

**College of Education for Women
Department of Chemistry**

**EVALUATION OF SERUM LIPID
PROFILE&OXIDATIVE STRESS IN ORAL
CONTRACEPTIVE USERS**

A THESIS

**SUBMITTED TO THE COLLEGE OF EDUCATION FOR
WOMEN/KUFA UNIVERSITY, IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF
SCIENCE IN BIOCHEMISTRY**

BY

SENAA KADHUM ALI AL-HUSSAINI

(B.Sc. Chemistry. Kula University 2005)

SUPERVISED BY

Dr. MAJID KADHUM HUSSAIN

Asst. Prof. of Biochemistry

2008 A.D

1429 A.H

Contents

Abbreviations	I
Abstract	II
<i>Chapter One: Introduction and Literature Review</i>	
1: Introduction	1
1.1: Oxidative stress	2
1.1.1: Basics of oxidative stress	4
1.1.1.1: Free radical	4
1.1.1.2: Antioxidant systems	7
1.1.2: Chemical and biological effects of oxidative stress	9
1.1.3: Malondialdehyde	10
1.2: Plasma lipids	12
1.2.1: Triglycerides	12
1.2.2: Cholesterol	13
1.2.3: fatty acid	13
1.2.4: phospholipids	14
1.3: Lipoproteins	15
1.3.1: Chylomicrons	16
1.3.2: Very low – density lipoprotein(VLDL)	16
1.3.3: Low –density lipoprotein (LDL)	17
1.3.4: High-density lipoprotein (HDL)	17
1.3.5: Metabolism of Lipid & Lipoprotein	17
1.3.6: Hyperlipidemia	18
1.3.7: Relevance of hyperlipidaemia to oxidative stress	19
1.4:Contraceptives	20
1.4.1: Intrauterine devices	20

1.4.2: Hormonal contraceptives	21
1.4.2.1: Combined oral contraceptives(COCS)	21
1.4.2.2: Progestin -only contraceptives	22
1.4.3: Injectable contraceptives	23
1.4.4: Implants	23
1.4.5: Relevance of hormonal contraceptive pills to oxidative stress	24
1.4.6: Relevance of hormonal contraceptives to serum lipid profile	26
Objectives	28
<i>Chapter Two: Materials and Methods</i>	
2.1: Chemicals	29
2.2: Apparatus	29
2.3: Subjects	30
2.4: Blood samples	30
2.5: Determination of malondialdehyde (MDA) concentration	30
2.6: Measurement of serum total cholesterol(TC) concentration	32
2.7: Measurement of serum triglycerides (TG) concentration	34
2.8: Measurement of serum HDL-cholesterol concentration	35
2.9: Measurement of serum VLDL-triglycerides concentration	36
2.10: Measurement of LDL-cholesterol concentration	36
2.11: statistical analysis	36
<i>Chapter Three: Results and Discussion</i>	
3.1: Serum malondialdehyde(MDA) and lipid profile values in oral contraceptives users and control group	37
3.2: Effect of age on malondialdehyde(MDA) and lipid profile levels in oral contraceptive users	40
3.3: Influence of body mass index (BMI) on malondialdehyde(MDA)and serum lipid profile in oral contraceptive users	41
3.4: The impact of duration of oral contraceptive use on malondialdehyde (MDA) and serum lipid profile	43
3.5: The relevance of parity with malondialdehyde (MDA) and serum lipid profile changes in oral contraceptive users	45
Conclusions	73

Future works	74
References	75

List of Tables

Table 1.1: Types of reactive oxygen species	6
Table 3.1: Serum malondialdehyde (MDA) and serum lipid profiles values in oral contraceptive users and control group	46
Table 3.2: Effect of age on malondialdehyde (MDA) and serum levels in oral contraceptive users	47
Table 3.3: ANOVA analysis of age effect on the levels malondialdehyde(MDA) and Lipid profile levels in oral contraceptive users	48
Table 3.4: The effect of age on malondialdehyde(MDA) and serum lipid profiles levels in oral contraceptive users	55
Table 3.5: Influence of BMI on malondialdehyde(MDA) and serum lipid profiles levels in oral contraceptive users	56
Table 3.6: ANOVA analysis of BMI effect on the levels of malondialdehyde (MDA) and serum Lipid profiles in oral contraceptive users	57
Table 3.7: The effect of BMI on malondialdehyde (MDA) and serum lipid profile levels in oral contraceptive users	64
Table 3.8: Influence of duration of treatment on malondialdehyde MDA and serum lipid profiles levels in oral contraceptive users	65
Table 3.9: ANOVA analysis of the effect of duration of oral contraceptives use on the levels of malondialdehyde(MDA)and lipid profile	66
Table 3.10: The correlation of duration of treatment of oral contraceptives with malondialdehyde (MDA) and serum lipid profiles levels in oral contraceptive users	70

List of Figures

Fig 1.1: Steps of lipid peroxidation	11
Fig 1.2: Ethinylestradiol structure	25
Fig 2.1: Reaction between MDA and TBA	31
Fig 3.1: The correlation of the age with malondialdehyde (MDA) concentration ($\mu\text{mol/L}$) in oral contraceptive users (A) and the control group(B)	49
Fig 3.2: The correlation of the age with cholesterol concentration (mmol/L) oral contraceptive users (A) and the control group(B)	50
Fig 3.3: The correlation of the age with triglyceride concentration (mmol/L) in oral contraceptive users (A) and the control group(B)	51
Fig 3.4: The correlation of the age with HDL concentration (mmol/L) in oral contraceptive users (A) and the control group(B)	52
Fig 3.5: The correlation of the age with LDL concentration (mmol/L) in oral contraceptive users (A) and the control group(B)	53
Fig 3.6: The correlation of the age with VLDL concentration (mmol/L) oral contraceptive users (A) and the control group(B)	54

Fig 3.7: The correlation of BMI (kg /m ²) and malondialdehyde (MDA) (μ mol/L) concentration in oral contraceptive users (A) and the control group (B)	58
Fig 3.8: The correlation of BMI (kg /m ²) and cholesterol (mmol/L) concentration in oral contraceptive users(A) and the control group (B)	59
Fig 3.9:The correlation of BMI (kg /m ²) and triglyceride (mmol/L) concentration in oral contraceptive users (A) and the control group (B)	60
Fig 3.10:The correlation of BMI (kg /m ²) and HDL (mmol/L) concentration in oral contraceptive users (A) and the control group (B)	61
Fig 3.11:The correlation of BMI (kg /m ²) and LDL (mmol/L) concentration in oral contraceptive users (A) and the control group (B)	62
Fig 3.12:The correlation of BMI (kg /m ²) and VLDL (mmol/L) concentration in oral contraceptive users (A) and the control group (B)	63
Fig 3.13:The correlation of duration of treatment with malondialdehyde (MDA) concentration (μ mol/L) in oral contraceptive users	67
Fig 3.14:The correlation of duration of treatment with cholesterol concentration (mmol/L) in oral contraceptive users	67
Fig 3.15:The correlation of duration of treatment with triglyceride concentration (mmol/L) in oral contraceptive users	68
Fig 3.16:The correlation of duration with HDL concentration (mmol/L) in oral contraceptive users	68
Fig 3.17:The correlation of duration of treatment with LDL concentration (mmol/L) in oral contraceptive users	69
Fig 3.18:The correlation of duration of treatment with VLDL concentration (mmol/L) in oral contraceptive users	69
Fig 3.19: The effect of parity on malondialdehyde(MDA) concentration in oral contraceptive users	71

List of abbreviations

ANOVA	Analysis of variance
ATP	Adenosine triphosphate
BMI	Body mass index
CAD	Coronary artery disease
CAT	Catalase
COC	Combined oral contraceptive
COX	Cyclo-oxygenases
DW	Distilled water
DMPA	depo-medroxyprogesterone acetate
EE₂	Ethinylestradiol
FSH	Follicle stimulating hormone
GPX	Glutathione peroxidase
GSH	Reduced glutathione
GST	Glutathione S- transferase
HCP	Hormonal contraceptive pill
HDL	High density lipoprotein
IUC	Intrauterine contraceptive
IUD	Intrauterine devices
IUS	Intrauterine system
LDL	Low density lipoprotein
LH	Luteinizing hormone

LNG	Levonorgestrel
LOX	Lipoxygenase
LP	Lipoprotein
LPO	Lipid peroxidation
MDA	Malondialdehyde
MI	Myocardial infarction
μM	Micromolar
NADPH	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
nm	Nanometer
OC	Oral contraceptive
ONOO⁻	Peroxynitrite
POP	Progesterone only pills
r	Correlation-factor
ROS	Reactive oxygen species
SD	Standard deviation
SOD	Superoxide dismutase
TBA	Thiobarbituric acid
TC	Total cholesterol
TCA	Trichloroacetic acid
TG	Triglyceride
α-TNF	Alpha-tumor necrosis factor
VLDL	Very low density lipoprotein

Abstract

The current study was designed to demonstrate the effect of oral contraceptive (OC) drugs :Nordette (a combination of 0.15 mg levonorgestrel (LNG) with 0.03 mg ethinylestradiol (EE2)) on the oxidative stress and serum lipid profile in healthy females. To achieve this aim,100 treated females of ages 20-44y and 30 healthy nontreated females (control group) of ages 21-43 y were enrolled in this study.

Malondialdehyde (MDA), serum cholesterol(TC) ,triglyceride(TG), high density lipoprotein (HDL-cholesterol), low density lipoprotein (LDL-cholesterol), very low density lipoprotein (VLDL-triglyceride) concentrations were measured in all subjects. There were significant increase of MDA ($p<0.001$) , cholesterol ($p<0.001$), LDL ($p<0.001$), triglycerides ($p<0.01$),VLDL ($p<0.01$) in females treated with oral contraceptives when compared with those of the control group. In contrast, HDL levels were found to decrease significantly ($p<0.001$) during a comparable evaluation. To verify the influence of age on MDA and serum lipid profile levels in females treated with oral contraceptive, the linear regression analysis was used to analyze the data. It demonstrated significant ($r=0.2,p<0.05$) positive correlation for MDA levels with ages of treated females. However, serum lipid profile parameters did not show significant correlation.

To understand the effect of body mass index (BMI) on the levels of MDA and serum lipids in the studied females, they were categorized into three groups ,i.e., normal , overweight and obese. The data indicated significant elevation for MDA ($P<0.001$), cholesterol ($p<0.001$) and LDL-C ($P<0.001$) levels in the three groups of treated females when compared with those of the control group. HDL-C decreased

significantly ($p < 0.001$) in the three groups of treated females during a comparable evaluation. A significant positive correlation was obtained for cholesterol ($r = 0.44, p < 0.001$), LDL-C ($r = 0.7, P < 0.001$) levels with BMI of treated females. To estimate the effect of duration on the levels of MDA and serum lipids in females treated with oral contraceptives, they were categorized into three groups, i.e., < 1 y, $1-5$ y, and $>5-10$ y groups. The results illustrated significant elevation for MDA ($P < 0.001$), cholesterol ($p < 0.001$), and LDL-C ($P < 0.001$) levels in the three groups of treated females when compared with the control group. However, such elevation was found to be significant ($p < 0.01$) for triglyceride and VLDL in group 2 in comparison with the control group. HDL-C decreased significantly ($p < 0.001$) in the three groups of treated females during a comparable evaluation. A significant positive correlation was obtained for MDA ($r = 0.27, p < 0.01$) levels, and a significant negative correlation was indicated for HDL-cholesterol ($r = -0.37, p < 0.01$) levels with the duration of administration. To demonstrate the impact of parity on MDA and serum lipid profile level changes, the linear regression analysis was applied to analyze the data. A significant positive correlation was observed for MDA ($r = 0.43, p < 0.01$) levels with the number of children, while serum lipid profile parameters failed to do so.

These results suggested that oral contraceptives involved in the initiation of oxidative processes in females used this medication, such observation is important during the evaluation of the condition of these females.

كلية التربية للبنات

قسم الكيمياء

تقييم صورة الدهون المصلبة والإجهاد التأكسدي لدى

المتعاطيات حبوب منع الحمل

رسالة

مقدمة إلى كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة
كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في الكيمياء
الحياتية

من قبل

سبينا كاظم علي الحسيني

بكالوريوس علوم كيمياء

جامعة الكوفة ٢٠٠٥

بإشراف

الدكتور ماجد كاظم حسين

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
وَمَا تَقُولَنَّ لِشَيْءٍ إِنِّي فَاعِلٌ ذَلِكُمْ غَدًا ﴿٢٣﴾ إِلَّا أَن يَشَاءَ
اللَّهُ وَادْكُرْ رَبَّكَ إِذَا نَسِيتَ وَقُلْ عَسَىٰ أَن يَهْدِيَنِّي رَبِّي
لَأَقْرِبَنَّ مِنَ هَذَا رَشَدًا ﴿٢٤﴾

صدق الله العلي العظيم

آية ﴿٢٣-٢٤﴾

الخلاصة

تم تصميم الدراسة الحالية لتوضيح تأثير أقراص منع الحمل نورديت (0.15 ملغم ليفنورجستريل مع 0.03 ملغم ايثيناييل استراديول) في الإجهاد التأكسدي وصورة الدهون المصلية في النساء الصحيحات . ضمت الدراسة 100 امرأة معالجة بهذه الأقراص و 30 امرأة صحيحة استعملت بوصفها مجموعة سيطرة. تم تقدير تراكيز المألون ثنائي الالديهيد و الكولسترول والكليسيريدات الثلاثية والبروتينات الدهنية عالية الكثافة، و واطئة الكثافة، و واطئة الكثافة جدا في أمصال النساء كافة.

لوحظت زيادة معنوية في تراكيز المألون ثنائي الالديهيد ($p < 0.001$) ، والكولسترول ($p < 0.001$) ، البروتينات الدهنية واطئة الكثافة ($p < 0.001$) ، والكليسيريدات الثلاثية ($p < 0.01$) ، البروتينات الدهنية واطئة الكثافة جدا ($p < 0.01$) في النساء المعالجات بأقراص منع الحمل مقارنة بمجموعة السيطرة بينما لوحظ نقصان في مستويات البروتينات الدهنية عالية الكثافة ($p < 0.001$) خلال تحليل المقارنة. وللتحقق من تأثير العمر في تراكيز المألون ثنائي الالديهيد وصورة الدهون المصلية ، فقد استعمل تحليل الانحدار الخطي لتحليل النتائج وقد اظهر ارتباط معنوي موجب ($r = 0.2, p < 0.05$) لتركيز المألون ثنائي الالديهيد مع أعمار النساء المعالجات و لم تظهر صورة الدهون المصلية مثل هذا الارتباط . ولإدراك تأثير معيار الكتلة الجسمي في مستويات المعايير المدروسة فقد تم تقسيم النساء المعالجات إلى ثلاث مجاميع : طبيعيات وزيادة وزن وبدنيات . بينت النتائج زيادة معنوية في مستويات المألون ثنائي الالديهيد ($P < 0.001$) والكولسترول ($p < 0.001$) والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة ($P < 0.001$) في المجاميع الثلاثة عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة . ولوحظ أيضا نقصان معنوي في تركيز البروتينات عالية الكثافة ($p < 0.001$) . بين تحليل الانحدار الخطي ارتباط معنوي موجب للكولسترول ($r = 0.44, p < 0.001$) و البروتينات الدهنية واطئة الكثافة ($r = 0.7, P < 0.001$) مع معيار الكتلة الجسمي . ولغرض تقدير تأثير مدة تعاطي الأقراص في تراكيز المألون ثنائي الالديهيد وصورة الدهون المصلية فقد تم تقسيم النساء إلى ثلاثة مجاميع $< 1, 1-5, > 5-10$ سنوات. بينت النتائج زيادة معنوية في تراكيز المألون ثنائي الالديهيد، ($P < 0.001$) والكولسترول، ($p < 0.001$) والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة ($P < 0.001$) في المجاميع الثلاث عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة . من ناحية أخرى لوحظت زيادة معنوية ($p < 0.01$) في تركيزي

الكليسيريدات الثلاثية والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جداً في المجموعة الثانية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة . و لوحظ أيضاً نقصان معنوي ($p<0.001$) في تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة في مجاميع النساء الثلاث اظهر تحليل الانحدار الخطي ارتباط معنوي موجب لتركيز المألون ثنائي الالديهيد ($r=0.27, p<0.01$) و ارتباط معنوي سالب ($r = -0.37, p<0.01$) في مستويات البروتينات عالية الكثافة مع مدة تعاطي أقراص منع الحمل. للتحقق من تأثير عدد الأطفال في المعايير المدروسة فقد استعمل تحليل الانحدار الخطي لتحليل النتائج واطهر ارتباطاً معنوياً موجباً لتركيز المألون ثنائي الالديهيد ($r = 0.43, p<0.01$) مع عدد الأطفال في حين لم تظهر معايير صورة الدهون المصلية مثل هذا الارتباط .

تشير النتائج هذه إلى الدور المحث لأقراص منع الحمل في العمليات التاكسدية و لذلك فان هذه الملاحظة جديرة بالإدراك عند تقويم حالة النساء اللواتي يتعاطين هذه الأقراص .