مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و پراکسیدهای سرم در مدت امتحانات و بعد از آن

مژگان عرفانی[1]، فاطمه شهابی زاده[2]، مرجان عرفانی[3]، مهناز رضایی[4]، اسلام خرازی نژاد[5]، علیرضا نخعی[6]

۱- دانشگاه فرهنگیان، پردیس رسالت زاهدان، ایران و دانشگاه آزاد اسلامی واحد بیرجند، بیرجند، ایران

۲- استادیارگروه روانشناسی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بیرجند، بیرجند، ایران

۳- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

٤- کارشناس آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

۵- کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

٦- دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، **(نویسنده مسئول)**، زاهدان، ایران، Email: alireza_nakhaee@yahoo.com

چکیده:

مقدمه: اضطراب امتحان در صورت شدید بودن می تواند، مشکلات جسمانی را برای افراد ایجاد کند. یکی از عواملی که می تواند در بروز مشکلات جسمانی در شرایط اضطرابی نقش داشته باشد، عدم تعادل آنتی اکسیدان ها و اکسیدان های بدن است. هدف مطالعه حاضر بررسی وضعیت آنتی اکسیدانی/اکسیدانی سرم در شرایط اضطراب امتحان است.

روش پژوهش: این مطالعه که از نوع قبل و بعد است، در دو مرحله بر روی ٤٨ دانشجو انجام شد. در هر مرحله، از افراد ٤ میلی لیتر خون دریافت و غلظت کورتیزول، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و اکسیدان های تام سرم اندازه گیری شد. نتایج با استفاده از آزمون t زوجی یا آزمون رتبه ای ویلکوکسون مقایسه شدند. ارتباط شاخص ها با استفاده از آزمون همبستگی پیرسون مورد آنالیز قرارگرفت و P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: غلظت کورتیزول و اکسیدان های تام سرم در دوره امتحانات به طور مشخصی بیشتر از دوره پس از تعطیلات بود (P<۰/۰۰۱). در حالیکه ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و ضریب استرس اکسیداتیو در دوره امتحانات در مقایسه با دوره پس از آن به طور مشخصی کمتر بود (P<۰/۰۰۱). بین غلظت کورتیزول و آنتی اکسیدان تام در دوره امتحانات ارتباط منفی و معنی داری وجود داشت (r=۰/٤۲- و P<۰/۰۱). ولی بین غلظت کورتیزول و آنتی اکسیدان تام ارتباطی مشاهده نشد (r=۰/۲۷۵ و P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: بالا بودن میزان کورتیزول سرم در دوره امتحانات در مقایسه با پس از تعطیلات نشان دهنده وجود اضطراب امتحان در دانشجویان است. بالا بودن اکسیدان های توتال و پایین بودن ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و ضریب استرس اکسیداتیو در ایام امتحانات در مقایسه با دوره بعد از آن دلالت بر وقوع استرس اکسیداتیو در دوره اضطراب امتحان دارد.

کلید واژه ها: اضطراب امتحان، استرس اکسیداتیو، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، اکسیدان تام.

مقدمه

اضطراب یک حالت احساسی- هیجانی است که از خصوصیات برجسته آن، ایجاد بی قراری و دلواپسی است که با اتفاقات زمان و شرایط مکان تناسب ندارد (۱). اضطراب امتحان گونه ای از اضطراب است که در موقعیت ارزشیابی یا حل مسئله بروز می کند و محور آن، تردید درباره عملکرد، استعداد و توانایی خویش به هنگام امتحان و موقعیت ارزیابی است و پیامد آن، افت بارز توانایی مقابله با موقعیت است. به عبارت دیگر، اضطراب سطح بروز عملکرد را تقلیل یافته تر از سطح واقعی فرد قرار می دهد (۲). علاوه بر این شواهدی وجود دارد که استرس های روانی یکی از مهم ترین دلایل پیشرفت بیماری های

Archive of SID

www.SID.ir

وابسته به "استرس اکسیداتیو" از جمله بیماری های قلبی عروقی، دیابت، سرطان و سکته هستند. گرچه مکانیسم های به وجود آورنده اضطراب کاملاً مشخص نشده است ولی در سال های اخیر دخالت استرس اکسیداتیو در ایجاد اختلالات اضطرابی نشان داده شده است (۳). استرس اکسیداتیو، عدم تعادل بین فرآیندهای بیوشیمیایی تولید کننده گونه های فعال اکسیژن و واکنش های حذف کنندهٔ آنها (مکانیسم های آنتی اکسیدان) است. به عبارت دیگر عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها تحت عنوان استرس اکسیداتیو نامیده می‌شود. گونه های فعال اکسیژن گروهی از مواد هستند که به میزان کم طی متابولیسم هوازی طبیعی سلول ها تولید می شوند (٤). این مواد رادیکال آزاد نیز نامیده می شوند. رادیکال‌های آزاد عموماً ترکیباتی ناپایدار، بسیار واکنش‌پذیر و مولکول‌هایی پر انرژی هستند (۵). به توجه به اینکه رادیکال‌های آزاد یا گونه‌های فعال اکسیژن ترکیبات شیمیایی بسیار فعالی هستند، قادرند از طریق حمله به ماکرومولکول‌هایی مثل لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک باعث آسیب اکسیداتیو به بافت‌های زنده شوند (٦). در بدن سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی وجود دارد که رادیکال های آزاد را خنثی کرده و آسیب وارد به سلول را به حداقل می رساند. تحت شرایط فیزیولوژیکی بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی تعادل وجود دارد. سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی به دو گروه آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می شوند. آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی عبارتند از گلوتاتیون احیاء، گروه های تیول موجود در پروتئین ها، ویتامین C، ویتامین E، بتاکاروتن، اسیداوریک و آنتی اکسیدان های آنزیمی شامل گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ترانسفراز و کینون ردوکتاز می باشند (۷، ۸). آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی در مجموع "ظرفیت آنتی اکسیدانی تام" نامیده می شوند. عدم تعادل بین فرآیندهای تولید کننده گونه های فعال اکسیژن و مکانیسم های خنثی کننده آنها منجر به تجمع رادیکال های آزاد و در نتیجه استرس اکسیداتیو می گردد. در چنین شرایطی، رادیکال های آزاد قادرند به تمام اجزاء سلولی (لیپیدها، پروتئین ها، کربوهیدرات ها و اسیدهای نوکلئیک) حمله کرده و آنها را اکسید کنند. ترکیبات سلولی با اکسید شدن، فعالیت طبیعی خود را از دست می دهند، لذا گفته می شود دچار آسیب اکسیداتیو شده اند. بعضی از بیماری ها، نتیجه آسیب اکسیداتیو ترکیبات سلولی هستند (۹، ۱۰) تحقیقات چند دهه گذشته دخالت استرس اکسیداتیو را در ایجاد تعدادی از بیماری ها به ویژه آترواسکلروزیس، بیماری های دژنراتیو عصبی، سرطان، دیابت و ... نشان داده است (۱۱). وقوع استرس اکسیداتیو را در بدن می توان با اندازه گیری تعدادی از ترکیبات که شاخص های استرس اکسیداتیو نامیده می شوند یا با اندازه گیری آنتی اکسیدان ها و اکسیدان های تام مورد بررسی قرار داد. هدف این مطالعه بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، اکسیدان های تام و ضریب استرس اکسیداتیو سرم افراد سالم در شرایط اضطراب امتحان و در شرایط بدون اضطراب بوده است.

روش پژوهش:

شرکت کنندگان و پرسشنامه ها:

این تحقیق "قبل و بعد" بر روی دانشجویان پردیس رسالت خواهران دانشگاه فرهنگیان زاهدان که ساکن خوابگاه بودند و تغذیه تقریباً یکسانی داشتند، انجام شد. انتخاب نمونه به روش نمونه گیری آسان و در دسترس صورت گرفت. پس از شرح هدف تحقیق، فواید و خطرات احتمالی آن برای دانشجویان، تعداد ٤٨ نفر از دانشجویان که بر اساس اعلام خودشان از سلامت کامل جسمانی برخوردار بودند، جهت شرکت در مطالعه انتخاب شدند. افرادی که مکمل های ویتامینی و یا دارو استفاده می کردند و یا در دوران قاعدگی بودند از مطالعه خارج شدند. مطالعه در دو مرحله انجام شد: مرحله اول (دوره امتحانات) ۱۳ روز پس از شروع امتحانات پایان نیمسال اول و مرحله دوم (دوره پس از امتحانات) حدود یکماه بعد از آن و پس از سپری شدن تعطیلات بین دو ترم و

Archive of SID
www.SID.ir

ساکن شدن دانشجویان در خوابگاه انجام شد. علت انتخاب ۱۳ روز پس از شروع امتحانات این است که دانشجویان یک دوره چند روزه (دوره نسبتاً مزمن) اضطراب را پشت سر گذاشته باشند. چرا که اضطراب آنی ممکن است بر متغیرهای مورد مطالعه ما اثری نداشته باشد . زمان دوم نمونه گیری را که دوره بدون اضطراب بود، ٤ هفته بعد از امتحانات انتخاب کردیم. چون دانشجویان بعد از پایان امتحانات به تعطیلات می رفتند و یک دوره بدون اضطراب را سپری کرده و پس از گذشت حدود دو هفته مراجعت می کردند. دو هفته دیگر را جهت عادت کردن دانشجویان با شرایط خوابگاه در نظر گرفته و بدین صورت مرحله دوم حدود ۳۰ روز بعد از مرحله اول انجام شد تا تأثیر اضطراب امتحان بر بدن کاملاً از بین رفته باشد.

در هر مرحله از دانشجویان خواسته شد که پرسشنامه اضطراب بک را تکمیل نمایند (۱۲). این پرسشنامه شامل ۲۱ سوال است و هر سوال بیانگر یکی از علایم اضطراب است. فرد باید فهرست علایم را بخواند و شدت هر علامت را در خود طی هفتهٔ گذشته درجه بندی کند و در ستون های "اصلاً "، "خفیف"، "متوسط" و "شدید" علامت بزند. این گزینه های چهارگانه به ترتیب امتیاز صفر، ۱، ۲ و ۳ می گیرند. دامنه نمرات کل پرسشنامه می تواند از ۰ تا ٦۳ باشد. در مرحله امتحانات شرکت کنندگان به پرسشنامه اضطراب امتحان ابوالقاسمی (۱۳) نیز پاسخ دادند. پرسشنامه اضطراب امتحان مشتمل بر ۲۵ سوال است و هر سوال چهار مقیاس دارد: "هرگز"، "به ندرت"، "گاهی اوقات"، و "اغلب اوقات". گزینه های به ترتیب امتیاز صفر، ۱، ۲ و ۳ می گیرند. حداقل نمره آزمون صفر و حداکثر ۷۵ است. ضریب پایایی و روایی پرسشنامه اضطراب امتحان به ترتیب ۰/۹۳ و ۰/۷۲ بود. در هر مرحله، توسط دو نفر تکنسین ماهر آزمایشگاهی در ساعت ۷ تا ۹ شب از داوطلبان حدود ٤ میلی لیتر خون گرفته شد. نمونه های خون بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و سرم جدا شد. سرم تا زمان انجام آزمایش در $-70^{\circ}C$ نگهداری شد.

آزمایش های بیوشیمیایی:

اندازه گیری کورتیزول سرم:

کورتیزول سرم به روش الیزا با استفاده از کیت ساخت شرکت Diaplus آمریکا، بر طبق روش شرکت سازنده اندازه گیری شد.

اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام:

ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم طبق روش رنگ سنجی Erel اندازه گیری شد (١٤). در این روش ماده ای به نام ۲و′۲-آزینوبیس-۳-اتیل بنزوتیازولین-٦- سولفونات (ABTS) که در حالت احیاء بدون رنگ است، توسط یک اکسید کننده مثل پرسولفات پتاسیم اکسید می شود تا به رادیکال +ABTS که رنگ سبز مایل به آبی دارد، تبدیل شود. در صورتیکه ماده ای با توان آنتی اکسیدانی به این رادیکال اضافه شود آنرا احیاء کرده و باعث می شود رنگ آن کاهش یابد. کاهش شدت رنگ با میزان آنتی اکسیدان نسبت مستقیم دارد. روش کار بدین صورت بود که ۱۰ میلی گرم ABTS در آب محتوی ۲/۵ میلی مولار پتاسیم پرسولفات حل و اجازه داده شد به مدت ۳ ساعت در درجه حرارت آزمایشگاه به دور از نور بماند تا رادیکال +ABTS ایجاد شود. محلول اکسید ABTS با آب طوری رقیق شد که جذب نوری آن در طول موج ۷۳٤ نانومتر برابر ۰/۷ باشد. سپس به ۱ میلی لیتر از این محلول ۱۰ میکرولیتر سرم اضافه و پس از ۱۰ دقیقه در طول موج ۷۳٤ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر (WPA) قرائت شد. از آنالوگ محلول در آب ویتامین E (ترولوکس [Trolox]) به عنوان استاندارد آنتی اکسیدان استفاده شد و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم بر اساس معادل میلی مولارهای ترولوکس گزارش گردید.

اندازه گیری غلظت پراکسید تام:

غلظت پراکسیدهای تام سرم با استفاده از روش FOX1 اندازه گیری شد (۱۵). این روش بر اساس اکسیداسیون یون های فرو موجود در معرف توسط پراکسیدهای سرم و

Archive of SID
www.SID.ir

سپس واکنش یون های فریک حاصل با گزیلونول نارنجی و تشکیل کمپلکس بنفش رنگ بنا نهاده شده است. معرف FOX1 شامل ۱۰۰ میکرومولار گزیلونول نارنجی،۲۵۰ میکرومولار آمونیوم فروسولفات، ۲۵ میلی مولار اسیدسولفوریک و ۱۰۰ میلی مولار سوربیتول است. به ۱ میلی لیتر معرف FOX1 ۵۰ میکرولیتر سرم اضافه و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در درجه حرارت اتاق جذب در طول موج ۵۸۰ نانومتر قرائت گردید. با استفاده از غلظت های ۵۰ تا ۲۰۰ میکرومولار H2O2 منحنی استاندارد رسم و غلظت پراکسیدهای سرم در واحد میکرومولار (μM) محاسبه شد.

محاسبه ضریب استرس اکسیداتیو:

ضریب استرس اکسیداتیو[1] از تقسیم غلظت آنتی اکسیدان های تام سرم بر غلظت اکسیدان های توتال در یک واحد (میکرومول بر لیتر) محاسبه شد. ضریب استرس اکسیداتیو فاقد واحد است.

آنالیزهای آماری:

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخهٔ ۱۵ انجام شد. در صورتیکه نتایج از توزیع نرمال برخوردار بودند، نتایج دو مرحله آزمایش با استفاده از آزمون t زوجی، در غیر این صورت با استفاده از آزمون رتبه ای ویلکوکسون مقایسه شدند. نتایج به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش گردید. ارتباط بین متغیرها در دوره امتحانات با استفاده از آزمون پیرسون مورد آنالیز قرار گرفت. در تمام آزمون ها p کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها:

توزیع سنی افراد شرکت کننده در این طرح ۲۲/۵±۲/۶ بود. در این طرح ۶۲ نفر دانشجو اعلام آمادگی نمودند که با توجه به معیارهای ورود و خروج ۴۸ نفر انتخاب شدند.

[1] Oxidative Stress Index, OSI

امتیاز پرسشنامه های اضطراب بک در دوره امتحانات (۲۶/۲۷±۱۴/۰۴) به طور معنی داری بیشتر از دوره بعد از آن (۱۸/۲۷±۱۱/۴۷) بود (P<۰/۰۱). امتیاز پرسشنامه اضطراب امتحان شرکت کنندگان در دوران امتحانات از ۷۵ امتیاز ۴۰/۵۶±۱۸/۷۶ بود.

به منظور انتخاب آزمون آماری مناسب برای مقایسه متغیرها، نرمالیته متغیرها با آزمون کلموگرف- اسمیرنوف بررسی شد. همانگونه که نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است، به جز غلظت کورتیزول بقیه متغیرها از توزیع نرمال برخوردار بودند، لذا جهت مقایسه کورتیزول در مرحله امتحانات با مرحله بعد، از آزمون ویلکوکسون و جهت مقایسه سایر متغیرها از آزمون تی زوجی استفاده شد.

جدول ۱- نتایج آزمون کولموگرف- اسمیرنوف جهت بررسی نرمالیته متغیرها

متغیر	تعداد	P
کورتیزول در دوره امتحانات	۴۸	۰/۰۰۶
کورتیزول بعد از امتحانات	۴۸	۰/۰۵
آنتی اکسیدان تام در دوره امتحانات	۴۸	۰/۲
آنتی اکسیدان تام بعد از امتحانات	۴۸	۰/۲
اکسیدان تام در دوره امتحانات	۴۸	۰/۲
اکسیدان تام بعد از امتحانات	۴۸	۰/۲
ضریب استرس اکسیداتیو در دوره امتحانات	۴۸	۰/۲
ضریب استرس اکسیداتیو بعد از امتحانات	۴۸	۰/۲

همانگونه که در جدول ۲ نشان داده شده است، غلظت کورتیزول و پراکسیدهای تام در دوره امتحانات به طور معنی داری بیشتر از دوره بدون امتحان بود (P<۰/۰۰۱). بر عکس غلظت آنتی اکسیدان تام و ضریب استرس اکسیداتیو در ایام امتحانات در مقایسه با بعد از آن کمتر بود (P<۰/۰۰۱).

جدول ۲- میزان کورتیزول و مارکرهای استرس اکسیداتیو در دوره امتحانات و بعد از آن. نتایج به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شده است.

زمان / متغیر	دوره امتحانات	بعد از امتحانات	P
کورتیزول (میکروگرم در لیتر)	۷/۶۸ ± ۲/۴۰	۵/۵۹ ± ۱/۲۹	<۰۰۱
آنتی اکسیدان تام (میلی مولار)	۱/۹۵۴ ± ۰/۵۶۷	۲/۴۹۷ ± ۰/۸۲۱	<۰۰۱
پراکسید تام (میکرومولار)	۵۹/۴۹ ± ۱۳/۶۴	۴۵/۵۸ ± ۹/۸۳	<۰۰۱
ضریب استرس اکسیداتیو	۳۵/۵۶ ± ۱۵/۷۲	۵۸/۵۷ ± ۲۵/۶۶	<۰۰۱

Archive of SID
www.SID.ir

به جز غلظت کورتیزول بقیه متغیرها از توزیع نرمال برخوردار بودند، لذا جهت مقایسه کورتیزول در مرحله امتحانات با مرحله بعد، از آزمون ویلکوکسون و جهت مقایسه سایر متغیرها از آزمون تی زوجی استفاده شد.

نتایج حاصل از بررسی ارتباط بین متغیرها در دوره امتحانات در جدول ۳ ارائه شده است. بین غلظت کورتیزول با فعالیت آنتی اکسیدانی تام و ضریب استرس اکسیداتیو ارتباط معکوس معنا داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$)، ولی بین غلظت کورتیزول با غلظت پراکسیدهای تام ارتباطی مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). ارتباط بین غلظت آنتی اکسیدان تام و پراکسیدهای تام یک ارتباط معنا دار منفی بود.

جدول ۳- همبستگی غلظت کورتیزول با مارکرهای استرس اکسیداتیو و ارتباط این مارکرها با هم در مدت امتحانات

پارامترهای آماری / زوج متغیر	ضریب همبستگی پیرسون	P
غلظت کورتیزول و غلظت آنتی اکسیدان تام	-۰/٤۲۱	۰/۰۰۳
غلظت کورتیزول و غلظت پراکسید تام	۰/۲۷۵	۰/۰۷
غلظت کورتیزول و ضریب استرس اکسیداتیو	-۰/۲۹۸	۰/۰٤
غلظت آنتی اکسیدان تام و غلظت پراکسید تام	-۰/٤۸۱	۰/۰۰۱
غلظت آنتی اکسیدان تام و ضریب استرس اکسیداتیو	۰/۸۹۱	<۰/۰۰۱
غلظت اکسیدان تام و ضریب استرس اکسیداتیو	-۰/۷٦۷	<۰/۰۰۱

بحث و نتیجه گیری:

استرس امتحان یکی از مدل های طبیعی اضطراب است که جهت بررسی اثر اضطراب بر بدن مورد استفاده قرار می گیرد. در مطالعه حاضر، ما وضعیت آنتی اکسیدانی- اکسیدانی سرم را در دوره امتحانات پایان ترم در تعدادی از دانشجویان دختر رشته دبیری دانشگاه فرهنگیان، پردیس رسالت زاهدان مورد بررسی قرار دادیم. همه دانشجویان وارد شده در این طرح ساکن خوابگاه بودند تا از شرایط نسبتاً یکسانی برخوردار بوده و تأثیر ناشی از تفاوت های تغذیه ای و محیطی بر روی نتایج بیوشیمیایی این طرح به حداقل برسد. این مطالعه طی دو مرحله (دوره امتحان و پس از امتحان) با فاصله یک ماه انجام شد. در مرحله اول دانشجویان یک دورهٔ ۱۳روزه نگرانی از امتحانات را سپری کردند. دلیل انتخاب این فاصله زمانی این بود که شرکت کنندگان در این تحقیق یک دوره تقریباً مزمن اضطراب را پشت سر گذاشته باشند. در مرحله دوم که دوره بدون امتحان بود دانشجویان نگرانی نداشته و در یک مرحله آرامش نسبی به سر می بردند.

بالا بودن امتیاز پرسشنامه های اضطراب و غلظت کورتیزول در دوره امتحانات در مقایسه با بعد از امتحانات نشان دهندهٔ این است که امتحانات پایان ترم باعث بروز اضطراب در دانشجویان شده است. نتایج چندین تحقیق نیز افزایش اضطراب را در دوره امتحانات در مقایسه با قبل یا بعد از آن نشان داده است (۱۸-۱٦). در واقع اضطراب با اثر بر محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال ترشح کورتیزول را افزایش می دهد (۱۹). چند تحقیق نیز اثر استرس امتحانات را بر کورتیزول بزاق دانش آموزان مقطع ابتدایی و دانشجویان پزشکی بررسی کرده اند. نتایج آنها در توافق با نتایج ما نشان داد که میزان کورتیزول بزاق در ایام امتحانات به مقدار چشمگیری بیشتر از قبل و بعد از امتحانات است (۲۲-۲۰).

اندازه گیری توان آنتی اکسیدان تام و پراکسید تام در مایعات بدن شاخص هایی هستند که جهت بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو استفاده می شوند (۲۳). یافته های ما نشان می دهد که توان آنتی اکسیدانی تام و ضریب استرس اکسیداتیو در شرایط اضطراب ناشی از امتحانات کمتر از دوره بعد از آن است. در حالیکه میزان پراکسید تام در دوره امتحانات در مقایسه با شرایط بدون اضطراب بیشتر است. این یافته ها بیانگر این است که اضطراب امتحان می تواند باعث وقوع استرس اکسیداتیو در بدن شود. نتایج ما تأیید کننده یافته های بسیاری از محققین در مورد ارتباط اضطراب و استرس اکسیداتیو است.

Sivonova و همکاران، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم و آسیب اکسیداتیو DNA و لیپیدها را در دوره اضطراب امتحان در دانشجویان پزشکی بررسی کردند. نتایج آنها کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، افزایش آسیب اکسیداتیو DNA و میزان مالون دی آلدئید (شاخص آسیب اکسیداتیو چربی ها) را نشان داد (۲٤). گلوتاتیون احیاء و

Archive of SID
www.SID.ir

توتال تیول از اجزاء ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم هستند. Eskiocak و همکاران میزان گلوتاتیون و توتال تیول را در مایع سمینال (منی) دانشجویان رشته پزشکی در دوره امتحانات و پس از آن بررسی کردند. نتایج آنها نشان دهندهٔ کاهش گلوتاتیون و توتال تیول مایع منی در دوره امتحانات در مقایسه با بعد از آن است (۲۵). در مطالعه دیگری ظرفیت تعمیری DNA در دانشجویان رشته پزشکی که از سلامت جسمانی برخوردار بودند در دوره امتحانات و پس از آن مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه در سومین روز از یک دورهٔ ۵ روزه امتحانات و سپس ۳ هفته بعد، پس از گذراندن تعطیلات از نظر ظرفیت تعمیر DNA آسیب دیده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه این محققین نشان می دهد که در دوره امتحانات که دانشجویان اضطراب بیشتری داشتند، ظرفیت تعمیری DNA آنها افزایش می یابد. آنها نتیجه گیری کردند که در دوره اضطراب امتحان آسیب اکسیداتیو وارد به DNA افزایش یافته و در یک مکانیسم جبرانی فعالیت سیستم تعمیری برای ترمیم این آسیب ها افزایش می یابد (۲۶).

طی دو تحقیق فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و میزان مالون دی آلدئید در سرم بیماران مبتلا به اختلالات پانیک و اختلالات وسواسی- اجباری اندازه گیری شد. نتایج آنها کاهش آنزیم های آنتی اکسیدان و افزایش میزان مالون دی آلدئید را نشان می دهد (۲۷، ۲۸).

در یک مطالعه Li و همکاران ارتباط استرس های روانی و استرس اکسیداتیو را در مدل حیوانی بررسی نمودند و نشان دادند که فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در عضله موش تحت استرس روانی کاهش و میزان مالون دی آلدئید آن افزایش می یابد. این تغییرات بیانگر وقوع استرس اکسیداتیو در شرایط اضطرابی می باشد (۲۹).

بررسی ارتباط کورتیزول با ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و پراکسید تام، در مطالعه ما نشان داد که بین غلظت آنتی اکسیدان تام و پراکسید تام یک ارتباط معنا دار و منفی وجود دارد. این رابطه به این دلیل است که آنتی اکسیدان ها باعث خنثی شدن ترکیبات اکسیدان شده و بدین ترتیب غلظت آنها را کاهش می دهند. بین غلظت کورتیزول با فعالیت آنتی اکسیدانی تام و ضریب استرس اکسیداتیو ارتباط معکوس معنا داری وجود دارد، ولی بین غلظت کورتیزول با غلظت اکسیدان تام ارتباطی مشاهده نشد. کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی تام در هر شرایطی باعث آسیب اکسیداتیو ترکیبات سلولی می شود. Joergensen و همکاران ارتباط بین کورتیزول دفع شده در ادرار و شاخص های آسیب اکسیداتیو DNA و RNA را در افراد سالم مطالعه کردند. نتایج آنها ارتباط شدیدی را بین میزان کورتیزول دفعی و شاخص های آسیب اکسیداتیو اسیدهای نوکلئیک نشان داد (۳۰) و تأیید کننده نتایج ما می باشد. اثر استرس های روانی و کورتیزول تزریقی بر روی آسیب اکسیداتیو DNA، در مدل های حیوانی (موشی) نیز نشان داده شده است (۳۳-۳۱).

آسیب اکسیداتیو ترکیبات سلولی یکی از پدیده هایی است که در فرآیند پیری نقش دارد (۳٤). آسیب های اکسیداتیو در پاتوژنز بیماری هایی مثل بیمارهای قلبی عروقی، بیماری های دژنراتیو عصبی (مانند آلزایمر، پارکینسون)، ضعف سیستم ایمنی و سرطان نیز دخالت دارند. استرس های روانی نیز در پیری زود رس و ایجاد بیماری های فوق تأثیر دارند. یکی از مکانیسم هایی که برای ارتباط استرس های روانی با بیماری های جسمانی ذکر شده است این است که افزایش کورتیزول سرم خون در اثر استرس های روانی، باعث بر هم خوردن تعادل اکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها و وقوع استرس اکسیداتیو در بدن و آسیب ترکیبات سلولی (لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک) و نهایتاً پیشرفت بیماری می شود (۳۵).

بعضی از مطالعات اخیر اضطراب را معلول استرس اکسیداتیو می دانند و نه علت آن. شواهدی وجود دارد که در افسردگی، اضطراب و سایر اختلالات روانی تولید گونه های فعال اکسیژن افزایش و ظرفیت آنتی اکسیدانی کاهش می یابد (۳٦، ۳۷). شواهدی نیز وجود دارد که استرس اکسیداتیو در نورون ها در بروز بسیاری از اختلالات نورولوژیک نقش دارند. سیستم عصبی به دلیل دارا بودن

Archive of SID
www.SID.ir

مقدار زیادی اسید چرب غیر اشباع به شدت مستعد آسیب اکسیداتیو می باشد، به طوریکه آنزیم ها، رسپتورها و کانال های غشاء های سلولی آن آسیب دیده و عملکرد نورون ها مختل می شود و اختلالات نورولوژیک ایجاد می گردد (۳۸).

کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و ضریب استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسید توتال در سرم افراد دچار اضطراب، دال بر این است که در شرایط اضطرابی استرس اکسیداتیو اتفاق می افتد، ولی اینکه اضطراب باعث استرس اکسیداتیو می شود یا اینکه اضطراب معلول استرس اکسیداتیو است کاملاً مشخص نیست و نیاز به تحقیقات بیشتری به ویژه در سطح ملکولی دارد.

تشکر و قدردانی:

هزینه این مطالعه از محل طرح های نویسنده مسئول، مصوب حوزه پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان تأمین شده است. از خانم ها احمدی و زردالی به خاطر همکاری در نمونه گیری و از پرسنل و دانشجویان محترم پردیس رسالت زاهدان به دلیل همکاری در این طرح تشکر و قدردانی می شود.

References:

1. Abolghasemi A. Anxiety, causes, assessment and treatment. Psychol Res J. 1999; 5(4): 82-97. [Persian]
2. Dadsetan P. Assessment and treatment of anxiety. Psychol J. 1997; 1(1): 31-60. [Persian]
3. Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety: Relationship and cellular pathways. Oxid Med and Cellr Longev 2009; 2(2): 63-67.
4. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 1993; 49(3):481–493.
5. Bagchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. Eastern Mediterranean Health Journal 1998; 4(2): 350-360.
6. Maiese K, Chong ZZ, Shang YC. Oxidative stress: Biomarkers and novel therapeutic pathways. Exp Gerontol 2010;45(3): 217-34.
7. Dryden GW, Deaciuc I, Arteel G, McClain CJ. Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy. Curr Gastroenterol Rep 2005;7(4): 308-16.
8. Limon-Pacheco J, Gonsebatt ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. Mut Res 2009; 674(1-2): 137-47.
9. Marlin DJ, Dunnett CE. Oxidative stress, oxidative damage and antioxidants – a beginner's guide. 2007. [1-6]. Available at: http://www.David.marlin.co.uk. Accessed November 1, 2011.
10. Wells PG, McCallum GP, Chen CS, Henderson JT, Lee CJ, Perstin J, Preston TJ, Wiley MJ, Wong AW. Oxidative stress in developmental origins of disease: teratogenesis, neurodevelopmental deficits, and cancer. Toxicol Sci 2009;108(1): 4-18.
11. Pasupathi P, Bakthavathsalam G, Saravanan G, Latha R. Evaluation of oxidative stress and antioxidant status in patients with diabetes mellitus. J App Sci Res 2009;5(7): 770-75.
12. Beck AT, Apstein N, Brown G. An inventory for measuring clinical anxiety: psychometric properties. J Consulting and Clinical Psychology 1988;56(6): 893-897.
13. Abolghasemi A. Construction and validation of test anxiety questionnaire. MSc Thesis: Ahvaz Chamran University; 1995; pp61-74 [Persian]
14. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical

Archive of SID
www.SID.ir

cation. Clin Biochem 2004;37(4): 277-85.
15. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem 2005;38(12): 1103-11
16. Eskiocak S, Gozen AS, Kilic AS, Molla S. Association between mental stress and some antioxidant enzymes of seminal plasma. Indian J Med Res 2005;122(6): 491-6.
17. Maes M, Van Der Planken M, Van Gastel A, Bruyland K, Van Hunsel F, Neels H, et al. Influence of academic examination stress on hematological measurements in subjectively healthy volunteers. Psychiatry Res 1998;80(3): 201-12.
18. Lovallo WR, Pincomb GA, Edwards GL, Brackett DJ, Wilson MF. Work pressure and the type A behavior pattern exam stress in male medical students. Psychosom Med 1986;48(1-2): 125-33.
19. Rohleder N, Schommer NC, Hellhammer DH, Engel R, Kirschbaum C. Sex differences in glucocorticoid sensitivity of proinflammatory cytokine production after psychosocial stress. Psychosom Med. 2001;63(6): 966-72.
20. Alipour A, Siadati SM. The effect of examination stress conditions on the cortisol level in primary school students and effect of personality on it. Gorgan Medical University Journal. 2006;18: 19-26. [Persian]
21. Singh R, Goyal M, Tiwari S, Ghildiyal A, Nattu SM, Das S. Effect of examination stress on mood, performance and cortisol levels in medical students. Indian J Physiol Pharmacol 2012;56(1): 48-55.
22. Krahwinkel T, Nastali S, Azrak B, Willershausen B. The effect of examination stress conditions on the cortisol content of saliva -a study of students from clinical semesters. Eur J Med Res 2004; 9(5): 256-60.
23. Kwak HK, Yoon S. Relation of serum total antioxidant status with metabolic risk factors in Korean adults. Nutr Res Pract 2007; 1(4): 335-340.
24. Sivonova M, Zitnanova I, Hlincíkova L, Skodacek I, Trebaticka J, Durackova Z. Oxidative stress in university students during examinations. Stress 2004; 7(3):183-8.
25. Eskiocak S, Gozen AS, Yapar SB, Tavas F, Kilic AS, Eskiocak M. Glutathione and free sulphydryl content of seminal plasma in healthy medical students during and after exam stress. Human Reproduction 2005;20(9): 2595–2600.
26. Cohen L, Marshall GD JR, Cheng L, Agarwal SK, Wei Q. DNA repair capacity in healthy medical students during and after exam stress. J Behav Med 2000; 23(6):531-44.
27. Kuloglu M, Atmaca M, Tezcan E, Gecici O, Tunckol H, Ustundag B. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in patients with obsessive-compulsive disorder. Neuropsychobiology 2002; 46(1):27-32.
28. Ozdemir E, Cetinkaya S, Ersan S, Kucukosman S, Ersan EE. Serum selenium and plasma malondialdehyde levels and antioxidant enzyme activities in patients with obsessive-compulsive disorder. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2009; 33(1): 62-5.
29. Li Q, Zhang M, Chen YJ, Wang YJ, Huang F, Liu J. Oxidative damage and HSP70 expression in masseter muscle induced by psychological stress in rats. Physiol Behav 2011; 104(3):365-72.
30. Joergensen A, Broedbaek K, Weimann A, Semba RD, Ferrucci L, et al. Association between urinary excretion of cortisol and markers of oxidatively damaged DNA and RNA in humans. PLoS ONE 2011;6(6): e20795.
31. Liu J, Wang X, Shigenaga MK, Yeo HC, Mori A, Ames BN. Immobilization stress causes oxidative damage to lipid, protein, and DNA in the brain of rats. FASEB J 1996;10(13): 1532–1538.

Archive of SID
www.SID.ir

32. Zafir A, Banu N. Modulation of in vivo oxidative status by exogenous corticosterone and restraint stress in rats. Stress 2008;12(2): 167–177.
33. Song L, Zheng J, Li H, Jia N, Suo Z, Cai Q, et al. Prenatal stress causes oxidative damage to mitochondrial DNA in hippocampus of offspring rats. Neurochem Res 2009; 34(4): 739–745.
34. Yu BP. Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction. Free Radic Biol Med 1996;21(5): 651-668.
35. McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators. N Engl J Med 1998;338(3): 171–179.
36. Arranz L, Guayerbas N, De la Fuente M. Impairment of several immune functions in anxious women. J Psychosom Res 2007;62(1): 1–8.
37. Bouayed J, Rammal H, Younos C, Soulimani R. Positive correlation between peripheral blood granulocyte oxidative status and level of anxiety in mice. Eur J Pharmacol 2007;564(1-3): 146–149.
38. Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety: Relationship and cellular pathways. Oxid Med and Cellr Longev 2009;2(2): 63-67..

Archive of SID

www.SID.ir

Comparison of total antioxidant capacity and serum peroxides during and after exams

Erfani Mozhgan[1], Shahabizadeh Fatemeh [2], Erfani Marjan[3], Rezaei Mahnaz[4], Kharazi Negad Eslam[5], **Nakhaee Alireza**[6]

1- M.Sc, Resalat paradise, Zahedan, Iran
2- Assistant professor of psychology, Islamic Azad univestity of Birjand, Birjand, Iran
3- MD, Zahedan, Iran
4- Bachelor of Science, Zahedan University of medical Sciences, Zahedan, Iran
5- M.Sc, Zahedan University of medical Sciences, Zahedan, Iran
6- (**Corresponding Author**), Associate professor of Biochemistry, Zahedan university of medical Sciences, Zahedan, Iran Email: alireza_nakhaee@yahoo.com

Abstract:

Introduction: Exam anxiety, if it be severe can also cause health problems for the individuals. The one of mechanisms that is involved in anxiety-related physical diseases is imbalance of antioxidants and oxidants. The aim of this study was to investigate total antioxidants and oxidants in exam anxiety condition.

Methods: The present study is a before and after research that was conducted on 48 female students and performed in two stage. In each stage 4ml of blood was taken from each individual. Cortisol, total antioxidants capacity and oxidants were determined in serum. Mean markers of proteins in two stages were compared using paired t-test or Wilcoxon rank test. Correlations between parameters were examined by Pearson Correlation test. The minimal level of significance was set at $P<0.05$.

Results: Cortisol concentrations and total oxidants levels were significantly higher during the exam period than after vacation ($P<0.001$). The level of total antioxidants and oxidative stress index were significantly lower during exam period compared with the post exam period ($P<0.001$). In exam period, there was a negative correlation between serum total antioxidant levels and cortisol concentration ($r = -0.42$, $P<0.01$). But there was no correlation between cortisol concentration and total antioxidant ($r=0.275$, $P>0.05$).

Conclusion: High serum cortisol level in exams period compared with after vacation is indicated that the students has experience the anxiety during exam. The high level of total oxidants and low level of total antioxidants during the exam period compared with non-exam period denoted occurrence of oxidative stress in exam anxiety.

Key words: Exam anxiety, Oxidative stress, Total antioxidant capacity, Total oxidant

Archive of SID

www.SID.ir