

## 報 文

# 若年女子運動選手における 抗酸化ビタミン摂取量とDNA酸化的傷害の関係

## Relationship between antioxidant vitamin intake and DNA oxidative damage in young female athletes

飯野 直美<sup>\*1</sup>、遠藤 香<sup>\*2</sup>、大家 千枝子<sup>\*1</sup>、吉田 圭佑<sup>\*1</sup>、木村 典代<sup>\*1</sup>

Naomi IINO, Kaori ENDOH, Chieko OIE, Keisuke YOSHIDA, Michiyo KIMURA

<sup>\*1</sup> 高崎健康福祉大学 健康福祉学部 健康栄養学科、<sup>\*2</sup> 新潟県立大学 人間生活学部 健康栄養学科

<sup>\*1</sup> Department of Health & Nutrition, Faculty of Health & Welfare, Takasaki University of Health and Welfare

<sup>\*2</sup> Department of Health and Nutrition, Faculty of Human Life Studies, University of Niigata

【連絡責任者】 木村 典代 高崎健康福祉大学

TEL : 027-352-1290 FAX : 027-352-1169 E-mail : kimura@takasaki-u.ac.jp

### 要 旨

**目的**：本研究は、若年女子運動選手の抗酸化ビタミン摂取量、血漿抗酸化ビタミン濃度とDNA酸化的傷害の関係を検証し、その結果から、若年女子運動選手における抗酸化ビタミンの必要量を推定することを目的とした。

**方法**：高校女子運動部員18名(運動群)、女子大学生10名(コントロール群)を対象として、抗酸化ビタミン摂取量調査、血漿抗酸化ビタミン濃度、総抗酸化能の評価としてFRAP Assay、酸化的傷害の評価としてリンパ球の小核出現率を検証した。

**結果**：抗酸化ビタミン摂取量には2群間で差が見られないにも関わらず、血漿β-カロテン濃度と総抗酸化能は運動群で有意に低値を示し( $p<0.05$ ,  $p<0.001$ )、この低下は小核出現率により評価した酸化的傷害の増加と関係した( $p<0.05$ )。

**まとめ**：身体活動に伴う酸化傷害には、抗酸化ビタミンの中でも特にβ-カロテンが影響することが示唆された。若年女子運動選手が血漿β-カロテン濃度をコントロール群と同程度に保ち、抗酸化能力を維持するためには、β-カロテン摂取量を平均で2000μg/日程度摂る必要性が示唆された。

### 緒 言

運動による酸化的傷害は酸素摂取の亢進に伴う活性酸素量の上昇により惹起されるが、体内で発生した活性酸素は内因性抗酸化物質であるスーパーオキシドジムスムターゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、カタラーゼなどの抗酸化酵素や外因性抗酸化物質であるβ-カロテン、ビタミンE(以下α-トコフェロール)、ビタミンC等の抗酸化栄養素によって防御されている[1-4]。従って、生体成分の酸化的傷害が惹起されるか否かは体内で生成される活性酸素量と抗酸化系のバランスによって規定されると考えられる[4]。

さらに、近年、若年者の野菜摂取量の減少が深刻な問題となっている。平成18年の国民健康・栄養調査では若年者ほど摂取量が少なく、15～19歳で262.0g、若年成人期の20～29歳で263.1gで

あったと報告されている。その一方で、運動を実行しており十分に習慣化していると答えた割合が最も多かったのも15～19歳の若者であり、男子で40.4%、女子も25.1%と他の年齢階級の2～3倍の結果が報告されている[5]。抗酸化栄養素と言われるβ-カロテンやビタミンCなどは、野菜類が主たる摂取源となっていることから、運動による酸化的傷害のリスクは若年者ほど大きくなる可能性が考えられる。しかしながら、抗酸化ビタミンの具体的な推奨量は明らかになっていない。

そこで、本研究では、若年女子運動選手の抗酸化ビタミン摂取量、血漿抗酸化ビタミン(β-カロテン、α-トコフェロール、ビタミンC)濃度と酸化的傷害の関係を検証し、その結果から、若年女子運動選手における抗酸化ビタミンの必要量を推定することを目的とした。

## 方 法

### 1. 対象

対象は、週に6～7回、1回に平均4時間程度の運動を行っている高校女子運動部員18名(運動群:女子バレーボール部10名、女子ソフトボール部8名)と、運動習慣のない大学女子学生10名(コントロール群)であった。対象者の身体的特徴および消費エネルギー量は表1に示した。研究実施期間中は酸化化サプリメント・アルコールの摂取、喫煙は禁じた。本研究の実施時期は平成18年9月であり、事前に文部科学省、厚生労働省の疫学研究に関する倫理指針に基づき、十分な研究内容とこの研究に関する危険性及び途中棄権による不利益を被る心配がないこと、個人情報取り扱いについての説明を行った後、同意が得られた者を対象とした。なお、未成年者については保護者の同意も得た。本研究は高崎健康福祉大学の研究倫理委員会の疫学研究に係わる審査を受け承認を得ている(第1801号)。

### 2. 身体活動量調査

消費エネルギー量を把握するために、簡易式加速度計(ライフコーダ、スズケン社)を、睡眠、入浴時以外は運動時も含めて常に腰部に装着させた。

### 3. 酸化化因子の測定

#### ①酸化化ビタミン摂取量調査

採血前1週間は、酸化化ビタミン( $\beta$ -カロテン、 $\alpha$ -トコフェロール、ビタミンC)の摂取量調査を行った。 $\beta$ -カロテンは食材100gあたりの $\beta$ -カロテン含有量が100 $\mu$ g以上のもの、もしくは含有量が少なくとも1日の摂取量が多い物、 $\alpha$ -トコフェロールは食材1食あたりの摂取目安量に含まれる量が四捨五入して0.1mg以上の物、ビタミンCは食材1食あたりの目安量に含まれる量が四捨五入して1mg以上の物を五訂成分表より抽出し一覧表に記載した(186品目:穀類、芋類、野菜類、豆類、種実類、果物類、藻類、魚介類、肉類、卵類、乳類、油脂類、菓子類、

加工食品類、嗜好飲料)。この一覧を対象者に配布し、1日単位で食べた食材の量を記入させた。

#### ②血漿酸化化ビタミン濃度測定

早朝空腹時採血後、遠心分離により血漿を分離し、 $-80^{\circ}\text{C}$ で測定時まで保存した。 $\beta$ -カロテン濃度測定は木下らの手法[6]に基づき、ヘキサニにてカロテノイドを抽出し、HPLC法により測定した。また、 $\alpha$ -トコフェロール濃度、ビタミンC濃度測定もそれぞれUmegakiら[7,8]の方法に基づきHPLC法にて測定した。

#### ③総酸化化能の測定

血漿の総酸化化能の測定は、三価鉄の還元能を見るFerric reducing ability of plasma (FRAP) assayを用いた[9]。FRAP assay法は、低pH下で三価鉄から二価鉄に還元されると色調の変化する2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine液を用いて、血漿中に含まれる酸化化栄養素の酸化化力を総合的に判断するために使われるが、FRAP値が高い程、高い酸化化能力を有するものとして評価した。

### 4. 酸化化的傷害の測定 -小核試験法-

Umegakiらは、トライアスロン選手を対象とした研究において、全血を用いた小核試験法にて運動によるリンパ球DNAの酸化化的傷害をX線照射により増幅して検出できることを報告している[10]。本研究ではX線照射の代わりに紫外線B波長(UVB:302nm)の照射を用い、全血よりも増幅感度がよい分離リンパ球を用いて小核試験を行った[11]。早朝空腹時採血後、分離したリンパ球にUVBを照射し、運動によって生じたDNA酸化化的傷害を増幅処理して培養した。その後、サイトカラシンBを添加し細胞質分裂を阻害し、2核細胞を有するリンパ球標本を作製した。顕微鏡下で2核細胞を1000個数え、そのうち増幅されて出現した小核を有する細胞の割合を小核出現率として算出した。

### 5. 統計処理

統計処理にはSPSS for Windows ver.13.0 (SPSS

表1 対象者の身体的特徴とエネルギー消費量

	年齢 (歳)	身長 (cm)	体重 (kg)	BMI (kg/cm <sup>2</sup> )	総エネルギー消費量/体重 (加速時計による推定値) (kcal/kg)
コントロール群 (n=10)	19.5 $\pm$ 1.4	159.3 $\pm$ 5.9	52.6 $\pm$ 4.5	20.7 $\pm$ 1.6	33.7 $\pm$ 2.1
運動群 (n=18)	16.2 $\pm$ 0.7**	163.1 $\pm$ 5.9	60.1 $\pm$ 10.5	22.6 $\pm$ 3.2	43.1 $\pm$ 3.3***
バレーボール部 (n=10)	15.9 $\pm$ 0.6	166.7 $\pm$ 3.3	64.1 $\pm$ 11.8	23.1 $\pm$ 4.1	42.4 $\pm$ 3.1
ソフトボール部 (n=8)	16.5 $\pm$ 0.8	158.6 $\pm$ 5.3	55.2 $\pm$ 6.0	21.9 $\pm$ 1.7	44.0 $\pm$ 3.5

コントロール群と比較して有意義の認められたもの \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001

Japan Inc.) を用いた。それぞれの測定成績は平均値±標準偏差で表した。2変量間の相関関係はピアソンの積率相関分析を行った。2群間の平均値の差の検定には対応のない Student-t テストを行った。いずれの検定においても危険率5%未満をもって有意と判定した。

## 結 果

### 1. 消費エネルギー量

参加した高校女子運動部員の消費エネルギー量および身体的特徴には、競技種目による差が見られなかったため、競技種目別に分けずに運動群とし、コントロール群との2群で全ての検討を行うこととした(表1)。

運動群 ( $43.1 \pm 3.3$  kcal/kg) の消費エネルギー量はコントロール群 ( $33.7 \pm 2.1$  kcal/kg) よりも多かった ( $p < 0.001$ )。

### 2. 抗酸化因子の測定

$\beta$ -カロテン、 $\alpha$ -トコフェロール、ビタミンCの摂取量は表2に示した。いずれの抗酸化ビタミン摂取量も両群で差は見られなかった。血漿 $\beta$ -カロテン濃度は運動群で低値を示したが(コントロール群： $0.42 \pm 0.20$   $\mu$ g/ml、運動群： $0.25 \pm 0.15$   $\mu$ g/ml、 $p: 0.015$ 、 $p < 0.05$ )、ビタミンCと $\alpha$ -トコフェロールではコントロール群との差は見られなかった(表2)。

また、FRAP assayにて評価した血漿総抗酸化能の指標であるFRAP値はコントロール群  $829 \pm 191$   $\mu$ M、運動群は  $613 \pm 66$   $\mu$ M であり運動群が有意に低値であった ( $p < 0.001$ )。コントロール群と運動群を合

わせて FRAP 値と血中抗酸化ビタミン濃度の関係を見ると、 $\beta$ -カロテンのみ相関が認められた ( $r=0.467$ 、 $p < 0.05$ 、図1)。

### 3. 酸化的傷害の測定

DNA 酸化的傷害の指標となる小核出現率は、コントロール群に比して運動群では小核出現率が高く(コントロール群  $5.4 \pm 3.0$  個/2核細胞 1000 個、運動群  $15.1 \pm 9.6$  個/2核細胞 1000 個、 $p < 0.01$ )、酸化的傷害が大きかった。両群を合わせると小核出現率は総抗酸化能と  $r = -0.389$  ( $r < 0.05$ ) の相関が見られ、血漿 $\beta$ -カロテン濃度とも相関が認められた ( $r = -0.374$ 、 $p < 0.05$ 、図2)。

## 考 察

本研究では若年女子運動選手の抗酸化ビタミンの必要量を明らかにすることを目的として、抗酸化ビタミン摂取量、血漿濃度および総抗酸化力と DNA 酸化的傷害との関係を調べた。その結果、運動部活動をしている女子選手は、一般若年女性と比べて、血漿 $\beta$ -カロテン濃度が低く、それに伴い FRAP assay による血漿総抗酸化能力が低下、さらには小核試験で評価した酸化的傷害が大きかったことがわかった。

運動と血漿 $\beta$ -カロテン濃度に関する研究では、Sumida らが、運動習慣のない若年成人男性に一過性の疲労困憊運動を実施させ、その後、血漿 $\beta$ -カロテン濃度の有意な低下をみており、その低下は高強度の運動により誘発された酸素ラジカルを消去したためではないかとしている [12]。また、Bergholm らも、激しい有酸素的トレーニングにより、血漿 $\beta$ -カロテン濃度は 20% 低下したと報告している [13]。

表2 抗酸化ビタミン摂取量、血漿濃度、総抗酸化能、酸化傷害のコントロール群と運動群の比較

測定項目	単位	コントロール群 n=10	運動群 n=18	P値 (コントロール群 vs 運動群)
$\beta$ -カロテン摂取量	$\mu$ g/日	$1654 \pm 1321$	$1216 \pm 972$	0.325
血漿 $\beta$ -カロテン濃度	$\mu$ g/ml	$0.42 \pm 0.20$	$0.25 \pm 0.15$	0.0015 ( $p < 0.05$ )
ビタミンC摂取量	mg/日	$49.7 \pm 30.1$	$93.3 \pm 111.6$	0.240
血漿ビタミンC濃度	$\mu$ g/dl	$1247 \pm 239$	$1438 \pm 367$	0.154
$\alpha$ -トコフェロール摂取量	mg/日	$6.1 \pm 3.8$	$4.6 \pm 3.3$	0.294
血漿 $\alpha$ -トコフェロール濃度	$\mu$ g/ml	$9.2 \pm 4.9$	$7.2 \pm 2.5$	0.153
DNA 酸化傷害 小核出現率	小核細胞数/2核細胞 1000個 (%)	$5.4 \pm 3.0$	$15.1 \pm 9.6$	0.005 ( $p < 0.05$ )
総抗酸化能 FRAP 値	$\mu$ M/l	$829 \pm 191$	$613 \pm 66$	( $p < 0.001$ )

本研究でも、抗酸化ビタミンの摂取量は2群間で差がなかったにも関わらず、運動群の $\beta$ -カロテン濃度は一般女性に比べると低値を示した。運動群の体重当たりの消費エネルギー量は、コントロール群に比べて28%高い値を示しており、従ってこの血漿 $\beta$ -カロテン濃度の低下は $\beta$ -カロテン摂取量の違いではなく運動に起因する活性酸素種に対する防御作用により生じるものだろうと考えられる。

$\beta$ -カロテン等のカロテノイド類は同じ脂溶性ビタミンである $\alpha$ -トコフェロールよりも優先的に細胞膜内に取り込まれ、細胞膜内や細胞質内で、一重項酸素やフリーラジカルのスカベンジャーとして働くことが知られている[14,15]。従って、他の抗酸化物質よりも運動による影響を受けやすいのかもしれない。実際に Bergholm らの研究でも、他の抗酸化物質であるアスコルビン酸、 $\alpha$ -トコフェロール、レチノールと比べると、 $\beta$ -カロテンの減少率が最も大きかったと報告している[13]。

表2に示したように運動群のFRAP assayで評価した総抗酸化能の値は、コントロール群に比べて低値を示し、それに伴って小核試験で評価した酸化的傷害も増加した。さらに、FRAP assay および小核試験の値は血漿 $\beta$ -カロテン濃度とのみ関係が認められた。従って、運動群では $\beta$ -カロテン濃度の低下が総抗酸化能を低下させ、酸化的傷害を惹起している可能性が高いと思われる。また、Umegaki らは17名の対象者に対して1日30mgの $\beta$ -カロテンサプリメントと300mgのビタミンCを5日間飲ませ、その前後の血漿濃度と小核の出現率を検証している。その結果、

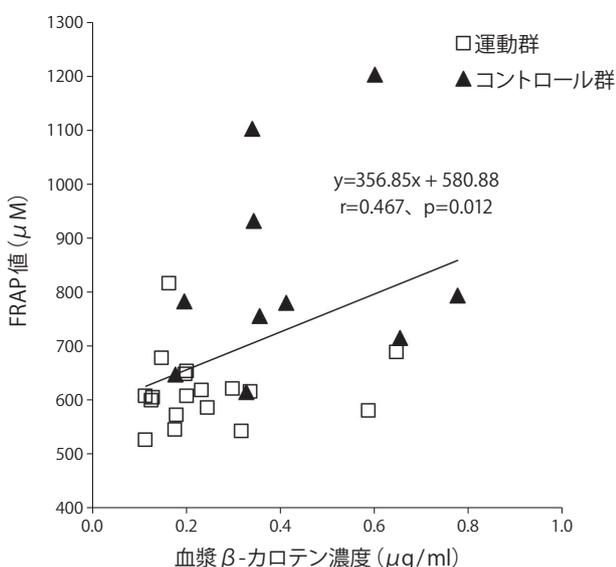


図1 血漿 $\beta$ -カロテン濃度と総抗酸化能(FRAP値)の関係

ビタミンCと小核出現率との間には関連は見られなかったが、血漿 $\beta$ -カロテン濃度は上昇し、それに伴いX線照射後の小核の出現率が血漿 $\beta$ -カロテン濃度依存的に低下したと報告している[16]。運動選手の血漿 $\beta$ -カロテン濃度を適正に維持することは酸化的傷害を抑制する上で極めて重要であると考えられる。

本研究の結果から、 $\beta$ -カロテンは抗酸化機能に対して大きな影響を及ぼしていると考えられるが、生体内の抗酸化機能は必ずしも $\beta$ -カロテン濃度だけで決まるものではなく、より複雑な調節を受けている。図2のなかでも見られるように、運動群において血漿 $\beta$ -カロテン濃度が低くても小核出現率が増加しない者も存在した。これには、運動トレーニングによる骨格筋スーパーオキシドジスムターゼ等の内因性抗酸化酵素活性の増加[17-22]や抗酸化ビタミン以外の抗酸化物質である尿酸、ビリルビン、ポリフェノール類などが影響しているのかもしれない[23-26]。

継続的な運動により、エネルギー消費量が体重あたり10kcal程度高い若年女子運動選手は、血漿 $\beta$ -カロテン濃度がコントロール群に比べ約40%低値を示し、それに伴い総抗酸化力が低下し、およびDNA酸化的傷害の顕著な増加が認められた。従って、運動選手における抗酸化能の維持・向上のためには、特に血漿 $\beta$ -カロテン濃度を上昇させることが重要だと考えられた。通常、血漿 $\beta$ -カロテン濃度は摂取量依存的に上昇するとされていることから[27]、今回の運動群の平均血漿 $\beta$ -カロテン濃度 $0.25 \pm 0.15 \mu\text{g/ml}$ を維持するために必要な平均 $\beta$ -カロテン摂取量が $1216 \pm 972 \mu\text{g/日}$ だとすると、 $1 \mu\text{g/ml}$ の上昇には $4864 \mu\text{g/日}$ の摂取が必要だと考えられる。そ

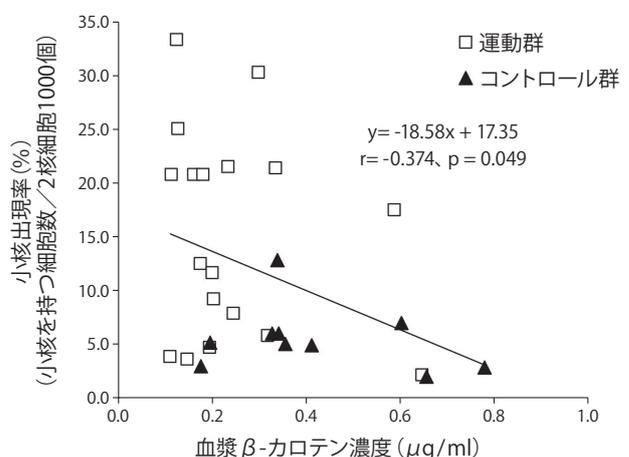


図2 血漿 $\beta$ -カロテン濃度とDNA酸化傷害(小核出現率)との関係

ここで、運動群が血漿β-カロテン濃度をコントロール群 (0.42 ± 0.20 μg/ml) と同程度に保ち、抗酸化能力を維持するために必要なβ-カロテン摂取量を計算すると平均で2000 μg/日程度と考えられた。しかし、この必要量は運動強度や運動量、年齢や性別、個人差によっても変化すると考えられるため、今後は介入試験などを通じ、この数値の妥当性を検証していく必要があると思われる。

## まとめ

本研究では若年女子運動選手の抗酸化ビタミン摂取量および血漿濃度、総抗酸化力とDNA酸化損傷との関係を調べ、若年女子運動選手では、一般若年女性と比べて、血漿β-カロテン濃度が低く、それに伴い総抗酸化能力が低下、さらにはDNAの酸化損傷が高いことがわかった。若年女子運動選手が血漿β-カロテン濃度を一般女性と同程度に保ち、抗酸化能力を維持するためには、β-カロテン摂取量を平均で2000 μg/日程度摂る必要性が示唆された。

## 謝辞

本研究に際し、多大なるご協力を頂きました高崎健康福祉大学高崎高等学校女子運動部員の皆さま、高崎健康福祉大学健康栄養学科の学生の皆さまに心より感謝申し上げます。

本研究は、科学研究費補助金 (研究課題番号: 18700558) の助成を受けて実施しました。

**キーワード** β-カロテン、小核試験、DNA酸化損傷、FRAP Assay、抗酸化ビタミン

## <参考文献>

- [1] Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun.* 1982;107:1198-205.
- [2] Cohen G and Hochsten P. Glutathione peroxidase: The primary agent for the elimination of hydrogen peroxide in erythrocytes. *Biochemistry.* 1963;2:1420-8.
- [3] Jenner P. Oxidative damage in neurodegenerative disease. *Lancet.* 1994;344:796-8.
- [4] 梅垣敬三、樋口満. 運動による酸素ストレスがDNAの損傷・修復能に及ぼす影響に関する研究. 体力研究. 1996;91:124-132.
- [5] 健康・栄養情報研究会編. 国民健康・栄養の現状—平成18年構成労働省国民健康・栄養調査報告より—. 東京: 第一出版; 2009. pp.57-93.
- [6] 木下伊規子、木村典代、加藤達雄. 血清カロテノイド測定法の検討とくにカロテノイド分画の影響について. 臨床検査. 1994;38:1087-94.
- [7] Umegaki K, Ichikawa T. Decrease in vitamin E levels in the

bone marrow of mice receiving whole-body X-ray irradiation. *Free Radic Biol Med.* 1994;17:439-44.

- [8] Umegaki K, Yoshimura M, Nishimura M, Esashi T. A practical Method for Determination of vitamin C in plasma by High-performance Lipid Chromatography with an Electrochemical Detector. *Jpn Soc Nutr Food Sci.* 1999;52:107-111.
- [9] Benzie IF and Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry.* 1996;239: 70-6.
- [10] Umegaki K, Higuchi M, Inoue K, Esashi T. Influence of one bout of intensive running on lymphocyte micronucleus frequencies in endurance-trained and untrained men. *J Sports Med.* 1998;19:581-5.
- [11] Fenech M, Neville S. Conversion of excision-repairable DNA lesions to micronuclei within one cell cycle in human lymphocytes. *Environ Mol Mutagen.* 1992;19:27-36.
- [12] Sumida S, Doi T, Sakurai M, Yoshioka Y, Okamura K. Effect of a single bout of exercise and beta-carotene supplementation on the urinary excretion of 8-hydroxy-deoxyguanosine in humans. *Free Radic Res.* 1997;27:607-18.
- [13] Bergholm R, Mäkimattila S, Valkonen M, Liu ML, Lahdenperä S, Taskinen MR, Sovijärvi A, Malmberg P, Yki-Järvinen H. Intense physical training decreases circulating antioxidants and endothelium-dependent vasodilatation in vivo. *Atherosclerosis.* 1999;145:341-349.
- [14] Powers SK, DeRuisseau KC, Quindry J, Hamilton KL. Dietary antioxidants and exercise. *J Sports Sci.* 2004;22:81-94.
- [15] Niki E, Noguchi N, Tsuchihashi H, Gotoh N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *Am J Clin Nutr.* 1995;62:1322S-26S.
- [16] Umegaki K, Ikegami S, Inoue K, Ichikawa T, Kobayashi S, Soeno N, Tomabechi K. Beta-carotene prevents x-ray induction of micronuclei in human lymphocytes. *Am J Clin Nutr.* 1994;59:409-12.
- [17] Higuchi M, Cartier L.J, Chen M, Holloszy J.O. Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: adaptive response to exercise. *J Gerontol.* 1985;40:281-6.
- [18] Leeuwenburgh C, Fiebig R, Chandwaney R, Ji LL. Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. *Am J Physiol.* 1994;267:R439-45.
- [19] Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am J Physiol.* 1997;272:R363-9.
- [20] Oh-ishi S, Kizaki T, Nagasawa J, Izawa T, Komabayashi T, Nagata N, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. Effects of endurance training on superoxide dismutase activity, content and mRNA expression in rat muscle. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1997;24:326-32.
- [21] Powers SK, Criswell D, Lawler J, Ji LL, Martin D, Herb RA, Dudley G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1994;266:R375-80.
- [22] Sen CK, Marin E, Kretzschmar M, Hänninen O. Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization. *J Appl Physiol.* 1992;73:1265-72.
- [23] Sevanian A, Davies KJ, Hochstein P. Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. *Am J Clin Nutr.* 1991;54:1129S-34S.
- [24] Joshi M, Billing BH, Hallinan T. Investigation of the role of reactive oxygen species in bilirubin metabolism in the Gunn rat. *Biochim Biophys Acta.* 1995;1243:244-50.
- [25] Olas B, Wachowicz B, Nowak P, Kedzierska M, Tomczak A, Stochmal A, Oleszek W, Jezierski A, Piekarski J. Studies on antioxidant properties of polyphenol-rich extract from berries of *Aronia melanocarpa* in blood platelets. *J Physiol Pharmacol.* 2008;59:823-35.
- [26] Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: A review. *J Dent.* 2009;37:413-23.
- [27] Prince MR, Frisoli JK. Beta-carotene accumulation in serum and skin. *Am J Clin Nutr.* 1993;57:175-81.

# Abstract

**Objective:** To estimate the antioxidant vitamins intake requirement in young female athletes, the present investigation examined the relationship between antioxidant vitamin intake and lymphocyte oxidative damage.

**Design:** Antioxidant vitamin intake and plasma antioxidant vitamin concentrations were evaluated in 18 female high school athletes (Exercise group) and 10 untrained female university students (Control group). Total antioxidant activity in plasma and lymphocyte chromosomal damage were determined using FRAP assay and cytokinesis-block micronucleus assay (CBMN assay), respectively.

**Results:** The plasma  $\beta$ -carotene concentration was significantly lower in the Exercise group than the Control group, although no significant difference in antioxidant vitamin intake was observed between the two groups. Total antioxidant activity was significantly lower in the Exercise group than the Control group ( $p < 0.001$ ), and significantly correlated with plasma  $\beta$ -carotene concentrations. In the Exercise group, micronucleus frequency, an index of chromosomal damage measured with CBMN assay was significantly higher than that observed in the Control group ( $p < 0.05$ ). Furthermore, there was a significant inverse correlation between  $\beta$ -carotene and micronucleus frequency ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Physically active young female athletes have a lower plasma  $\beta$ -carotene concentration, resulting in diminished total antioxidant activity and elevated chromosomal damage. The  $\beta$ -carotene intake requirement was estimated to be approximately  $2000\mu\text{g/day}$  for young female athletes to maintain antioxidant activity and decrease chromosomal damage.