

Effects of natural xanthophylls on colour of certain tissues and the humoral immune response in Japanese quail

Jung Ivett  
Szabó Csaba  
Kerti Annamária  
Bárdos László\*

I. Jung  
Cs. Szabó  
A. Kerti  
L. Bárdos\*

1. SZIE MKK Állatelettani és  
Állat-egészségtani Tanszék  
H-2103 Gödöllő, Páter K. u. 1.

\* e-mail: bardos.laszlo@mkk.szie.hu

# TAKARMÁNYOZÁS- TAN

## Természetes eredetű xantofillok hatása egyes szövetek színére és a humorális immunválaszra japán fürjben

### ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők japán fürj tojókat immunizáltak kecske-vörösvérsejt és szarvasmarha-szérumalbumin kombinációjával (100 µg/állat) im. A kontrollcsoportot (K) kereskedelmi tojótáppal takarmányozták, egy másik csoport (X) ugyanahhoz a takarmányhoz keverve természetes oxikarotinoidokat (1000 ppm Capsantal EBS 40 NT: *Tagetes erecta* kivonata; aktív anyagok: 40 g/kg sárga xantofill: 0,8% β-karotin, 1,5% kriptoxantin, 82,0% transz-lutein, 4,0% transz-zeaxantin, 11,7% egyéb karotinoidok) is tartalmazó takarmányt kapott. A vizsgálat 6 hete alatt vér- és tojásmintákat gyűjtöttek. A minták retinoid- és karotinoidspektrumát HPLC-analízissel állapították meg, az immunválaszkésztséget az immunoglobulin- (IgY) titer ELISA-technikával történő mérésével, valamint HAG-tesztel határozták meg. A tojássárgája és a bőr színét Yolk color fan (YCF) skálával, ill. CIELab-módszerrel értékelték (Micromatchs™ Sheen Ltd). A xantofillkoncentráció folyamatosan nőtt az X-csoport vérében, miközben a retinoidkoncentráció nem változott. A tojássárgája színének az intenzitása szignifikánsan nagyobb YCF-értéket mutatott a xantofillkiegészítéssel takarmányozott madarakban. A bőr színének CIELab értékelése alapján a xantofillal kezelt csoportban az a\* ( $p < 0,05$ ) és a b\* ( $p < 0,01$ ) paraméter esetében is szignifikáns különbség tapasztalható. A vér IgY- és HAG-titere mindkét csoportban emelkedett, de a xantofillkiegészítésben részesült fürjek esetében nagyobb titereket mértek. A jelen kutatások bizonyítják, hogy a természetes oxikarotinoidoknak nemcsak a tojás és a bőr színének kialakításában van szerepe, de fokozzák az immunválaszkésztséget is.

### SUMMARY

Adult Japanese quail layers were immunized by combination of goat red blood cell and bovine serum albumin (100 µg/animal) i.m. The control group (K) was fed on commercial layer food the other group (X) with the same food but supplemented with mixture of natural xanthophylls (1000 ppm Capsantal EBS 40 NT: extraction of *Tagetes erecta*; active substances: 40 g/kg yellow xanthophyll: 0.8% β-carotene, 1.5% cryptoxanthin, 82.0% trans-lutein, 4.0% trans-zeaxanthin, 11.7% other carotenoids). Blood and egg samples were collected weekly for six weeks. The samples were analyzed for retinoid and carotenoid spectrum by HPLC and for the avian immunoglobulin-Y (IgY) titres by ELISA and haemagglutination test (HAG) as well. The colours of egg yolk and skin were characterized by Yolk colour fan (YCF) and CIELab values (Micromatchs™ Sheen Ltd). The concentration of xanthophyll increased continuously in the blood of group X, and there was no change in the retinoid concentration of blood. The yolk colour intensity increased in the 2nd w. in xanthophyll fed birds and the average coloration was higher ( $p < 0.05$ ) throughout the experiment. The skin CIELab values were as follows: control group L\*: 65.8; a\*: 4.1; b\*: 26; and in the xanthophyll treated group L\*: 59.3; a\*:7.8; b\*: 41.7, respectively. The differences were significant ( $p < 0.01$ ) in the case of L and b\*value. The blood IgY and HAG titres were raised in both groups and the values were higher for xanthophyll supplemented birds. These studies on the role of natural xanthophylls have demonstrated that beside the coloration of egg yolk and skin they can enhance the immune function too in Japanese quail.

A karotinoidok csoportjába mikroorganizmusokban, gombákban és növényekben szintetizálódó közel 600-féle természetes színes vegyület tartozik. Közülük általában 20-féle fordul elő a leggyakrabban fogyasztott élelmiszereinkben és az állatok takarmányában is.

**Az állatok az anyagcsere-folyamataikban nem képesek a karotinoidok előállítására, ezért a táplálékból kell hozzájutniuk**

**Egyes nem A-provitamin tulajdonságú karotinoidok a  $\beta$ -karotinnál hatékonyabban segítik az immunválaszkészséget**

**A bársonyvirág szirmaiból származó xantofill-komplex színező és immunmoduláns hatását vizsgálták japán fürjekben**

Az állatok az anyagcsere-folyamataikban nem képesek a karotinoidok előállítására, ezért a táplálékból kell hozzájutniuk (21). A takarmányozási technológiák főleg a fogyasztói elvárásokhoz alkalmazkodva, a baromfi egyes testrészeinek (bőr, láb) színezésére használják a karotinoidokat. Egyes tyúkfajtákban (pl. Orpington, Dorking, Sussex) ismert egy autoszomális mutáció, ami miatt bár a vérükben megtalálhatók a karotinoidok, természetesen csak akkor, ha volt a táplálékukban, de azok a bőrbe nem épülnek be. Ezekben a madarakban is van vérben xantofill, ami zsírba és a tojássárgájába is beépül, de a bőrükből hiányzik (5). A színező hatásuk mellett ezek az anyagok részt vesznek a szárnyasok anyagcseréjében és a szaporodási folyamatokban is. Számos karotinoid, azok, amelyeknek legalább egy  $\beta$ -jonon gyűrűje van, az A-vitamin-szintézis prekursoraként szolgál (23). Több más molekula természetes antioxidánsként viselkedik (18), amivel növeli az immunválaszkészséget (23).

Állatkísérletekben és humán vizsgálatokban is egyaránt bizonyítást nyert, hogy egyes nem A-provitamin tulajdonságú karotinoidok (lutein, kantaxantin, likopin és asztaxantin) a  $\beta$ -karotinnál hatékonyabban segítik mind a sejtmediált, mind a humorális immunválaszkészséget. Ezek a hatások részben az antioxidáns rendszer folyamataiban érvényesülnek, mivel csökkentik a reaktív oxigéngyökök (ROS) kialakulását, amik számos kórkép oktatában, pl. szív-érrendszeri és neurodegeneratív megbetegedések, valamint az öregedési folyamatokban érvényesülnek. A vizsgálatokban már celluláris és szubcelluláris szinten bizonyítást nyert, hogy az említett karotinoidok szabályozó tényezők az immunfolyamatokban (3).

Ezek a bizonyítottan antioxidáns tulajdonságú vegyületek segítenek megvédeni az immunrendszert az oxidatív károsodásokkal szemben, ezáltal segítik az immunválaszt (10). Ezzel függ össze a fertőzésekkel szembeni ellenálló képesség erősödése (2). Az immunválasz kialakulásának kezdetén az antigént bemutató sejtek a T-lymphocytáknak adnak át információkat (27). Az antigén-bemutató sejt egyik jellemzője a membránjába ágyazott fő hisztokompatibilitási gén komplex (MHC-I, ill. -II) molekula kifejeződése. Feltételezik, hogy egyes karotinoidok, mint helyi citoprotektív anyagok, ebben a mechanizmusban hatva növelik a sejtközvetített immunválaszt (11). A humorális immunválasz az érett, aktivált B-sejt ellenanyagot termelő plazmasejtté alakulásától függ. A karotinoidok szerepe a B-sejt-mediált folyamatokban még kevésbé tisztázott. Saját korábbi vizsgálatainkban, japán fürjek A-vitamin-mentes takarmányát 10 000 NE retinolekvivalens, ill. annak 2,5-, valamint 5-szörös mennyiségű  $\beta$ -karotinnal kiegészítve, a baromfipestis (NVD) elleni po. vakcinázásra a specifikus IgY-titerek a  $\beta$ -karotin-kiegészítés mértékében emelkedő tendenciát mutattak (15).

Jelen kísérletben a bársonyvirág (*Tagetes erecta L.*) szirmaiból származó xantofillkomplex (Capsantal EBS 40 NT) takarmányba adagolását követően nemcsak mint színező, de mint esetleges immunmoduláns tulajdonságú anyag hatását vizsgáltuk japán fürjekben.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

### KÍSÉRLETI ÁLLATOK ÉS ELRENDEZÉS

Kifejlett japán fürj tojóból ( $n = 10$ ) két csoportot alakítottunk ki. A kontrollcsoport egyedeit (K-csoport) kereskedelmi tojótáppal takarmányoztuk. A másik csoportot

(X-csoport) ugyanahhoz a táphoz kevert természetes xantofillkiegészítést tartalmazó (1000 ppm) takarmánnyal etették (Capsantal EBS 40 NT, Copharm; hatóanyaga 40 g/kg xantofill, aminek 82%-a lutein). A madarak faforgáccsal almozott állattartó dobozokban, természetes megvilágítású és szellőztetésű állatszobában voltak elhelyezve. Az állatok itatása és takarmányozása *ad libitum* történt a 6 hétig tartó kísérlet alatt.

### ANTIGÉN

Heparinra levett kecskevért kíméletesen (1500 rpm, 30 min, 4 °C) centrifugáltunk. Az üledéket élettani sóoldattal (1 : 1 v/v) hígítottuk, majd ismét centrifugáltuk. Ennek ötszöri ismétlésével tisztított vörösvérsejt- (gRBC) szuszpenziót nyertünk. Az 5%-ra beállított szuszpenzióhoz 1 : 125 000 hígítású csersavat (Galotannin, Ph.Eur., Reanal, Budapest) adtunk. Az így kapott elegybe annyi BSA-t oldottunk, hogy az immunizáláshoz használt 100 µg/állat koncentrációt érjünk el. Az így előállított kecske-vörösvérsejt és BSA kombinációjával mellizomba (im.) olta immunizáltuk a fürjeket a kísérlet kezdetekor és annak 4. hetében.

### ANALITIKAI MÓDSZEREK

A kísérlet alatt minden héten kb. 0,5 ml vért vettünk a madarak szárnyvénájából. A kémcsőben felfogott vért szobahőmérsékleten tartottuk a teljes alvadásig. Az alvadékat vékony tűvel elválasztottuk a kémcső falától, majd centrifugálással leválasztottuk a szérumot, amit a vizsgálatokig fagyaszttva (-20 °C) tároltunk. A vér retinoid- és karotinoidkoncentrációját reverz fázisú izokratikus HPLC-módszerrel mértük (12). A keringésben lévő madár-immunglobulint (IgY) ELISA-módszerrel analizáltuk (17). A hemagglutinációs (HAG) próbát U fenekű ELISA-lemezen mikromódszerrel végeztük el (1) 10% (w/v) PBS-oldatban, mivel madarak esetében 8% feletti sókoncentráció esetében jön létre a teljes precipitáció (6). A kísérlet alatt folyamatosan gyűjtött tojások sárgájának a színét nemzetközileg elfogadott színskálával (Yolk Colour Fan, YCF; DSM) hasonlítottuk össze. A bőrfel szín színének értékelését kolorimetriás módszerrel a CIELab-skálához viszonyító kézi reflexiós célfotométerrel (Micromatch TM Plus, Sheen Ltd., United Kingdom) határoztuk meg.

### STATISZTIKAI MÓDSZEREK

Az átlag ( $\bar{x}$ ) számítást és szórás ( $\pm s$ ) becslést követően az eredményeket párosított *t*-próbával minősítettük. A csoportátlagok és az összes átlag értékeit a varianciaanalízis (ANOVA) Dunnett-féle tesztjével (*GraphPad Prism ver. 5.0 for Windows*) hasonlítottuk össze.

## EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁS

A gombákban és növényekben lévő xantofillszínezékek az állati szövetekben festékanyagoknak tekinthetők. A karotinoidok esetében gyakorta használt pigment megnevezés és a festékanyag között jellemző különbség van. A pigmentek szerves vagy nem szerves színanyagok, amelyek gyakorlatilag oldhatatlanok a közegben (extra- vagy intracelluláris térben), amiben eloszlanak. Ezek tehát részecskék, amelyek a közeg színét eredményezik. A festékek viszont feloldódva oszlanak el a közegben, tehát a részecskéik nem láthatók. A xantofill (oxi-karotinoid) adalék (Capsantal, Copharm) a gyártó HPLC-analízise alapján megadott százalékos összetételében ( $\beta$ -karotin  $0,8 \pm 0,2$ ; kriptoxanthin  $1,5 \pm 0,3$ ; transz-lutein  $82,0 \pm 4,0$ ; transz-zeaxantin  $4,0 \pm 1,0$  és egyéb karotinoidok  $11,7 \pm 4,0$ ) a legfőbb komponens a lutein. Ezt tükrözi is a Capsantal-kiegészítést kapott csoport (X) japán fürjeinek szérumában a vizsgált időszakban folyamatosan növe-

**A fürjeket kecske-vörösvérsejt és szarvas-marha-szérumalbumin keverékével immunizálták**

**Mérték az állatok vérének IgY-tartalmát, továbbá a bőr és a tojások sárgájának a színét**

**A pigmentek az adott közegben oldhatatlan, a festékanyagok pedig oldódó színanyagok**

**Az állatok szérumában folyamatosan emelkedett a lutein és a zeaxantin mennyisége**

kedő luteinkoncentráció (1. ábra). Azaz a kiegészítés eredményeképpen a felszívódás is hatékonyan ítéhető. A lutein- és a zeaxantinmolekulák csak az egyik terminális gyűrűben lévő kettős kötés helyét tekintve különböznek egymástól. Ez magyarázza, hogy a szokásos és az általunk is alkalmazott HPLC-technikákkal e két oxikarotinoid elválasztása nem lehetséges (24). Ezért a legtöbb esetben, a vonatkozó irodalomban ennek a két oxikarotinoidnak a koncentrációját együttesen adják meg, ill. elemzik az adott anyagban való előfordulásukat. Jelenleg, valamint a korábbi ilyen közleményünkben mi is (13) hasonlóan jártunk el.

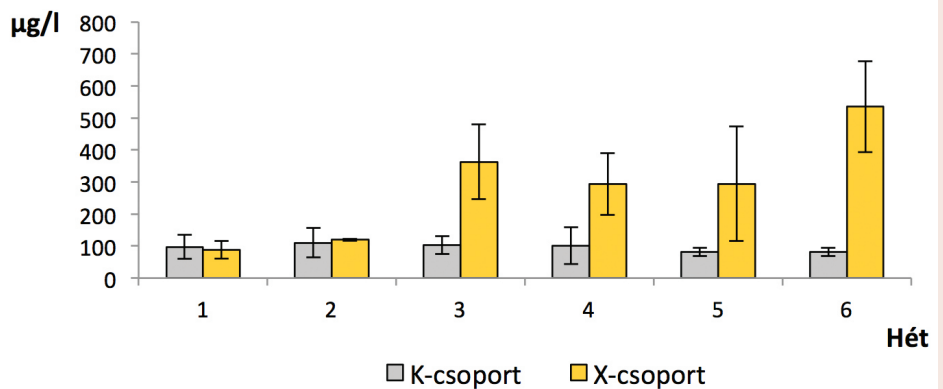
Mivel a Capsantal deklarált összetételében a többségben lévő lutein mellett vannak egyéb karotinoidok is, ezért megmértük a vér A-vitamin-szintjét is. A vér retinoidkoncentrációja egyik héten sem mutatott szignifikáns különbséget a két csoport között (2. ábra). Ez jelzi, hogy a xantofilloknak nincs, az adalékban lévő, 1%-nál kisebb mennyiségű  $\beta$ -karotinnak pedig gyakorlatilag elhanyagolható mértékű az A-provitamin aktivitása. A xantofillok esetében a terminális gyűrűjükben oxocsoport (szubsztituens) helyezkedik el. A  $\beta$ -jonon gyűrűs szerkezet viszont a retinoidok, így az A-provitamin hatású karotinoidok esetében is esszenciális.

A kísérlet végén a madarakat *lege artis* elvégeztettük. A bőrt a mellrészről lenyúztuk. A xantofill- (X) kiegészítésben részesülő állatok zsírszövege a kontrollállatokkal (K) összehasonlítva szabad szemmel is jól érzékelhetően mutatta a sárga festékek beépülését, ami jellegzetes elszíneződést adott (3. ábra). A szín objektív mérésének kifejezésére a bőrszín intenzitását a bőr belső, sík felületén mértük (1. táblázat). A méréseket azért végeztük a melltájékon lenyúzott bőrnek belső felszínén, mivel a mellizom feletti kisméretű tolltűző nélküli felület (*apteria*) nem volt elégséges a készülék apertúrájának a pontos illesztéséhez. Így a belső bőrfelületen a bőrlejtésben lerakódott zsírréteg karotinoidjainak

**A bőr színét a mell-tájéki, tolltűzőmentes területen mérték**

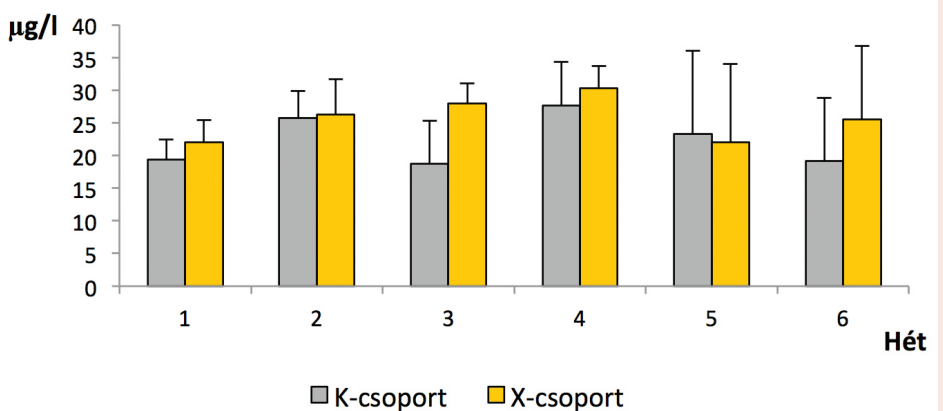
**1. ÁBRA.** A vér lutein- és zeaxantinkoncentrációja a japán fürjek szérumában

**FIGURE 1.** Concentration of lutein and zeaxanthin in the blood of Japanese quails



**2. ÁBRA.** A vér retinolkoncentrációja japán fürjek szérumában

**FIGURE 2.** Retinol concentration in the blood of Japanese quails



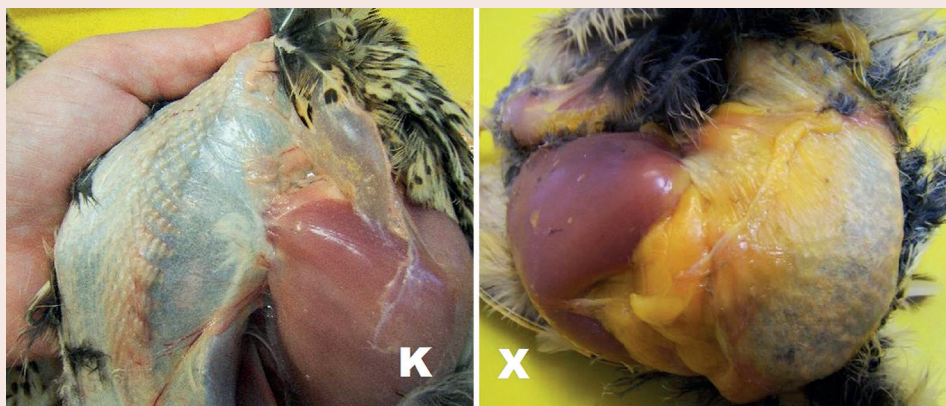
**A tojássárgájának színintenzitása már a második hétre fokozódott a xantofillkiegészítésben részesülő madarakban**

színét tudtuk mérni. PEREZ-VENDRELL és mtsai szerint a CIELab  $b^*$  koordinátája a mellrész bőrén mérve jó indikátora a takarmányban lévő xantofill jelenlétének, míg az  $a^*$  koordináta a lábszáron mérve egyenes arányban áll a takarmány kantaxantin mennyiségével (21). A bársonyvirágban található xantofillok között kantaxantin nem található. Ez az oxi-karotinoid, amit egyes takarmánykiegészítők tartalmaznak, elsősorban gombákban, algákban és tengeri halakban fordul elő. Kísérletünkben mi is szignifikáns különbséget találtunk a  $b^*$  értékek között.

A tojássárgájának YCF-fel mért színintenzitása már a második hétre fokozódott a xantofillkiegészítésben részesülő madarakban. A csoportok között a kísérlet 3. hetétől szignifikáns különbség ( $p < 0,05$ ) volt kimutatható (4. ábra). Az összesített átlagos színértékek az X-csoportban nagyobbak voltak ( $p < 0,05$ ) a kísérlet teljes ideje alatt (5. ábra). A tyúkok tojása átlagosan 0,3–0,5 mg összes xantofillt tartalmazott, aminek több mint a fele lutein volt. Mint a legtöbb zsír és zsírban oldódó vegyület, a tojás összetétele érzékeny a tojtakarmány zsírjainak

**3. ÁBRA.** A kontroll (K) és a Capsantal-kiegészítésben (X) részesülő csoportokból származó fűrjek bőr alatti zsírjának színe

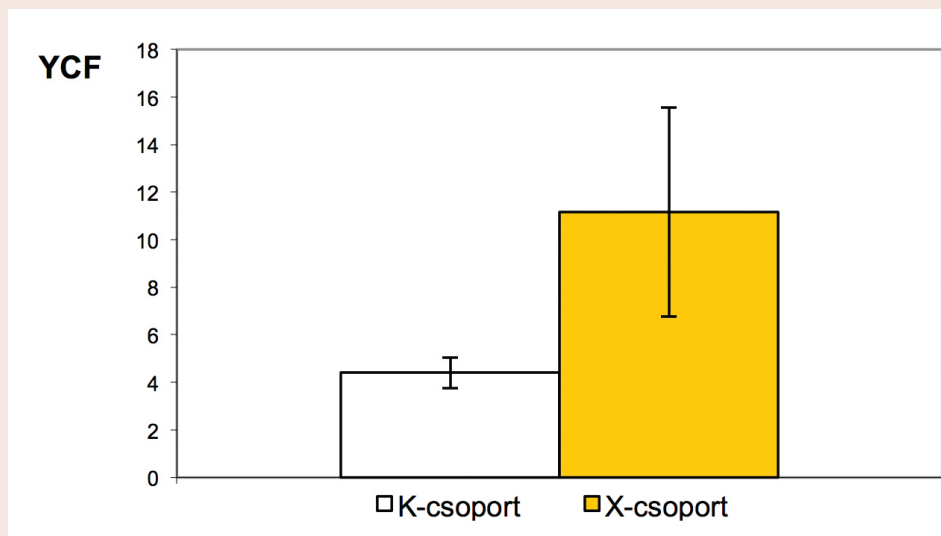
**FIGURE 3.** Colour of subcutaneous fat of a control (K) and a Capsantal (X) treated quail



**4. ÁBRA.** A tojássárgája hetente mért YCF-színskála értékei

(A harmadik héttől a csoportok között  $p < 0,05$  különbség tapasztalható)

**FIGURE 4.** Comparison of yolk colour between group K □ and group X ■ (The differences are significant  $p < 0.05$  between groups from the 3<sup>rd</sup> weeks)



**TÁBLÁZAT.** A bőr belső felületének CIELab-értékei ( $x \pm s$ )

**TABLE.** CIELab values of inner skin surface ( $x \pm s$ )

Csoport	CIELab-érték		
	L	$a^*$	$b^*$
Kontroll (K)	65,8 ± 0,9	4,0 ± 3,5	25,9 ± 8,9
Capsantal (X)	59,3 ± 3,1	7,8 ± 1,9	41,7 ± 6,7
$p <$	0,01	0,08	0,01



**Az IgY átlagos titere a vérben nagyobb volt a kezelt csoportban**

összetételére (16). Ezek az eredmények azt jelzik, hogy az alkalmazott természetes xantofillszármazék jól felszívódik, majd metabolizálódik és lerakódik a szervezetben (tojás, bőr alatti zsír) a japán fürjekben is. Hasonló eredményt kaptak szintén fürjekben végzett vizsgálatokban a szérumban, májban, zsírban és retinában is (26). Tehát ez a festék intenzív színezőanyagként viselkedik. Karotinoidok közül leginkább a xantofilok a madarak természetes színezőanyagai. Színező hatásuk eredménye a tojás, a bőr, a toll, a csőr és a lábszárpikkelyeinek jellegzetes színe, ami függ a madár táplálékának tényleges karotinoidtartalmától. A szín részben koncentrációfüggően a világossárgától egészen a narancsvörösre terjedhet. Amint már említettük, egyes tyúkfajtákban egy autoszomális mutáció miatt a bőrbe nem épülnek be a xantofilok. (5). Fürjekben erről a jelenségről nem található irodalom.

A vér IgY- és HAG-titere megnövekedett mindkét csoportban. Az IgY átlagos titere a vérben magasabb volt az X-csoportban, mint a K-csoportban. A legnagyobb különbség a második immunizálás (booster) antigénkomplex bejuttatását követően volt mérhető (6. ábra). A HAG-próba hasonló tendenciát mutatott (7. ábra). Ez utóbbi próba esetében értelemszerűen a kísérlet első hetében nem tapasztaltunk agglutinációt a kecske-vörösvértestekkel (gRBC) szemben. A negyedik héttől kezdődően az X-csoportban már jelentősen nagyobb titerű anti-gRBC-IgY-t lehetett mérni.

Jelen modellkísérletünk is igazolta tehát, hogy a lutein nemcsak színező anyag (bőr, tojássárgája), hanem fontos egyéb élettani hatása is van. Védi a sejteket és a szöveteket az oxidatív károsodástól (18, 22), és stimulálja az immunrendszert is. Kimutatták, hogy a xantofiloknak immunmoduláns és a rákos sejtek proliferációt mérséklő hatása van emberekben (22). Egerekben a táp luteinkiegészítése késleltette az indukált emlőtumor kialakulását és fokozta a lymphocyta-proliferációját (4).

A szérum IgG-titer karakterisztikus emelkedését mutatták ki macskákban és kutyákban is luteinkiegészítést tartalmazó étrend alkalmazása mellett (8, 9). KEVIN és mtsai lutein- és zeaxantinkiegészítésben részesített hím zebrapintyekben a fitohemagglutininnal (PHA) szemben fokozódó sejtmediált immunválaszt találtak (14). Madarakban az immunológiai vonatkozások közel sem ilyen egyértelműek. A jelen vizsgálathoz hasonló kísérleti elrendezésben a kantaxantint tartalmazó takarmányt ettünk kifejlett japán fürj tojókkal. A szarvasmarha-szérumalbuminnal (BSA) immunizált madarakban a vér IgY-tartalma emelkedett (25). Tenyésztő-jást termelő tyúkok takarmányának komplex karotinoid- ( $\beta$ -karotin, kantaxantin, lutein) és E-vitamin-kiegészítése esetében a tojásokban mind a lutein, mind az E-vitamin-tartalom szignifikánsan megnőtt, de azt tapasztalták, hogy a keltezt csibék immunválszkészségét csak az E-vitamin-kiegészítés esetében sikerült növelni (7). Szintén az immunglobulinok és karotinoidok anya-utód transportjának kevésbé magyarázható jelenségét tapasztalták akkor, amikor japán fürj tojók takarmányának karotinoidkiegészítése ugyan szignifikánsan megemelte a vérplazma karotinoid-szintjét és az adaptív immunválszkészséget is, de ez utóbbi a kezelt madarak tojásaiból kelő csibékben már nem volt jellemző (20).

**A booster oltást követően szignifikáns növekedést tapasztaltak a humorális immunválaszban a kezelt csoportban**

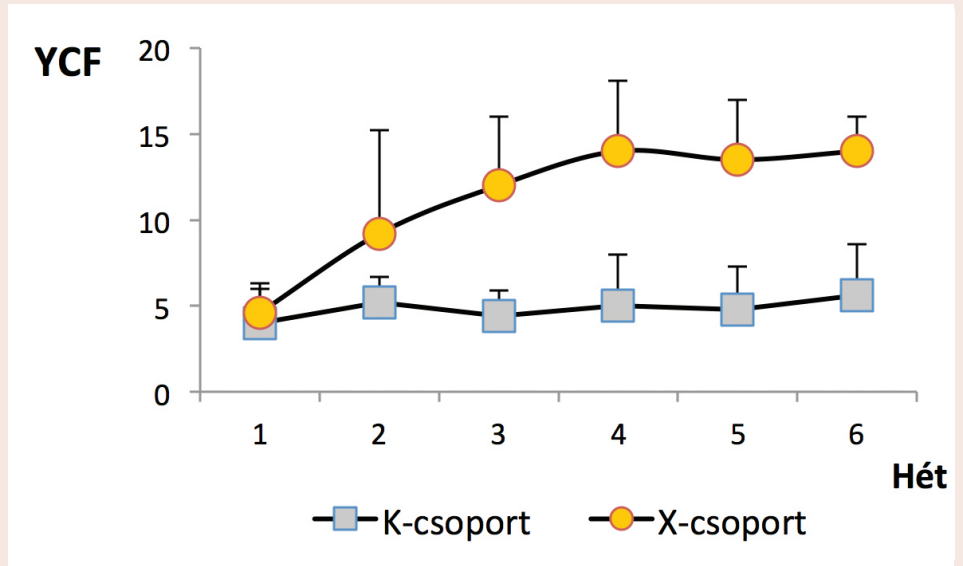
Jelen modellkísérletünkben mi is mérsékelte, a booster oltást követően viszont szignifikáns növekedést tapasztaltunk a humorális immunválszban a természetes eredetű xantofillkiegészítésben részesülő japán fürjek vérében, mivel a vörösvérsejt-BSA-antigén komplexszel szemben nagyobb IgY-titert és HAG-értéket mértünk.

## KÖVETKEZTETÉS

A bemutatott vizsgálatok bebizonyították, hogy a bársonyvirágból származó természetes oxi-karotinoidok többségét adó lutein a tojás sárgájának és a bőr színének sárgára színezése mellett fokozhatja az humorális immunválszt japán fürjben.

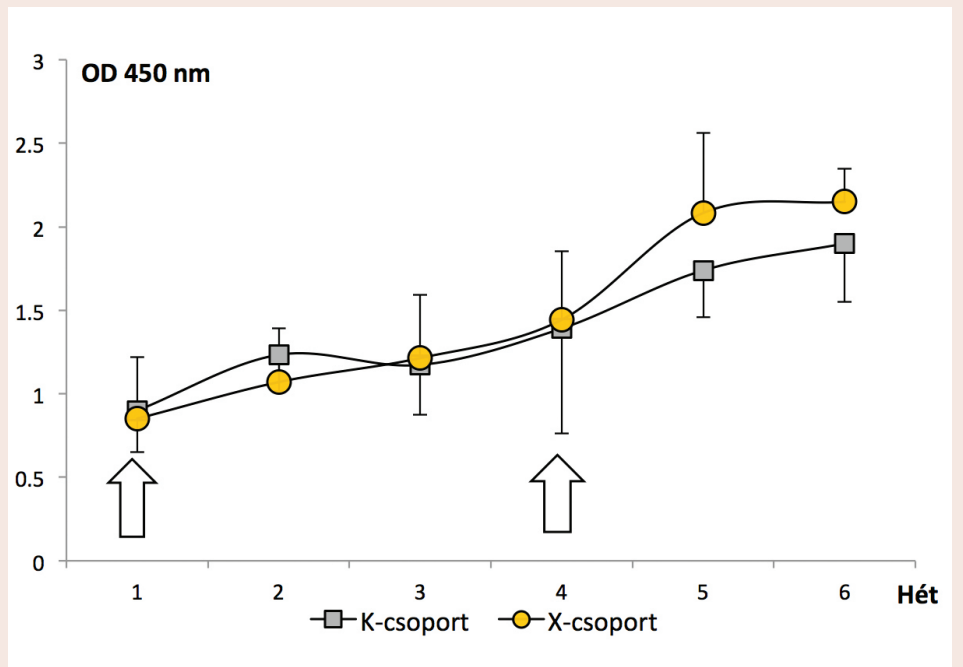
**5. ÁBRA.** A kezelt és kontrollcsoportokban gyűjtött tojások összesített YCF-értékei a kísérlet alatt ( $p < 0,05$ )

**FIGURE 5.** Differences of yolk colours throughout the experiment ( $p < 0.05$  between K and X groups)



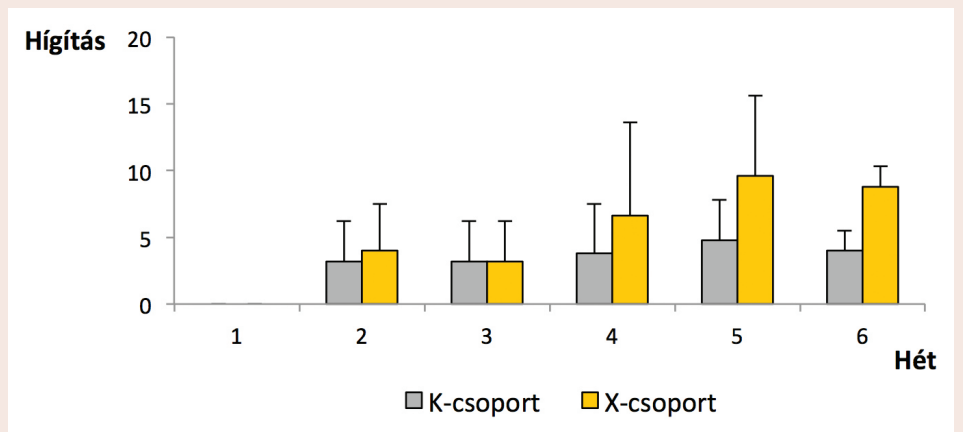
**6. ÁBRA.** Szérum IgY-titerek  
Az immunizálásokat nyilak jelölik

**FIGURE 6.** Serum titres of IgY in control (group K, □) and xanthophyll supplemented (group X, ●) of Japanese quails  
Arrows indicate immunizations



**7. ÁBRA.** Hemagglutinációs titerek ( $x \pm s$ )

**FIGURE 7.** Titres of haemagglutination ( $x \pm s$ )



## IRODALOM

1. ALLAN, W. H. – GOUGH, R. E.: A standard haemagglutination inhibition test for Newcastle disease. A comparison of macro and micro methods. *Vet Rec.*, 1974. 95. 120–123.
2. CHANDRA, R. K.: Effect of vitamin and trace element supplementation on immune responses and infection in elderly subjects. *Lancet*, 1992. 340. 1124–1127.
3. CHEW, B. P. – PARK, J. S.: Carotenoid Action on the Immune Response *J. Nutr.*, 2004. 134. 254–261.
4. CHEW, B. P. – WONG, M. W. – WONG, T. S.: Effects of lutein from marigold extract on immunity and growth of mammary tumors in mice. *Anticancer Res.*, 1996. 16. 3689–3694.
5. CRAWFORD, R. D.: Poultry Breeding and Genetics. In: CRAWFORD, R. D. (ed.): *Developments in animal and veterinary sciences*, 22. Elsevier. Amsterdam, 1990. 152–153.
6. GOODMAN, M. – WOLFE, H. R. – NORTON, D.: Precipitin Production in Chickens. VI. The effect of varying concentrations of NaCl on precipitate formation. *J. Immunol.*, 1951. 66. 225–236.
7. HAQ, A. U. – BAILEY, C. A. – CHINNAH, A.: Effect of beta-carotene, canthaxanthin, lutein, and vitamin E on neonatal immunity of chicks when supplemented in the broiler breeder diets. *Poult. Sci.*, 1996. 75. 1092–1097.
8. HONG, W. K. – CHEW, B. P. et al.: Modulation of humoral and cell-mediated immune responses by dietary lutein in cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2000a. 73. 331–341.
9. HONG, W. K. – CHEW, B. P. et al.: Dietary lutein stimulates immune response in the canine. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2000b. 74. 315–327.
10. HUGHES, D. A.: Effects of dietary antioxidants on the immune function of middle-aged adults. *Proc. Nutr. Soc.*, 1999. 58. 79–84.
11. HUGHES, D. A. – WRIGHT, A. J. A. et al.: Effects of lycopene and lutein supplementation on the expression of functionally associated surface molecules on blood monocytes from healthy male nonsmokers. *J. Infect. Dis.*, 2000. 182. S11–S15.
12. KERTI, A. – BÁRDOS, L.: Simultaneous determination of retinoids (retinol, retinyl-palmitate) carotenoids (lutein, zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin, lycopene,  $\beta$ -carotene) and vitamin E by RPHPLC. *Clin. Exper. Lab. Med.*, 2006. 32. 106.
13. KERTI A. – PÓTI P. – PAJOR F. – BÁRDOS L. (2012): A tojássárgája és a tojássárgájapor lutein- és zeaxantintartalmának jelentősége az öregkori sárgafolt-degeneráció megelőzésében. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2012. 134. 628–634.
14. KEVIN, J. – MCGRAW, K. J. – ARDIA, D. R.: Immunoregulatory activity of different dietary carotenoids in male zebra finches. *Chemoecology*, 2004. 14. 25–29.
15. KISS, Zs. – BÁRDOS, L. – SZABÓ, Cs. – LENGYEL, L. – SZABÓ, M.: Effect of beta-carotene supplementation on plasma and yolk IgY levels induced by NDV vaccination in Japanese quail. *Int. J. Ntr. Res.*, 2003. 73. 285–289.
16. LEESON, S. – CASTON, L.: Enrichment of eggs with lutein. *Poultry Sci.*, 2004. 83. 1709–1712.
17. LOSONCZY, S. – SZABÓ, Cs. – KISS, Zs. – BÁRDOS, L.: Application of an anti-HQIgY antibody for the measurement of IgY concentration of hen's and quail's serum and yolk. *Acta Physiol. Hung.*, 1999. 86. 253–258.
18. MILLER, N. J. – SAMPSON, J. et al: Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett.*, 1996. 384. 240–242.
19. PARK, J. S. – CHEW, B. P. – WONG, T. S.: Dietary lutein absorption from Marigold extract is rapid in BALB/c mice. *J. Nutrition*, 1998. 128. 1802–1806.
20. PELUC, S. I. – REED, W. L. et al.: Carotenoid supplementation and GnRH challenges influence female endocrine physiology, immune function, and egg-yolk characteristics in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *J. Comp. Physiol. B*, 2012. 182. 687–702.
21. PEREZ-VENDRELL, A. M. – HERNANDEZ, M. et al.: Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance. *Poult. Sci.*, 2001. 80. 320–326.
22. RIBAYA-MERCADO, J. D. – BLUMBERG, J. B.: Lutein and zeaxanthin and their potential roles in disease prevention. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2004. 23. 567–587.
23. SKLAN, D. – YOSEFOV, T. – FRIEDMAN, A.: The effects of vitamin A,  $\beta$ -carotene and canthaxanthin on vitamin A metabolism and immune responses in the chick. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 1989. 59. 245–249.
24. SOWELL, A.L. – HUFF, D.L. et al.: Retinol,  $\alpha$ -tocopherol, lutein/zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin, lycopene,  $\beta$ -carotene, trans- $\beta$ -carotene, and four retinyl esters in serum determined simultaneously by reversed-phase HPLC with multiwavelength detection. *Clin. Chem.*, 1994. 40. 411–416.
25. SZABÓ Cs. – JUNG I. – BÁRDOS L.: A kantaxantin hatása a japán fűj immunválaszára. *Anim. Welfare. Ethol. Housing Systems*, 2011. 4. 397–403.
26. TOYODA, Y. – THOMSON, L. R. et al.: Effect of dietary zeaxanthin on tissue distribution of zeaxanthin and lutein in quail. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, 2002. 43. 1210–1221.
27. UNANUE, E. R. – CEROTTINI, J. C.: Antigen presentation. *FASEB J.*, 1989. 3. 2496–2502

Közlésre érke.: 2015. jún. 11.