

KUFA UNIVERSITY  
COLLEGE OF MEDICINE

# OXIDATIVE STRESS DURING PREGNANCY

A THESIS

SUBMITTED TO THE COLLEGE OF MEDICINE  
KUFA UNIVERSITY AS A PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN  
BIOCHEMISTRY

BY

SHAFaq KADHIM SALEH AL-AZZAWI  
B.Sc. PHARMACY 1996  
BAGHDAD UNIVERSITY

SUPERVISORS

Prof. Dr. RAZAK J. AL-ESSA

&

Ass. Prof. Dr. MAJID KADHIM HUSSAIN

2008

## **Acknowledgements**

Thanking God for giving me power and health to complete this work and get this degree.

I would like to introduce my deep gratefulness to my supervisors; Prof. Dr. Abdul-Razak Abdul-Jaleel for his fairness and generosity, & Dr. Majid Kadhim to whom I would like to express my deepest thankfulness. It has been an opportunity for me gaining their experience, learning the milestone of the scientific work principles, during these years.

I want to thank the staff of the Department of Biochemistry, College of Medicine, Kufa University, particularly the head of the Department, Dr. Ahmed Almuhana for his kind, support, attention, cooperation and notification during the work and Dr. Hamza Jasim for his help.

I am so thankful to Miss Muna Abd Al-Rredha for all her scientific knowledge, kind and patience.

My deepest thank to Babylon Pediatrics and Maternity Hospital especially to the clinical chemistry laboratory and the medical staff.

I am deeply indebted to my friends especially pharmacist Samir Najah for his support.

I am indeed grateful to my life companion, my husband Dhafir for his encouragement, confidence and forbearance.

I would like to express sincere gratitude to my mother, brothers; Jawdit & Ahmed and my sisters; Jenan, Rawnaq & Russul.

**Contents:**

<b>Abbreviations</b>	
<b>Abstract</b>	
<b><i>Chapter One: Introduction and literature review</i></b>	
<b>Introduction</b>	1
<b>1.1.Oxidative stress</b>	2
<i>1.1.1. Free radicals</i>	2
1.1.1.1. Generation of free radicals	3
1.1.1.2. Production and consumption of oxidants	5
<i>1.1.2. Chemical and biological effects of oxidative stress</i>	6
1.1.2.1. Oxidative damage to lipid	6
1.1.2.2. Oxidative damage to protein	9
1.1.2.3. Oxidative damage to DNA	10
<i>1.1.3. Causes of oxidative stress</i>	11
1.1.3.1. Toxic agents	11
1.1.3.2. Disease and tissue injury	12
1.1.3.3. Environmental air pollutants	12
<i>1.1.4. Antioxidant protection</i>	13
1.1.4.1. Dietary antioxidants	13
1.1.4.1.1. Ascorbic acid	13
1.1.4.1.2. Tocopherol	13
1.1.4.2. Endogenous antioxidants	14

1.1.4.2.1. Reduced glutathione (GSH)	14
1.1.4.2.2. Glutathione peroxidase	16
1.1.4.2.3. Glutathione reductase	17
1.1.4.2.4. Catalase	17
1.1.4.2.5. Superoxide dismutase (SOD)	17
<i>1.1.5. Oxidative stress and human diseases</i>	18
1.1.5.1. Atherosclerosis and heart disease	18
1.1.5.2. Diabetes mellitus	18
1.1.5.3. Chronic renal failure	19
1.1.5.4. Rheumatoid arthritis	19
1.1.5.5. Ischemia–reperfusion injury	19
1.1.5.6. Nervous system disease	19
1.1.5.7. Cancer	20
<b>1.2. Pregnancy</b>	21
<i>1.2.1. Biochemical changes during pregnancy</i>	23
<i>1.2.2. Lipid Changes in normal and preeclamptic pregnancies</i>	26
<i>1.2.3. Relevance of oxidative stress to pregnancy complications</i>	27
1.2.3.1. Gestational diabetes	27
1.2.3.2. Preeclampsia	28
1.2.3.3. Infection and inflammation	29
<i>1.2.4. Glutathione and the developing fetus</i>	29
<b>Aims of the work</b>	31

<b><i>Chapter Two: Materials and methods</i></b>	
2.1. Chemicals	32
2.2. Apparatus and equipment	33
2.3. Patients and control group	33
2.4. Collection of samples	34
2.5. Methods	34
2.5.1. Determination of serum reduced glutathione (GSH)	34
2.5.2. Determination of malondialdehyde (MDA)	37
2.5.3. Determination of serum glutathione peroxidase (GPx)	38
2.5.4. Biostatistical analysis	40
<b><i>Chapter Three: Results and discussion</i></b>	
3.1. Measurement of GSH , MDA and GPx in pregnant women and control group	41
3.2. Relevance of ages of pregnant women with GSH, GPx and MDA values	42
3.3. Influence of body mass index (BMI) on GSH , MDA and GPx values in pregnant women	44
3.4. The impact of preeclampsia on serum GSH , MDA and GPx values in pregnant women	46
3.5. GSH , MDA and GPx values dependency on gestational age	49
3.6. Modulation of GSH , MDA and GPx values in pregnant women due to parity	50
<b>Conclusions</b>	70
<b>References</b>	71

## Abbreviations

<b>A</b> .....	Absorbance
<b>ADP</b> .....	Adenosine diphosphate
<b>ADS</b> .....	Antioxidant defense system
<b>ALP</b> .....	Alkaline phosphatase
<b>ALT</b> .....	Alanine aminotransferase
<b>Ang</b> .....	Angiotensin
<b>ANOVA</b> .....	Analysis of variance
<b>AST</b> .....	Aspartate aminotransferase
<b>ATP</b> .....	Adenosine triphosphate
<b>BMI</b> .....	Body mass index
<b>DW</b> .....	Distilled water
<b>DTNB</b> .....	5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)
<b>EDTA</b> .....	Ethylene diamine tetra acetic acid
<b>FAD</b>	Flavine mononucleotide

.....	
<b>FFA</b>	Free fatty acid
.....	
<b>g</b> .....	Gram
<b>GGT</b>	Gamma-glutamyl transferase
.....	
<b>GPx</b>	Glutathione peroxidase
.....	
<b>GSH</b>	Reduced glutathione
.....	
<b>GSSG</b>	Oxidized glutathione
.....	
<b>GST</b>	Glutathione S- transferase
.....	
<b>HA</b> .....	Habitual abortion
<b>hCG</b>	Human choriogonadotrophin
.....	
<b>HDL</b>	High density lipoprotein
.....	
<b>hPL</b>	human placental lactogen
.....	
<b>8-OHdG</b>	8-hydroxydeoxyguanosine
.....	
<b>IgG</b> .....	Immunoglobulin G
<b>KD</b> .....	Kilo Dalton

<b>L</b> .....	Liter
<b>LDL</b> .....	Low density lipoprotein
<b>LPO</b> .....	Lipid peroxidation
<b>MDA</b> .....	Malondialdehyde
<b>ml</b> .....	Milliliter
<b>μl</b> .....	Microliter
<b>μM</b> .....	Micromolar
<b>NADPH</b> .....	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
<b>nm</b> .....	Nanometer
<b>PIH</b> .....	Pregnancy induced hypertension
<b>PUFA</b> .....	Polyunsaturated fatty acid
<b>r</b> .....	Correlation
<b>ROS</b> .....	Reactive oxygen species
<b>SD</b>	Standard deviation

.....

**SOD** ..... Superoxide dismutase

.....

**TBA** ..... Thiobarbituric acid

**TCA** ..... Trichloro acetic acid

**TNF** ..... Tumor necrosis factor

**VLDL** ..... Very low density lipoprotein

### **Abstract**

The current study was designed to verify the oxidative stress status in pregnant women. To achieve this aim, 108 pregnant and 52 healthy non pregnant women (control group) were enrolled. Serum glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GPx) values were measured in all subjects. Significant ( $p < 0.001$ ) decreases were found in the levels of serum GSH and GPx in the pregnant women when compared with those of the control group. Serum MDA levels were found to be significantly ( $p < 0.001$ ) elevated in pregnant women when compared with those of control group. The linear regression analysis demonstrated significant ( $r = 0.36, 0.31, p < 0.05$ ) negative correlation for GSH and GPx values respectively and significant ( $r = 0.33, p < 0.05$ ) positive correlation for MDA values with the age of pregnant women. The data indicated significant ( $p < 0.05$ ) decrease of GSH level, and a significant ( $p < 0.01$ ) elevation of MDA level in obese when compared with those of non obese women. Preeclampsia indicated significantly ( $p < 0.01$ ) decrease in GSH and GPx values and significantly ( $p < 0.01$ ) increase in MDA values when compared with those of healthy pregnant. Significant ( $p < 0.05$ ) elevation for GSH and GPx levels were indicated in pregnant women of the third trimester when compared with first trimester, the results also showed significant ( $p < 0.05$ ) rise of GSH and GPx and a significant ( $p < 0.05$ ) decrease of MDA levels in healthy pregnant of third trimester with respect to those of second trimester. Study of parity demonstrated to have significant ( $p < 0.05$ )

decrease in GSH and GPx values and significant ( $p < 0.05$ ) increase in MDA values in pregnant women who were para 5 or more when compared with those who were para 1 or 2.

The results illustrate the impact of pregnancy on oxidative stress parameters

جامعة الكوفة  
كلية الطب

# الإجهاد التأكسدي خلال فترة الحمل

رسالة

مقدمة إلى عمادة كلية الطب في جامعة الكوفة  
كإستكمال جزئي لمتطلبات نيل درجة الماجستير  
في الكيمياء الحياتية

من قبل

شفق كاظم صالح العزاوي

بكالوريوس علوم صيدلة

جامعة بغداد ١٩٩٦

إشراف

الأستاذ الدكتور عبد الرزاق عبد الجليل

الدكتور ماجد كاظم حسين

## الخلاصة

تم تصميم الدراسة الحالية للتحقق من تغيرات الإجهاد التأكسدي عند الحوامل . شملت الدراسة ١٠٨ امرأة حامل و ٥٢ امرأة أصحاء ليسوا حوامل (استعملت بوصفها مجموعة سيطرة ) . تم تقدير مستويات الكلوتاثايون المختزل ، مالون ثنائي الألديهيد و كلوتاثايونبيروكسيديز في أمصال النساء الحوامل ومجموعة السيطرة . لوحظ نقصان معنوي ( $p<0.001$ ) في مستويات الكلوتاثايون المختزل و كلوتاثايونبيروكسيديز مع زيادة معنوية ( $p<0.001$ ) في مستوى مالون ثنائي الألديهيد لدى النساء الحوامل عند مقارنتها مع مثيلاتها في مجموعة السيطرة . اظهر تحليل الانحدار الخطي ارتباطاً معنوياً ( $r = 0.36, 0.31, p<0.05$ ) سالباً لمستويات الكلوتاثايون المختزل و كلوتاثايونبيروكسيديز و ارتباطاً معنوياً ( $r = 0.33, p<0.05$ ) موجباً لمستوى مالون ثنائي الألديهيد مع أعمار النساء الحوامل كما أشارت الدراسة إلى نقصان معنوي ( $p<0.05$ ) في مستوى الكلوتاثايون المختزل مع زيادة معنوية ( $p<0.01$ ) في مستوى مالون ثنائي الألديهيد لدى النساء الحوامل ذوات معيار الكتلة الجسمي (BMI) العالي. دلت الدراسة أيضاً على نقصان معنوي ( $p<0.01$ ) في مستويات الكلوتاثايون المختزل و كلوتاثايونبيروكسيديز مع زيادة معنوية ( $p<0.01$ ) في مستوى مالون ثنائي الألديهيد لدى الحوامل المصابات بسدمية الحمل (Preeclampsia) عند مقارنتها مع مثيلاتها في الحوامل الغير مصابات بهذه المتلازمة. و اظهرت النتائج زيادةً معنوية ( $p<0.05$ ) لمستويات الكلوتاثايون المختزل و كلوتاثايونبيروكسيديز في الفصل الثالث عند مقارنتها بالفصل الأول من الحمل، كما اظهرت ايضاً زيادةً معنوية ( $p<0.05$ ) لمستويات الكلوتاثايون المختزل و كلوتاثايونبيروكسيديز و نقصاناً معنوياً ( $p<0.05$ ) لمستوى مالون ثنائي الألديهيد في الفصل الثالث عند مقارنتها بالفصل الثاني من الحمل لدى الحوامل الأصحاء. و بينت النتائج وجود نقصان معنوي ( $p<0.05$ ) في مستويات الكلوتاثايون المختزل و كلوتاثايونبيروكسيديز مع زيادة معنوية ( $p<0.05$ ) في مستوى مالون ثنائي الألديهيد لدى الحوامل اللواتي لديهن ٥ حالات إنجاب أو أكثر عند مقارنتها مع اللواتي لديهن ١ او ٢ .

توضح النتائج إن هناك دور للحمل بالتأثير على علامات الاجهاد التأكسدي