S, Grosche A.** Comparison of humoral immune responses to trivalent influenza split vaccine in young, middle-aged and elderly people. *Vaccine* 1993; 11:702-705.
 31. **Ramsay AJ, Kent SJ, Strugnell RA, et al.** Genetic vaccination strategies for enhanced cellular, humoral and mucosal immunity. *Immunol Rev* 1999; 171:27-44.

