

KAROTENOİTLER VE SAĞLIK

CAROTENOIDS AND HEALTH

Alper GÖKBULUT* **Engin ŞARER**

Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan
Ankara/TÜRKİYE

ÖZET

Karotenoitler; bitkiler, diğer fotosentetik organizmalar (algler, funguslar) ve fotosentez yapamayan bazı maya ve küflerce sentezlenen tetraterpenik yapıda organik pigmentlerdir. Bu bileşikler fotosentetik organizmalarda bulunmakta ve sarıdan kırmızıya çoğu meyve ve çiçeğin rengini vermektedirler. Hayvanlar karotenoitleri sentezleyemezler ve bu bileşikleri diyetleri ile sağlamak zorundadırlar. Karotenoitler ticari olarak gıda boyası ve besin takviyesi olarak kullanılmaktadırlar. Özellikle, antioksidan aktiviteleri ve kronik hastalıklar üzerinde terapötik özelliklerinden dolayı daha çok ilgi çekmektedirler. Bu derlemede; karotenoitlerin yapısı, biyosentezi ve biyolojik sistemler üzerine etkileri özetlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Karotenoitler, Karotenoit biyosentezi, Biyolojik aktivite

ABSTRACT

Carotenoids are tetraterpenic organic pigments which are synthesized in plants and other photosynthetic organisms as well as in some non-photosynthetic molds and yeasts. These compounds exist in photosynthetic organisms and assign the colors of most fruits and flowers from yellow to red. Carotenoids can not be synthesized by animals and have to be provided through their diet. Carotenoids are commercially used as dietary supplements and food dyes. Especially, due to their antioxidant activities and therapeutical properties on chronic diseases, they are receiving more attention. In this review, structure, biosynthesis and effects on biological systems of carotenoids were summarized.

Key words: Carotenoids, Carotenoid biosynthesis, Biological activity

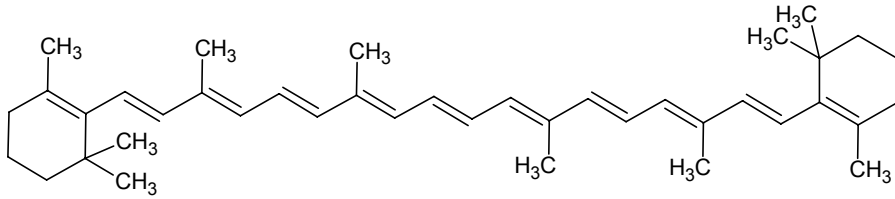
*Corresponding Author
Tel: +90(312)2033106
Fax: +90(312)2131081
e-mail: gokbulut@pharmacy.ankara.edu.tr

GİRİŞ

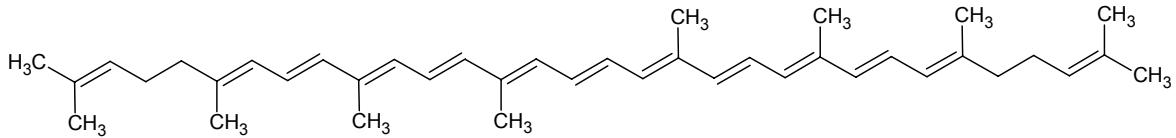
İnsan sağlığı açısından faydaları uzun zamandır bilinen ve kronik hastalıklar üzerinde koruyucu ve tedavi edici potansiyele sahip olan karotenoitler günümüzde ilgi odağı durumundadırlar. Son yıllarda, karotenoit bileşikleri üzerinde gelişmiş teknikler kullanılarak yoğun çalışmalar yapılmış ve insan sağlığı üzerine birçok yeni etkiler saptanmıştır. Karotenoitlerin bu etkileri ne şekilde gösterdiği üzerinde durulmuş ve kapsamlı araştırmalar sonucunda yeni görüşler ileri sürülmüştür. Bu derlemede, son literatür verileri ışığında karotenoit bileşiklerinin yapısı, biyosentezi, biyolojik sistemler üzerindeki etkileri ve insan sağlığı açısından önemi vurgulanmaktadır.

Karotenoitler, genellikle 8 izopren ünitesinin birleşmesi ile oluşmuş izoprenoitlerdir. Karotenoit moleküllerinin en göze çarpan özelliği; 3-15 konjuge çifte bağdan oluşan uzun polien zinciridir. Kromoforun uzunluğu molekülün absorpsiyon spektrumunu ve rengini belirlemektedir. Bilinen 600 kadar karotenoit vardır. Karotenoitler kimyasal yapılarına göre iki grupta incelenir:

Karotenler; yapısında oksijen atomu içermeyen, karbon ve hidrojen atomları taşıyan karotenoitlerdir; α -karoten, β - karoten, likopen vb. (Şekil 1, 2).

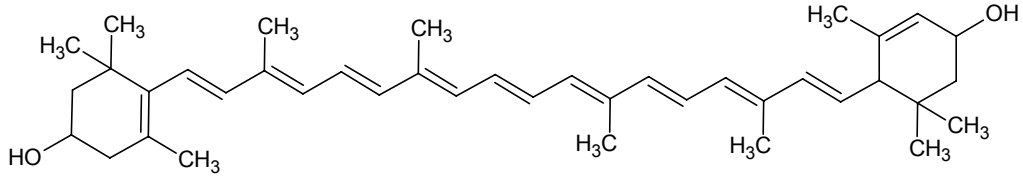


Şekil 1. β - karoten

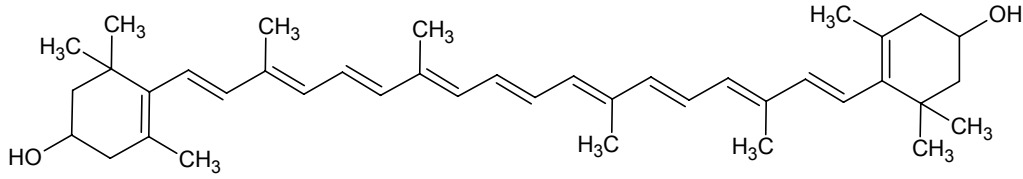


Şekil 2. Likopen

Ksantofiller; yapısında en az bir oksijen atomu içeren, hidroksil ve keton grupları içerebilen karotenoitlerdir; lutein, zeaksantin, kantaksantin, astaksantin vb. (Şekil 3, 4).



Şekil 3. Lutein



Şekil 4. Zeaksantin

Karotenoitler sıklıkla halka yapılarıyla sonlanan 35-40 karbonlu polien zinciri ile karakterizedirler. Başlıca biyokimyasal fonksiyonları, renklerinden de sorumlu olan uzun konjuge çifte bağlara dayanmaktadır. Çifte bağların sayısı arttıkça, konjuge sistemlerle etkileşen elektronlar daha çok yer değiştirme olanağı bulmakta ve daha az enerji sarfetmektedir. Bu da absorblanan ışığın enerji seviyesinin düşük olmasına yol açmaktadır. Karotenoit bileşiklerinin sıklıkla kırmızı renkte olması bu şekilde açıklanabilir. Karotenoitler isimlendirilirken genellikle izole edildikleri kaynakla ilişkilendirilirler (β -karoten-*Daucus carota*) (1-4).

KAROTENOİTLERİN BİYOSENTEZİ

Klasik biyokimyasal yaklaşımlardan yararlanarak, spesifik inhibitörler ve yolağın belli basamaklarında mutantlar kullanılarak karotenoit oluşumunun biyosentez yolağı 1950 ve 1960'lı yıllarda aydınlatılmıştır. 1970'li yılların başlarında, biyosentetik enzimlerin çalışılmasına olanak sağlayan *in vitro* sistemler geliştirilmiştir. Modern moleküler genetik tekniklerinin gen izolasyonuna imkan vermesi sonucunda çalışmalar daha detaylı hale gelmiştir ve karotenoit biyosentezinin düzeni ile süreçte yer alan enzimler hakkında bilgiler artmıştır (5). Son verilere göre bitkilerde karotenoit oluşumundan sorumlu reaksiyon basamakları şu şekildedir:

İzopentenil Difosfat Oluşumu

Yüksek bitkilerde karotenoitler plastitlerde sentezlenir ve lokalize olur. Bunlar biyosentetik olarak gibberelinler, tokoferoller ve klorofiller gibi diğer izoprenoitlere 5 karbon atomlu (C_5)

izopentenil difosfat (IPP) bileşiği ile bağlanırlar.1950'li yıllarda mevalonat yolağının keşfi ile IPP'nin mevalonik asit (MVA) ile asetil-CoA'dan sentezlendiği düşünülmüş fakat yapılan deneyler sonucunda, plastitten türevlendirilmiş izoprenoitlerin MVA yolağı ile sentezinde bir takım sorunlar ile karşılaşmıştır. 1990'lı yıllarda yapılan retro-biyosentetik çalışmalar, IPP ve dimetilallil difosfat'ın (DMAPP) MVA'dan bağımsız yolda sentezlenebileceğini göstermiştir. Fonksiyonel genomiklerin kullanımı bitkilerde ve birçok bakteride MVA'dan bağımsız yolağın aydınlatılmasını sağlamıştır.

MVA'dan bağımsız yolağının ilk basamağı, piruvattan türevlendirilmiş tiamin'in D-gliseraldehit-3-fosfat'ın (G3P) C₁ aldehit grubu ile kafa kafaya kondensasyonu sonucu 1-deoksi-D-ksiluloz 5-fosfat (DXP) bileşiğinin oluşumudur. Bu transketolaz reaksiyonu DXP sentetaz enzimi ile katalizlenmektedir. DXP bileşiği de DXP redüktoizomeraz enzimi vasıtasıyla redüksiyon sonucu 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfat (MEP) bileşiğine dönüşür. Takip eden reaksiyonlar sonucunda MEP bileşiği, IPP ve DMAPP yapılarını meydana getirir (5-7).

İzopentenil Difosfat'tan Fitoen Oluşumu

Geranil geranil pirofosfat (GGPP), C₅ izopren ünitelerinden oluşmuş C₂₀ bileşiğidir. Zincir uzamasının başlatılması amacı ile IPP (C₅) allilik izomeri olan DMAPP'ye dönüşür. IPP ve DMAPP' nin kondensasyonu sonucu C₁₀ molekülü olan geranil pirofosfat (GPP) meydana gelir. IPP'nin GPP'ye eklenmesi ile C₁₅ bileşiği olan farnesil pirofosfat (FPP) oluşur. Yine IPP ilavesi ile GGPP bileşiği meydana gelir. İki molekül GGPP kondanse olarak ara ürün olan pre-fitoen pirofosfatın oluşumunu sağlar. Bunu takiben difosfat grubunun eliminasyonu ve stereospesifik protonun yapıdan ayrılması sonucu fitoen (C₄₀) bileşiği oluşur (8).

Desatürasyon ve İzomerizasyon Reaksiyonları

Bir seri konjuge karbon-karbon çifte bağları, karotenoit pigmentlerinin kromofor gruplarını oluşturmaktadır. Bu çifte bağlar fitoen yapısına bir dizi desaturasyon reaksiyonu sonucu yerleşmektedir ve dört desatürasyon ürünü oluşturmaktadır. Bunlar sırasıyla, fitofluen, ξ-karoten, neurosporen ve likopen'dir. Genişlemiş kromofor grupları renksiz fitoen bileşiğini kırmızı likopen bileşiğine dönüştürmektedir (9).

Siklizasyon

Karotenoit siklizasyonu, asiklik prekürsörün her iki ucunda altı üyeli halka oluşumu ile sonlanır. Tipik olarak siklizasyon için prekürsör likopen'dir (9).

Ksantofil Oluşumu

Hidroksilasyon, epoksidasyon ve de-epoksidasyon basamakları ile yürümektedir (10).

KAROTENOİTLERİN BİYOLOJİK ETKİLERİ

Karotenoitler çok önemli biyolojik etkilere sahiptir. En belirgin etkileri arasında, antioksidan etki, provitamin A etkisi, antikanser etki, cilt koruyucu etki vb. bulunmaktadır. Bu etkiler çok çeşitlilik göstermektedir:

Provitamin A Etkisi

Karotenoitler provitamin A ve non-provitamin A bileşiklerine dönüşebilmektedirler. Batı diyetindeki başlıca provitamin A karotenoiti β -karoten'dir, bununla birlikte α -karoten ve β -kriptoksantin de A vitamini kaynağıdır ve A vitamini yetersizliğini önler. A vitamini; büyüme, embriyo gelişimi ve görme fonksiyonlarını düzenleme gibi birçok önemli aşamada rol almaktadır. Meyve ve sebzelerden temin edilen karotenoitler, üçüncü dünya ülkelerinde A vitamini gereksiniminin % 70'ini karşılamaktadır ki bu oranın batı dünyasında daha düşük olduğu saptanmıştır. Biyoyararlanım ve metabolizma, gıda ortamına, karotenoit içeren gıdanın hazırlanışına, gastrointestinal sistem bozukluklarına, A vitamini seviyesine ve kötü beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Farklı substratlara hedeflenen farklı enzimlerin de karotenoitlerin apokarotenoitlere ve retinale metabolize olmasında çok etkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca biyolojik yapının genetik özellikleri de bu sistemi etkilemektedir (11,12).

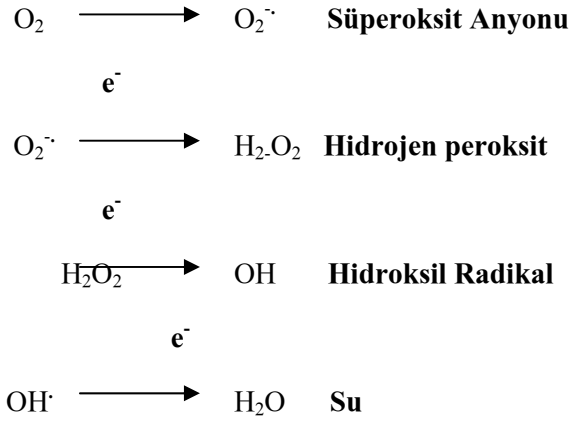
Memelilerde A₁ vitamini (retinol), diyetle alınan β -karoten'in oksidatif metabolizması ile elde edilmektedir. Bölünme O₂'e bağlı dioksijenaz ile katalizlenmektedir. A₂ vitamini (dehidroretinol), sikloheksadien halka sistemi taşıyan bir retinol analogudur. Retinol ve türevleri sadece hayvansal ürünlerde bulunmaktadır (11).

Provitamin A aktivitesi karotenoitlerin en iyi kanıtlanmış fonksiyonudur. β -karoten, zeaksantin ve β -kriptoksantin gibi terminal β -halka grupları içeren kısıtlı sayıda karotenoit bu etkiden sorumlu olarak görülmektedir. Bu karotenoitler diyetle alındığında intestinal 15-15'-dioksijenaz tarafından parçalanarak retinal ve bu gibi türevlere dönüşmektedir. Günümüzde bilinmektedir ki, β -karoten'in mono-oksijenaz tipi reaksiyonla merkezi parçalanma sonucu yine retinal ve benzeri bileşikler meydana gelmektedir. β -halka karotenoitlerinin simetrik olarak parçalanması dışında asimetrik olarak parçalanması da söz konusudur. Bu asimetrik parçalanma ürünlerine örnek olarak; 9' ve 10' çifte bağın parçalanması ile retinoik asit prekürsörleri olan β -iyonon ve β -apo-10'-karotenol bileşikleri oluşmaktadır. İlginç olarak; 9', 10'-dioksijenaz, likopen gibi halka yapısı içermeyen karotenoitleri de parçalayabilmektedir (13).

Gelişmiş ülkelerde, yağlarda bulunan 6 µg ve karışık gıdalarda bulunan 12 µg β-karoten, 1 µg retinol ile aynı oranda A vitamini aktivitesine sahiptir. Gelişmekte olan ülkelerde ise aynı etki 2 misli β-karoten tüketilerek sağlanmaktadır (14).

Antioksidan Etki

Oksidatif stres, serbest radikallere ve diğer oksidan bileşiklere maruziyet sonucunda normal fonksiyonları sürdürebilme ve hatta yaşamı devam ettirme çabası olarak tanımlanmaktadır. Radikal ise, eşleşmemiş elektronu bulunan atom veya atomlar grubudur. Serbest radikaller dış yörüngelerinde eksik elektrona sahiptir ve yüksek oranda reaktiftir. Hücrelere zarar verip öldürebilmekte, organizmada lezyonlara sebep olabilmektedirler. Oksijen radikalleri ve metabolitlerinin oluşumu;

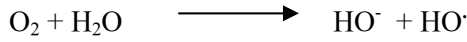
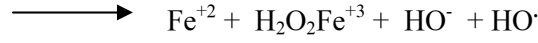
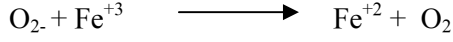


Hidroksil radikali (OH·) en zararlı serbest radikaldir. Saniyenin çok kısa bir diliminde var olmalarına karşın, vital enzimleri yok edebilmekte, DNA'ya bağlanabilmekte, proteolitik enzimleri salıvermekte, polisakkaritleri yırtarak ayırmakta, membran geçirgenliğini bozarak lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Serbest radikallerin oluşumunda belli başlı reaksiyonlar ise şunlardır:

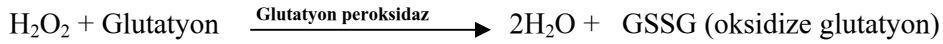
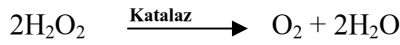
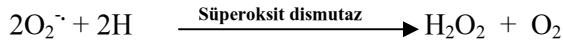
Haber Weiss Reaksiyonu



Fenton Reaksiyonu



Bazı enzimatik antioksidanlar, normal metabolik olaylar sonucu oluşan oksijenin reaktif ürünlerinin yol açtığı oksidatif hasarı engellemektedirler.



Likopen ve diğer karotenoitlerin oksijen radikallerini baskılayıcı etkisi hem fiziksel hem de kimyasal anlamda gerçekleşmektedir. Fiziksel baskılama esnasında karotenoit yapısı bozulmadan kalırken, kimyasal baskılamada karotenoit yapısı dekompoze olmaktadır. Fiziksel baskılamada eksitasyon enerjisi oksijenden karotenoite geçmekte, topraklanmış oksijen ve triplet halde uyarılmış karotenoit oluşmaktadır. Oluşan fazla enerji ortamdaki çözücü ya da yapılarla rotasyonel ve vibrasyonel etkileşime girerek ısı şeklinde yok olmaktadır. Topraklanan karotenoit yeniden oksijen yakalamak üzere hazır hale gelmektedir. Karotenoitin oksijen yakalama kapasitesi doğrudan yapısındaki konjuge çifte bağlarla alakalıdır (15).

Reaktif oksijen ve azot molekülleri, aerobik metabolizma ve patolojik olaylar sonucunda meydana gelmektedirler. Bunlar; yağlar, DNA veya proteinler gibi biyolojik yönden önemli moleküllere zarar vermektedirler ve dejeneratif hastalıkların patolojik etkenleridir. Karotenoitler, birçok savunma stratejisi arasında, reaktif oksijen moleküllerinden iki tanesi olan singlet oksijen

molekülü ($^1\text{O}_2$) ve peroksil radikallerini süpürücü etkiden sorumludurlar. Singlet oksijen ve radikallerin oluşumundan sorumlu olan elektronik olarak uyarılmış hassaslaştırıcı molekülleri etkili olarak deaktive etmektedirler. Karotenoitler, singlet oksijen baskılamasını fiziksel veya kimyasal olarak gerçekleştirirler. Fiziksel baskılamada, eksitasyon (uyarılma) enerjisi $^1\text{O}_2$ 'den karotenoite aktarılmakta bunun sonucunda en düşük enerji seviyesine sahip oksijen ile uyarılmış triplet karotenoit meydana gelmektedir. Enerji, uyarılmış karotenoit ile çevresindeki çözücü arasında baskılanmakta ve karotenoit uyarılmış durumdan kurtulup, enerji "termal enerji" olarak açığa çıkmaktadır. Fiziksel baskılama sürecinde karotenoit yapısı bozulmaz ve başka singlet oksijenleri bağlamak için kullanılabilir. Karotenoitlerin singlet oksijen ile reaksiyonları için verilen hız sabiti $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ aralığında olup, difüzyon kontrole yakın olarak verilmektedir. β -karoten ve diğer karotenoitler en verimli doğal $^1\text{O}_2$ bağlayıcılarıdır ve bu etkileri molekülde bulunan konjuge çifte bağların sayısı ile ilişkilidir. Karotenoitler peroksil radikallerini kuvvetli süpürücü etki gösterirler ve lipit peroksidasyonuna karşı savunma mekanizmasına katkıda bulunurlar. Bazı özel durumlarda da karotenoitler prooksidan gibi davranabilirler (16-18).

Organizmanın antioksidan savunma sistemi hayli karmaşık yapıda olup birçok enzimatik ve non-enzimatik antioksidanları içermektedir. Antioksidan aktiviteye sahip yapısal olarak farklı bileşikler arasındaki etkileşim oksidatif strese karşı ek bir koruma sağlamaktadır. UV-A ile indüklenmiş fotooksidatif stres, ana bileşeni β -karoten olan antioksidan kombinasyonu uygulanarak sinerjik etkileşimler açısından insan fibroblastları üzerinde incelenmiştir. E vitamini, C vitamini ve β -karoten birlikte reaktif azot türlerine karşı sinerjik aktivite göstermişlerdir. β -karoten ve α -tokoferol arasındaki etkileşim de membran modeli üzerinde incelenmiş ve bu antioksidan bileşiklerin kombine halde belirgin antioksidan aktivite gösterdikleri saptanmıştır (19-22).

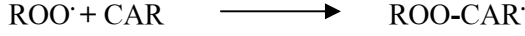
Karotenoit Radikal Etkileşimleri

Karotenoit radikal etkileşimleri incelenirken üç başlık üzerinde durulmaktadır. Bunlar, karotenoitlerin reaksiyona girip girmedikleri, karotenoit radikal etkileşimi sonucu ne gibi ürünlerin oluştuğu ve bu etkileşim sonucu biyolojik bir aktivitenin gözlenip gözlenmediğidir. Yıllardan beri bilinen bir gerçek; karotenoitlerin radikallere ya da oksitleyici ajanlara maruz kalmaları durumunda renklerini kaybettikleridir.

Karotenoitlerin radikal türleri ile reaksiyonu ile ilgili olası üç mekanizma sözkonusudur:

Radikal ilavesi, radikale elektron transferi ve allilik hidrojen kaybı.

Radikal İlavesi: Burton ve Ingold ilk olarak bu ekleme reaksiyonu üzerinde durmuşlardır. Karotenoitin polien zincirine (CAR) herhangi bir konumdan lipit peroksil radikali (ROO \cdot) eklendiğinde karbon merkezli bir radikalın (ROO-CAR \cdot) oluştuğu saptanmıştır.

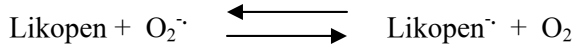


Bu reaksiyon sonucunda, radikal rezonans-stabil hale geçmekte ve bu da karotenoitlerin antioksidan etkisine açıklık getirmektedir. Fakat bu reaksiyonu takip eden basamaklar halen kesin olarak anlaşılamamıştır. Karotenoitlerin antioksidan etkisinin, oksidatif strese bağımlı olması nedeniyle peroksil radikali-karotenoit (ROO-CAR \cdot) kompleksinin yeni bir reaktif oksijen radikali oluşturmak üzere O₂ molekülü ile tersinir reaksiyona girebileceği düşünülmektedir (23).

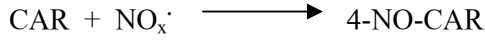


O₂'nin yeterince yüksek kısmi basıncı sağlandığında karotenoit peroksil radikali oluşan peroksil bağının parçalanması ile ek radikaller meydana getirebilmektedir. O₂ bağımlı bu basamak sıklıkla, teorik olarak tükettiğinden daha çok radikal meydana getirerek pro-oksidan etkiye yol açabilmektedir. Yüksek oksijen geriliminde karotenoitlerin pro-oksidan aktivite gösterdiğine dair yayınlar bulunmaktadır. Araştırmacılar, düşük kısmi basınçta karotenoitlerin peroksil radikallerinin oluşturduğu substrat oksidasyonunu engelleyerek kuvvetli antioksidan aktivite gösterdiğini buna karşın oksijen konsantrasyonunda artış olduğunda oluşan ikincil oksijen nedenli peroksil radikalının yüksek kısmi basınçta antioksidan etkinin kaybolmasına sebep olabileceğini yayınlamışlardır (24).

Elektron Transferi: Elektron transferi reaksiyonu sonucunda; katyon radikali (CAR⁺) ve anyon radikali (CAR⁻) gibi karotenoit radikalleri veya alkil radikali (CAR \cdot) oluşumu gözlenir. Karotenoit katyon radikali hızlı spektroskopik bir teknik olan "lazer flaş fotoliz" ile saptanabilmektedir. Bu radikal fotosistem üzerinde yapılan çalışmalarda gözlenmiştir ve fotosistem II'de ışıktan korunma mekanizmalarında yer almaktadır. Buna zıt olarak, likopen süperoksit radikali (O₂⁻) ile reaksiyona girdiğinde elektron transferi sonucu anyon reaktifi (CAR⁻) oluşmaktadır (25).



Allilik Hidrojen Kaybı: Baker ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, β -karoten'in sigara dumanına maruz kalması sonucunda allilik hidrojen kaybı sonucu 4-nitro- β -karoten meydana gelmiştir (26).



β -karoten'in otooksidasyonu veya radikal ajanlara maruziyeti sonucunda karbonil türevleri ve epoksitlerin oluşumu gözlenmiş ve β -APO-8'-karotenol, β -APO-10'-karotenol, β -APO-12'-karotenol, β -APO-14'-karotenol, β -APO-15-karotenol (retinal) ve β -APO-13-karotenon gibi yapılar ortaya çıkmıştır (27).

Antikanser Etki

In vitro hücre kültürü çalışmaları göstermektedir ki; karotenoitler, hücre proliferasyonunu, transformasyonunu ve mikro çekirdek oluşumunu inhibe etmektedir. Bu özellik karsinogeneze karşı koruyucu etkiden sorumlu olarak görülmektedir (28). Bazı karotenoitler, doza bağımlı olarak gap bağlantı iletişimini artırmaktadır. Gap bağlantıları; hücreleri birbirine bağlayan ve küçük molekül ağırlıklı maddelerin geçişini sağlayan hücrelerarası kanallardır. Bunlar, küçük su dolu gözeneklerden oluşmakta ve komşu hücrelerin sitoplazmaları arasında doğrudan bağlantı kurmaktadır. 1000 Da'dan küçük, suda çözünebilir maddelerin geçişine olanak sağlamaktadırlar. Her bir bağlantı "konnekson" adını almakta ve 6 konneksin proteininin birleşmesi ile oluşmaktadır (29).

Karsinogenezin en önemli nedenlerinden birinin gap bağlantı iletişiminin azalması olduğu öngörülmektedir. Gap bağlantıları ile hücreler arası iletişimin artırılması, karotenoitler ve retinoitler sayesinde gerçekleşmektedir ve kimyasal olarak yapı değiştirmiş hücrelerin büyümesinin inhibisyonu söz konusudur. Tümörsüz hücreler gap bağlantısı sayesinde iletişim kurarken, çoğu tümörlü hücreler fonksiyonunu yitirmiş homolog yada heterolog gap bağlantılarına sahiptir. Sonuç olarak; karotenoitler antioksidan özelliklerinden dolayı gap bağlantı iletişimini doza bağlı olarak stimule etmektedirler. Bu stimülasyonun biyokimyasal mekanizması henüz açıklanamamaktadır. Hücre kültürü çalışmaları sonucunda, karotenoitlerin merkezi bölünme ürünleri gap bağlantı iletişime neden olan aktif bileşikler olarak düşünülmektedir. Likopen esas gap bağlantı proteinini

kodlayan konneksin 43 genini çoğaltarak hücreler arasındaki gap bağlantı iletişimini artırmakta ve antikarsinojen olarak rol oynamaktadır. Likopen'in gap bağlantı iletişimini artırıcı özelliği ile singlet oksijen süpürücü etkisinin birbirinden bağımsız etkiler olduğu ortaya konmuştur (30-32).

Karotenoit türevlerinin antikanser aktiviteleri retinoit reseptörlerin aktivasyonu ile de ilişkilidir. Aynı zamanda likopen ve β -karoten'in parçalanma ürünleri de bu aktiviteden sorumlu olarak görülmektedir. Likopen, meme (MCF-7), endometrial, akciğer (NCI-H226) ve diğer bazı kanser hücrelerinin proliferasyonunu çok kuvvetli bir şekilde inhibe etmektedir. İnsülin benzeri, büyüme faktörü I stimule büyümeyi baskılamaktadır. Buna ek olarak, farelere transplante edilmiş KB-1 insan oral tumor hücrelerinin ve C-6 glioma hücrelerinin büyüme ve gelişimini inhibe etmektedir (30,33).

Akciğer kanseri;

1960'lı yıllarda akciğer kanseri ve diğer kanser türleriyle mücadelede sebze ve meyve tüketiminin çok önem arz ettiği birçok çalışmada belirtilmiştir. β -karoten'in bu etkiden sorumlu olduğu düşünülmüş fakat direkt bir ilişki kurulamamıştır. 1980'li yıllarda bu konunun üzerine gidilmiş ve yapılan çalışmalar sonucunda β -karoten'in akciğer kanseri riskini azaltmadığı, aksine Finli erkek sigara tiryakileri üzerinde yapılan bir çalışmada akciğer kanseri riskinin arttığı, bunun sebebi olarak da β -karoten'in antioksidan etkiden ziyade pro-antioksidan etki gösterdiği düşünülmüştür. Daha güncel çalışmalarda ise Wright ve arkadaşları spesifik bir karotenoit yerine çok çeşitli sebze ve meyvelerin tüketiminin, akciğer kanseri riskini azalttığı üzerinde durmaktadır. Bu da sinerjik etkinin önemini ortaya koymaktadır (34-38).

Göğüs kanseri;

1997'de yapılan 16 vaka-kontrol çalışmasında β -karoten'in göğüs kanseri üzerine etkisi incelenmiş, 11 çalışmada yüksek β -karoten maruziyetinin göğüs kanseri riskini azalttığı; bu 11 çalışmanın özellikle 4'ünde belirgin etki gösterdiği, geri kalan 5 çalışmada ise etki göstermediği yayımlanmıştır. Daha güncel bir çalışmada, yüksek likopen seviyelerinin düşük kanser riskine neden olduğu belirtilmiştir. Likopen'in göğüs kanseri üzerindeki etki mekanizmasının; hücre siklusu ilerleyişini G1 fazında inhibe ederek göstermekte olduğu bildirilmiştir. Buna karşılık; Kanada'lı bayanlar üzerinde yapılan geniş çaplı bir çalışmada, karotenoitlerin diyetle alınımı ile göğüs kanseri riski arasında herhangi bir bağlantı kurulamamıştır (39-42).

Prostat kanseri;

Yapılan güncel çalışmalarda, domates ve domates ürünlerinin tüketiminin prostat kanseri riskini azalttığı saptanmıştır, fakat likopen'in tek başına bu etkiden sorumlu olup olmadığı

konusunda halen şüpheler mevcuttur. Bitkide bulunan diğer karotenoitler ve fitokimyasalların da bu etkiden sorumlu olabileceği üzerinde durulmaktadır. İlginç olarak, yüksek miktarda domates diyetinin prostat kanserli hastalarda lökosit oksidatif DNA hasarını ve prostat dokusu oksidatif hasarını azalttığı belirtilmiş, bu nedenle domates ve domates ürünlerinin yalnız prostat kanserinin önlenmesinde değil tedavisinde de kullanılabilirliği belirtilmiştir. Prostat LNCaP kanser hücrelerinde yapılan *in vitro* çalışmalar, likopen'in üreme ortamında proliferasyonu azalttığını göstermiştir (43-45).

Kolorektal kanser;

β -karoten alınımının kolorektal kanser riski üzerine etkisi ile ilgili çalışmalarda tutarsız veriler elde edilmiştir. Lutein'in kolon kanseri riskini azalttığı, likopen, zeaksantin ve β -kriptoksantin'in belirgin aktivite göstermediği bildirilmiştir (46, 47).

Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etki

Koroner kalp hastalıkları batı dünyasında ölüm sebeplerinin başında gelmektedir. Oksidatif olarak modifiye olmuş düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ateroskleroza tetikleyici bir unsur olduğu kanıtlanmıştır. Serbest radikallerin LDL oksidasyonuna neden olması sonucu anormal hücre çoğalması da ateroenezin sebebi olarak düşünülmektedir (48). Bu yüzden, antioksidanların LDL oksidasyonunu önleyici etkileri nedeniyle insan koroner kalp hastalıklarına karşı koruma sağlayacağı düşüncesi gündeme gelmiştir. LDL oksidasyonunun ve plak oluşumundaki oksidatif stresin engellenmesi antioksidanların en önemli etkinliği olarak görülmektedir. İşlenmiş domates ürünlerinin oksidatif hasara yol açan lipoprotein hassasiyetini azalttığı bildirilmiştir. Düşük serum likopen seviyesinin de orta yaşlı erkeklerde aterosklerotik damar hastalık riskini artırdığı belirtilmiştir. Sigara içenler içmeyenlere oranla kanda daha düşük β -karoten seviyelerine sahiptir. Ancak aynı durum likopen için söz konusu değildir. β -karoten ve likopen birincil olarak LDL'ye taşındıkları için; bu karotenoitler LDL'yi oksidasyondan koruyabilecek en önemli unsurlar olarak görülmektedir. Antioksidan kaynağı olan gıdaların adipoz doku ve miyokardiyal infarktüs riskine etkisi üzerine yapılan bir çalışmada likopen ve β -karoten'in koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır. Likopen'in insanlar üzerinde koruyucu potansiyelinin olduğu belirtilmiştir (30). Bu literatür verilerinin aksine; meyve ve sebzelerin doğrudan tüketilmesiyle alınan karotenoit kombinasyonları ve diğer antioksidan bileşikler ile elde edilen sonuçların yalnız antioksidan bileşiklerin alınması sonucu oluşan aktiviteden çok daha etkili olduğu ortak bir düşünce olarak dile getirilmiştir (49, 50).

Cilt Koruyucu Etki

β -karoten takviyelerinin oral güneş koruyucusu olarak yaygın şekilde kullanılmasına karşın bu etkiyi destekleyen çalışma sayısı çok azdır. Koruyucu etkiden karotenoitlerin antioksidan aktivitesi sorumlu tutulmaktadır. UV-irradiasyonu sonucu, cilt fotooksidatif hasara maruz kalmakta ve bu da reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Fotooksidatif hasar, hücrel yağları, proteinleri ve DNA'yı etkilemektedir, dolayısıyla eritem oluşumu, cildin prematüre olarak yaşlanması, fotodermatoz gelişimi ve cilt kanseri gibi istenmeyen olaylara neden olmaktadır. Birçok çalışma göstermiştir ki, plazmadaki ve ciltteki karotenoit seviyeleri UV-irradiasyonunu azaltmaktadır. Koruyucu etki incelendiğinde; karotenoit (24 mg total β -karoten/gün) ve E vitamini takviyesi birlikte solar simülatörle oluşturulmuş eritem üzerinde denenmiş ve eritem oluşumu belirgin olarak azalmıştır. Karotenoitlerle birlikte E vitamini kullanımı, eritemin baskılanmasında çok daha etkili olmuştur (51-55).

Domates ezmesiyle (40 g/gün eşdeğer 16 mg likopen/gün) 10 hafta boyunca beslenen kişilerin ciltlerindeki karotenoit seviyesinin yükseldiği ve serum likopen seviyelerinde artış olduğu gözlenmiştir. 10 hafta sonunda kontrol grubu ile kıyaslandığında, domates ezmesi ile beslenen grupta eritem oluşumunda belirgin azalma tespit edilmiştir. Bu çalışma UV ile oluşturulmuş eritemin likopen temelli diyetle iyileştirilebileceğini göstermiştir (56).

Osteoporoz Üzerine Etki

En yaygın metabolik kemik hastalığı olan osteoporozla karşı oksidatif stres ve antioksidanların önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Oksidatif stres hem osteoklastların hem de osteoblastların fonksiyonlarına etkimektedir. Endojen ve sentetik antioksidanlar oksidatif stresin bu hücreler üzerindeki etkilerini azaltmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, özellikle likopen'in oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı koyduğunu göstermektedir ve post menopozal dönemdeki bayanlarda serum likopen seviyesi ile osteoporoz riski arasında direkt bir ilişki bulunduğunu bildirmektedir. Post menopozal dönemdeki bayanlardaki serum likopen seviyeleri, oksidatif stres parametreleri ve toplam kemik markerleri (alkalin fosfataz: kemik oluşturucu, Tip I kollajenin çapraz bağlanmış N telopeptidleri (NT_x): kemik emilimi) incelenmiştir. Serum likopen seviyelerindeki artış, protein oksidasyonunda ve NT_x değerlerinde azalmaya yol açmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda likopen'in antioksidan özelliğinden dolayı osteoporoz riskini azalttığı kanısına varılmıştır (57,58).

Göz Sağlığı Üzerine Etki

A vitamini eksikliği göz kuruluğuna (Xerophthalmia) neden olmaktadır. Diyetle alınan provitamin A karotenoitleri birçok oküler problemi engellemektedir. Katarakt ve maküler dejenerasyon (AMD) gibi ileri yaş hastalıkları yaygın olarak rastlanan göz sorunlarıdır. Her iki durumda da karotenoitler bu hastalıkların insidanslarını azaltmaktadır ve bu etkiyi muhtemelen aktif oksijen moleküllerini yakalayıp göstermektedir. İnsan lens epitelyum hücreleri (HLEC) üzerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda, hücre kültürlerine likopen ilavesi ile HLEC'deki vakolizasyon engellenmektedir. Yüksek dozda lutein ve zeaksantin alan erkeklerde 8 yıl boyunca elde edilen prospektif epiyodemolojik veriler katarakt riskini % 19 oranında azaltmıştır.

Gözde bulunan benekte (makula) lutein ve zeaksantin karotenoitleri birikmektedir. Benzer pigmentler diğer primatlarda da bulunmaktadır. Karotenoitlerce zengin yağ damlacıkları, kuşlarda, sürüngenlerde, balıklarda ve amfibik organizmalarda birikim göstermektedir. Bu karotenoitlerin fotoreseptörlerde oluşan serbest radikalleri yakalayıp ve makulayı ışık nedenli hasardan koruyarak etki gösterdiği düşünülmektedir. Karotenoitlerin diyetle alınması ve AMD ile etkileşimine dair göz hastalıkları vaka-kontrol çalışması yapılmıştır. Karotenoit miktarının (lutein ve zeaksantin) artması ile bu hastalıkların oluşma riskinde belirgin bir azalma olduğu belirlenmiştir. Özellikle AMD oluşumunda çok güçlü olarak riski azaltmıştır (59-64).

KAROTENOİTLERİN DOĞAL KAYNAKLARI VE ELDE EDİLİŞ YÖNTEMLERİ

Karotenoitler doğal yollarla bitkilerden, deniz canlılarından, alglerden, funguslardan izole edilebildiği gibi, sentetik olarak da üretilebilmektedir. Örneğin, β -karoten üretiminin büyük bölümü Amerika Birleşik Devletleri'nde (Teksas) sentetik olarak gerçekleştirilmekte iken, İspanya'da *Blakeslea trispora* adlı fungusun, Avustralya'da ise bir tür deniz yosunu olan *Dunaliella salina*'dan doğal olarak sağlanmaktadır. Likopen ise ticari olarak *Blakeslea trispora*'dan elde edilmektedir.

Karotenoit içeren belli başlı bitkisel kaynaklar arasında; *Allium cepa*, *Beta vulgaris*, *Chenopodium album*, *Daucus carota*, *Mentha spicata*, *Solanum nigrum*, *Piper betle*, *Brassica oleracea*, *Lycopersicon esculentum*, *Rumex acetosella*, *Lactuca sativa*, *Hibiscus cannabinus*, *Tribulus terrestris*, *Citrullus lanatus*, *Nasturtium officinale*, *Eruca sativa*, *Capsicum annuum*, *Cichorium intybus* ve *Prunus armeniaca* bulunmaktadır.

Kompleks yapıları, meyve ve sebzelerdeki geniş yayılımları sebebi ile karotenoitler için spesifik bir ekstraksiyon yöntemi bulunmamaktadır.

Özellikle likopen, α -karoten ve β -karoten'in domates suyundan ekstraksiyonunda en iyi sonuç etanol:*n*-hekzan (4:3) karışımı ile elde edilmiştir. Yine domates suyundan karotenoit ekstraksiyonu için en uygun çözücü sistemleri araştırılırken en iyi sonuçların etanol:*n*-hekzan (4:3) karışımı ile sağlandığı bildirilmiştir (65, 66).

Capsicum annuum bitkisinden ise karotenoitler metanol ekstraksiyonu takiben dietil eter ile muamele edilerek verimli şekilde elde edilmiştir (67).

Bir başka çalışmada *Tagetes erecta* bitkisinden lutein ve zeaksantin ekstraksiyonu hekzan ve etil eter kullanılarak gerçekleştirilmiştir (68).

Cucurbita pepo bitkisinden α -karoten, β -karoten ve lutein, tetrahidrofuran:metanol karışımı kullanılarak elde edilmiştir (69).

Karotenoitlerin tetrahidrofuran ve etil eter içerisindeki çözünürlüğünün çok yüksek olması sebebiyle çoğu araştırmacı bu çözücüleri kullanmıştır. Ancak bu çözücülerin peroksitleri oluşturabileceği ve özellikle β -karoten'i parçalayarak artifaktların oluşabileceği kanısı gündeme gelmiştir. Bu yüzden araştırmacılar bu çözücülerle ekstraksiyon yapılırken bütül hidroksi toluen (BHT) gibi antioksidan özellikte maddelerin ortama ilave edilmesi hususunu tavsiye etmektedirler. Bunun aksine, bir başka grup araştırmacı ise güçlü antioksidanların ilavesinin β -karoten'in otooksidasyonunu tetikleyebileceğini düşünmektedirler (66, 70).

Karotenoitlerin ekstraksiyonu, otooksidasyonun minimum seviyede olabilmesi ve *cis-trans* izomerizasyonun engellenmesi açısından çok hızlı bir şekilde, ışıktan, oksijenden, yüksek sıcaklıktan, prooksidan metallere (demir, bakır) kaçınılması gerekmektedir. Buna ek olarak ekstraksiyon süreci boyunca karotenoit kaybının azaltılması için ortama askorbik asit ve pirogallol gibi antioksidan bileşiklerin ilavesi önerilmektedir (71). Ayrıca ortamda bulunan organik asitlerin nötralizasyonu için numune çözücü karışımına magnezyum ve kalsiyum karbonat ilavesi de tavsiye edilmektedir. Bütün bu aşamalardan sonraki basamak ise karışımın homojenize edilmesi ve karotenoit ekstresinin süzülmesi işlemleridir. Süzme işlemi renk kayboluncaya kadar devam ettirilir. Birleştirilen süzüntüler yoğunlaştırılır ve karotenoitler uygun bir çözücüye veya suya çekilir. Organik faz degradasyonundan kaçınmak için sıcaklık 40°C'yi aşmayacak şekilde uzaklaştırılır. Bazı çalışmalarda ekstraksiyon öncesinde katı faz ekstraksiyon teknikleri kullanılarak yabancı ve istenmeyen maddeler uzaklaştırılmıştır (65, 71).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada, doğayla dost çok az sayıda çözücünün karotenoit ekstraksiyonunda kullanılabildiği, genellikle ekstraksiyon esnasında petrol türevi, insanlar için zararlı çözücülerin kullanıldığı bildirilmiştir. Bu doğrultuda etil laktatın, kurutulmuş domates

tozundan *cis* ve *trans* likopen'in ekstraksiyonunda bazı antioksidan bileşiklerin de ilavesiyle çok verimli bir şekilde kullanıldığı belirtilmiştir. Etil laktat, kurutulmuş ve toz edilmiş beyaz mısır ve havuçtan β -karoten ve lutein ekstraksiyonunda da verimli olarak kullanılmıştır. Etil laktat, karotenoit ekstraksiyonunda sıklıkla kullanılan ve petrol türevi olan etil asetatı göre daha az yanıcı olması ve biyoürün olarak mısır ve soya endüstrisi sonucu elde edilmesi nedeniyle daha avantajlı görülmektedir (72).

SONUÇ

Karotenoit bileşiklerinin, birçok hastalığın oluşumu öncesinde koruyucu olarak, bir kısım hastalıkların da tedavisinde insan sağlığı açısından büyük ölçüde önem taşıdığı, ayrıca normal yaşam fonksiyonlarımızın devamı için de gerekliliği bilinmektedir. Karotenoitlerin biyolojik sistemler üzerindeki etkileri çok çeşitlilik göstermektedir. Karotenoitler üzerinde son yıllarda yeni teknikler kullanılarak yapılan araştırmalar; bu bileşiklerin muhtelif etkileri bazen tek bir madde üzerinden, sıklıkla da karotenoit kombinasyonları ve hatta karotenoit ve diğer antioksidan bileşiklerin birlikte kullanımı sonucunda sinerjik etki ile sağlamakta olduğunu göstermektedir. Bu doğrultuda, bazı çalışmalarda karotenoitlerin etkili oldukları kesin olarak saptanmışken, bazı çalışmalarda ise aksine bu tip bileşiklerin etkisiz olduğu hatta tam ters etki gösterdiği savunulmuştur. Sayıları kısıtlı olan bu tip çalışmalar çarpıcı başlıklarla, özellikle karotenoitlerin en temel etkisi olarak bilim dünyası tarafından kabul görmüş antioksidan etki üzerine bile tartışma unsuru oluşturmuştur. Karotenoitlerin antioksidan etkilerinden ziyade prooksidan bir takım bileşikler olduğu öne sürülmüştür.

Kanımızca; günlük diyetimizle bile önemli ölçüde temin edebileceğimiz karotenoit bileşikleri, taze meyve ve sebzelerde yüksek miktarlarda bulunmaktadır ve bu bileşiklerce zengin, havuç, kayısı, domates, karpuz, guava, tere, marul, brokoli, lahana vb. birçok meyve ve sebzenin beslenme alışkanlığımızda önemli yere sahip olması birçok hastalığın önlenmesinde kilit nokta olarak görülmektedir. Ayrıca bu bileşikleri içeren ürünlerin besin desteği olarak kullanılması da hayli önemlidir. Bu çalışmada, karotenoitlerin yapısı, biyosentezi, biyolojik etkileri, ekstraksiyon yöntemleri ve insan sağlığı açısından önemi, son yıllardaki literatür verileri ışığında detaylı olarak ele alınmıştır.

KAYNAKLAR

1. **Watson, R. R.**, *Vegetables, Fruits and Herbs in Health Promotion*, CRC Pres, New York, p. 139 (2001).
2. **Rao, A. V., Rao, L. G.** “Carotenoids and human health” *Pharm Res*, **55**, 207-216 (2007).
3. **Melendez-Martinez, A. J., Britton, G., Vicario, I. M., Heredia, F. J.** “Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments”, *Food Chem*, **101**, 1145-1150 (2007).
4. **Olson, J.A., Krinsky, N.I.** “Introduction: The colorful fascinating world of the carotenoids: important physiologic modulators”, *FASEB J*, **9**, 1547-1550 (1995).
5. **Fraser, P. D., Bramley, P. M.** “The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids”, *Prog Lipid Res*, **43**, 228-265 (2004).
6. **Eisenreich, W., Rohdich, F., Bacher, A.** “Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids”, *Trends Plant Sci*, **6**, 78-84 (2001).
7. **Rodriguez-Concepcion, M., Boronat, A.** “Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics”, *Plant Physiol*, **130**, 1079-1089 (2002).
8. **Than, A., Bramley, P. M., Davies, B. H.** “Stereochemistry of phytoene”, *Phytochemistry*, **11**, 3187-3190 (1972).
9. **Beyer, P., Kröncke, U., Nievelstein, V.** “On the mechanism of the lycopene isomerase cyclase reaction in *Narcissus-Pseudonarcissus* L. chromoplasts”, *J Biol Chem*, **266**, 17072-17078 (1991).
10. **Bouvier, F., Keller, Y., D'Harlingue, A., et al.** “Xanthophyll biosynthesis: molecular and functional characterization of carotenoid hydroxylases from pepper fruits (*Capsicum annuum* L.)”, *Biochim Biophys Acta*, **1391**, 320-328 (1991).
11. **Stahl, W., Sies, H.** “Bioactivity and protective effects of natural carotenoids”, *Biochim Biophys Acta*, **1740**, 101-107 (2005).
12. **Bone, R.A., Laundrum, J.T., Friedes L.M., Gomez, C.M., Kilburn, M.D., Menendez, E., Vidal, I., Wang, W.L.** “Distribution of lutein and zeaxanthin stereoisomers in the human retina”, *Exp Eye Res*, **64**, 211-218 (1997).

13. **Von Lintig, J., Vogt, K.** “Vitamin A formation in animals: molecular identification and functional characterization of carotene cleaving enzymes”, *J Nutr*, **134**, 251-256 (2004).
14. **West, C. E., Eilander, A., van Lieshout, M.** “Consequences of revised estimates of carotenoid bioefficacy for dietary control of vitamin A deficiency in developing countries”, *J Nutr*, **132**, 2920-2926 (2002).
15. **Ebadi, M.**, *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine*, School of Medicine and Health Sciences, University of North Dakota, CRC Press, New York, p. 491 (2002).
16. **Oshima, S., Ojima, F., Sakamoto, H., Ishiguro, Y., Terao, J.** “Supplementation with carotenoids inhibit singlet oxygen mediated oxidation of human plasma low-density lipoprotein”, *J Agric Food Chem*, **44**, 2306-2309 (1996).
17. **Young, A.J., Lowe, G.M.** “Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids”, *Arch Biochem Biophys*, **385**, 20-27 (2001).
18. **Stahl, W., Sies, H.** “Antioxidant activity of carotenoids”, *Mol Aspects Med*, **24**, 345-351 (2003).
19. **Sies, H.** “Strategies of antioxidant defense”, *Eur J Biochem*, **215**, 213-219 (1993).
20. **Böhm, F., Edge, R., Lange, L., Truscott, T.G.** “Enhanced protection of human cells against ultraviolet light by antioxidant combinations involving dietary carotenoids”, *J Photochem Photobiol*, **44**, 211-215 (1998).
21. **Böhm, F., Edge, R., McGarvey, D.J., Truscott, T.G.** “Beta-caroten with vitamins E and C offers synergistic cell protection against NO_x”, *FEBS Lett*, **436**, 387-389 (1998).
22. **Palozza, P., Krinsky, N.I.** “Beta-carotene and alpha-tocopherol are synergistic antioxidants”, *Arch Biochem Biophys*, **297**, 184-187 (1992).
23. **Burton, G.W., Ingold, K.U.** “Beta-carotene: An unusual type of lipid antioxidant”, *Science*, **224**, 569-573 (1984).
24. **Palozza, P.** “Prooxidant actions of carotenoids in biological systems”, *Nutr Rev*, **56**, 257-265 (1998).
25. **Conn, P.F., Lambert, C., Land, E.J., Schalch, W., Truscott, T.G.** “Carotene-oxygen radical interactions”, *Free Radic Res Commun*, **16**, 401-408 (1992).

26. Baker, D.L., Krol, E.S., Jacobsen, N., Liebler, D.C. "Reactions of beta-carotene with cigarette smoke oxidants. Identification of carotenoid oxidation products and evaluation of the prooxidant/antioxidant effect", *Chem Res Toxicol*, **12**, 535-543 (1999).
27. Krinsky, N. I., Yeum, K. J. "Carotenoid-radical interactions", *Biochem Biophys Res Commun*, **305**, 754-760 (2003).
28. Collins, A.R. "Carotenoids and genomic stability", *Mut Res*, **475**, 21-28 (2001).
29. Zhang; L-X., Cooney, R.V., Bertram, J.S. "Carotenoids enhance gap junctional communication and inhibit lipid peroxidation in C3H/10T1/2 cells-Relationship to their cancer chemopreventive action", *Carcinogenesis*, **12**, 2109-2114 (1991).
30. Tapiero, H., Townsend, D.M., Tew, K.D. "The role of carotenoids in the prevention of human pathologies" *Biomed Pharmacother*, **58**, 100-110 (2004).
31. Yamasaki, H., Mesnil, M., Omori, Y., Mironov, N., Krutovskikh, V. "Intercellular communication and cancerogenesis", *Mut Res*, **333**, 181-188 (1995).
32. Trosko, J. E., Chang, C. C. "Mechanism of up-regulated gap junctional intercellular communication during chemoprevention and chemotherapy of cancer", *Mut Res*, **480/481**, 219-229 (2001).
33. Wang, C. J., Chou, M.Y., Lin, J. K. "Inhibition of growth and development of the transplantable C-6 glioma cells inoculated in rats by retinoids and carotenoids", *Cancer Lett*, **48**, 135-142 (1989).
34. Astorg, P. "Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research" *Trends Food Sci Tech*, **8**, 406-413 (1997).
35. Lee, I.M., Cook, N.R., Manson, J.E., Buring, J.E., Hennekens, C.H. "Beta carotene supplementation and incidence of cancer and cardiovascular disease: The women's health study" *J Natl Cancer Inst*, **91**, 2102-2106 (1999).
36. Pryor, W.A., Stahl, W., Rock, C.L. "Beta carotene: From biochemistry to clinical trials" *Nutr Rev*, **58**, 39-53 (2000).
37. Omenn, G.S. "Chemoprevention of lung cancer: The rise and demise of beta carotene" *Ann Rev Pub Health*, **19**, 73-99 (1998).

38. **Wright, M.E., Mayne, S.T., Swanson, C.A., Sinha, R., Alavanja, M.C.** “Dietary carotenoids, vegetables and lung cancer risk in women: The Missouri women’s health study”, *Cancer Cause Control*, **14**, 85-96 (2003).
39. **Clavel-Chapelon, F., Niravong, M., Joseph, R.R.** “Diet and breast cancer: Review of the epidemiologic literature”, *Cancer Detect Prev*, **21**, 426-440 (1997).
40. **Dorgan, J.F., Sowell, A., Sorensen, C.A., Potischman, N., Miller, R., Schussler, N., Stephenson, H.E.** “Relationships of serum carotenoids, retinol, alpha tocopherol and selenium with breast cancer risk: Results from a prospective study in Columbia, Missouri (United States)”, *Cancer Cause Control*, **9**, 89-97 (1998).
41. **Nahum, A., Hirsch, K., Danilenko, M., Watts, C.K.W., Prall, O.W.J., Levy, J., Sharoni, Y.** “Lycopene inhibition of cell cycle progression in breast and endometrial cancer cells is associated with reduction in cyclin D levels and retention of P27 (Kip1) in the cyclin E-cdk2 complexes”, *Oncogene*, **20**, 3428-3436 (2001).
42. **Terry, P., Jain, M., Miller, A.B., Howe, G.R., Rohan, T.E.** “Dietary carotenoids and risk of breast cancer”, *Am J Clin Nutr*, **76**, 883-888 (2002).
43. **Kim, L., Rao, A.V., Rao, L.G.** “Effects of lycopene on prostate LNCaP cancer cells in culture”, *J Med Food*, **5**, 181-187 (2002).
44. **Chen, L.W., Stacewicz-Sapuntzakis, M., Duncan, C., Sharifi, R., Ghosh, L., van Breemen, R., Ashton, D., Bowen, P.E.** “Oxidative DNA damage in prostate cancer patients consuming tomato-sauce based entrees as a whole-food intervention”, *J Nat Cancer Inst*, **93**, 1872-1879 (2001).
45. **Kotake-Nara, E., Asai, A., Nagao, A.** “Neoxanthin and fucuxanthin induce apoptosis in PC-3 human prostate cancer cells”, *Cancer Lett*, **220**, 75-84 (2005).
46. **Potter, J.D., Slattery, M.L., Bostick, R.M., Gapstur, S.M.** “Colon cancer-A review of the epidemiology”, *Epidemiol Rev*, **15**, 499-545 (1993).
47. **Slattery, M.L., Benson, J., Curtin, K., Khe-Ni, M., Schaeffer, D., Potter, J.D.** “Carotenoids and colon cancer”, *Am J Clin Nutr*, **71**, 575-582 (2000).
48. **Witztum, J.L.** “The oxidation hypothesis of atherosclerosis”, *Lancet*, **344**, 793-795 (1994).
49. **Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagan, T.M.** “Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging”, *Proc Natl Acad Sci USA*, **90**, 7915-7922 (1993).

50. **Van Antwerpen, V.L., Theron, A.J., Richard, G., Van Der Merwe, C., Walt, R., Anderson, R.** “Relationship between the plasma levels of beta-carotene and functions in cigarette smokers”, *Int J Vit Nutr Res*, **65**, 231-235 (1995).
51. **Heinrich, U., Gartner, C., Wiebusch, M., Eichler, O., Sies, H., Tronnier, H., Stahl, W.** “Supplementation with beta-carotene or a similar amount of mixed carotenoids protects humans from UV-induced erythema”, *J Nutr*, **133**, 98-101 (2003).
52. **Sies, H., Stahl, W.** “Nutritional protection against skin damage from sunlight”, *Ann Rev Nutr*, **24**, 173-200 (2004).
53. **Berneburg, M., Krutmann, J.** “Photoimmunology, DNA repair and photocarcinogenesis”, *J Photochem Photobiol*, **B54**, 87-93 (2000).
54. **Krutmann, J.** “Ultraviolet A radiation-induced biological effects in human skin: Relevance for photoaging and photodermatosis”, *J Dermatol Sci*, **23**, 22-26 (2000).
55. **Stahl, W., Heinrich, U., Jungmann, H., Sies, H., Tronnier, H.** “Carotenoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans”, *Am J Clin Nutr*, **71**, 795-798 (2000).
56. **Stahl, W., Heinrich, U., Wiseman, S., Eichler, O., Sies, H., Tronnier, H.** “Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans”, *J Nutr*, **131**, 1449-1451 (2001).
57. **Rao, L.G.**, *Tomato, lycopene and bone health: Preventing osteoporosis*, Caledonian Science Press, Scotland, p. 153-168 (2006).
58. **Rao, L.G., Mackinnon, E.S., Josse, R.G., Murray, T.M., Strauss, A., Rao, A.V.** “Lycopene consumption decreases oxidative stress and bone resorption markers in post menopausal women”, *Osteoporosis Int*, **18**, 109-115 (2007).
59. **Congdon, N.G., West, K.P. Jr.** “Nutrition and the eye”, *Curr Opin Ophthalmol*, **10**, 464-473 (1999).
60. **Mohanty, I., Joshi, S., Trivedi, D., Srivastava, S., Gupta, S. K.** “Lycopene prevents sugar-induced morphological changes and modulates antioxidant status of human lens epithelial cells”, *Br J Nutr*, **88**, 347-354 (2002).
61. **Brown, L., Rimm, E.B., Seddon, J.M., Giovannucci, E.L., Chasan-Taber, L., Spiegelman, D., Willett, W.C., Hankinson, S.E.** “A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men”, *Am J Clin Nutr*, **70**, 517-524 (1999).

62. Bone, R.A., Laundrum, J.T., Mayne, S.T., Gomez, C.M., Tibor, S.E., Twaroska, E.E. "Macular pigment in donor eyes with and without AMD: a case control study", *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **42**, 235-240 (2001).
63. Snodderly, D.M., Handelman, G.J., Adler, A.J. "Distribution of individual macular pigment carotenoids in central retina of macaque and squirrel monkeys", *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **32**, 268-279 (1991).
64. Snodderly, D.M. "Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins", *Am J Clin Nutr*, **62**, 1448-1461 (1995).
65. Lin, C.H., Chen, B.H. "Determination of carotenoids in tomato juice by liquid chromatography", *J Chrom A*, **1012**, 103-109 (2003).
66. de Quiros, A. R. B, Costa, H. S. "Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review", *J Food Comp Anal*, **19**, 97-111 (2006).
67. Deli, J., Molnar, P., Matus, Z., Toth, G. "Carotenoid composition in the fruits of red paprika (*Capsicum annuum* var. *lycopersiciforme rubrum*) during ripening; biosynthesis of carotenoids in red paprika", *J Agr Food Chem*, **49**, 1507-1523 (2001).
68. Hadden, W.L., Watkins, R.H., Levy, L.W., Regalado, E., Rivadeneira, D.M., van Breemen R.B., Schwartz, S.J. "Carotenoid composition of marigold (*Tagetes erecta*) flower extract used as nutritional supplement", *J Agr Food Chem*, **47**, 4189-4194 (1999).
69. Murkovic, M., Mülleder, U., Neunteufl, H. "Carotenoid content in different varieties of pumpkins", *J Food Com Anal*, **15**, 633-638 (2002).
70. Quackenbush, S.F., Smallidge, R.L. "Nonaqueous reversed phase liquid chromatographic system for separation and quantification of provitamins A", *J Assoc Anal Chem*, **69**, 767-772 (1986).
71. Sharpless, K.E., Arce-Osuna, M., Thomas, J.B., Gill, L.M. "Value assignment of retinal, retinyl palmitate, tocopherol and carotenoid concentrations in standard reference material 2383 (Baby Food Composite)", *JAOAC Int*, **82**, 288-296 (1999).
72. Ishida, B.K., Chapman, M.H. "Carotenoid extraction from plants using a novel environmentally friendly solvent", *J Agr Food Chem*, **57**, 1051-1059 (2009).

Received: 20.11.2008

Accepted: 18.02.2009