

57. srečanje mladih raziskovalcev Slovenije

II. gimnazija Maribor

POVEZAVA MED ZAZNANIM STRESOM, DEPRESIVNOSTJO, ANKSIOZNOSTJO IN KONCENTRACIJO KORTIZOLA V LASEH MLADOSTNIKOV

Raziskovalno področje: Interdisciplinarno – Psihologija/Zdravstvo

Raziskovalna naloga

Mentor: dr. Jure Škraban, prof.

Somentior: asist. dr. Boštjan Vihar

Avtor: Filip Dugonik

Maribor, april 2023

KAZALO VSEBINE

POVZETEK	VII
ZAHVALA.....	IX
1 UVOD	1
1.1 TEORETIČNO OZADJE.....	1
1.1 NAMEN RAZISKAVE	13
1.2 HIPOTEZE	14
2 METODA.....	16
2.1 UDELEŽENCI	16
2.2 PRIPOMOČKI	16
2.3 POSTOPEK.....	21
3 REZULTATI.....	34
4 RAZPRAVA.....	45
5 ZAKLJUČEK	49
6 DRUŽBENA ODGOVORNOST.....	50
7 PRILOGE.....	51
8 VIRI IN LITERATURA	66

KAZALO SLIK

Slika 1: Splošni prilagoditveni sindrom.....	2
Slika 2: Biosinteza kortizola	5
Slika 3: Povratne zanke hpa-osi.....	6
Slika 4: Vstop kortizola v lase.....	8
Slika 5: Shematski prikaz metode delovanja ELIS kita.....	12
Slika 6: Piktogrami heksana	18
Slika 7: Piktogrami metanola	19
Slika 8: Piktograma ELISA standarda	20
Slika 9: Piktogram Ellmanovega reagenta	20
Slika 10: Pripromočki, aluminijaste kuverte in delovna postaja.....	22
Slika 11: Odvzem las	23
Slika 12: Pripromočki za umivanje las	24
Slika 13: Prestavljanje vzorca, označene mikrocentrifugirke in pipetiranje heksana.....	24
Slika 14: Sušenje z eksikatorjem in tehtanje z laboratorijsko tehnicco	25
Slika 15: Mikrocentrifugirka s kroglicami, mikrocentrifugirke v rotorju in Magna Lyser	25
Slika 16: Drobo zmleti lasje, grobo zmleti lasje in počena mikrocentrifugirka	26
Slika 17: Sesekljanje slabo zmletih/nezmletih las	26
Slika 18: Lego vertikalni rotator mikrocentrifugirk	27
Slika 19: Mikrocentrifuga in pipetiranje	27
Slika 20: Priprava razredčenih standardnih raztopin	28
Slika 21: Priprava ELISA pufra, pralnega pufra, kortizol ELISA sledilca in standardov	29
Slika 22: Razapljanje kortizola v elisa pufru (1-krat) in stresanje z vortex stresalnikom	30
Slika 23: Razporeditev polj.....	30
Slika 24: Pipetiranje z enokanalno in osemkanalno mikropipeto.....	31
Slika 25: Pranje ploščice.....	31
Slika 26: Razvijanje ploščice na rotacijskem oscilatorju.....	32
Slika 27: Povezovanje naprav in izbor programa; merjenje valovne dolžine	32

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Normalno nihanje kortizola pri zdravem človeku	7
Graf 2: Faze dela	21
Graf 3: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice DASS lestvice in rezultatov stresa PSS lestvice	34
Graf 4: Graf raztrosa rezultatov stresa (PSS) lestvice in koncentracij kortizola v rezanih las	34
Graf 5: Graf raztrosa rezultatov stresa (DASS) in koncentracij kortizola rezanih las	35
Graf 6: Graf raztrosa rezultatov stresa (PSS) in koncentracij kortizola uprašenih las	35
Graf 7: Graf raztrosa rezultatov stresa (DASS) in koncentracij kortizola uprašenih las	36
Graf 8: Histogram povprečnih rezultatov stresa lestvic PSS pri posameznih stopnjah stresa.....	37
Graf 9: Histogram povprečnih rezultatov stresa lestvice DASS pri posameznih stopnjah stresa	38
Graf 10: Graf raztrosa rezultatov stresa (PSS) in rezultatov depresivnosti	38
Graf 11: Graf raztrosa rezultatov stresa (DASS) in rezultatov depresivnosti	39
Graf 12: Graf raztrosa rezultatov stresa (PSS) in rezultatov anksioznosti	39
Graf 13: Graf raztrosa rezultatov stresa (DASS) in rezultatov anksioznosti	40
Graf 14: Graf raztrosa rezultatov stresa (PSS) in indeksov telesne mase.....	40
Graf 15: Graf raztrosa rezultatov stresa (DASS) in indeksov telesne mase	41

KAZALO PREGLEDNIC

Tabela 1: Najpogostejši stresorji.	2
Tabela 2: Znaki faze izčrpanosti.....	3
Tabela 3: Vrednotenje rezultatov DASS lestvice	17
Tabela 4: Pripomočki	18
Tabela 5: Primerjava med stopnjo zaznanega stresa pri lestvici PSS in povprečno vrednostjo depresivnosti ter anksioznosti.....	36
Tabela 6: Primerjava med stopnjo zaznanega stresa pri lestvici DASS in povprečno vrednostjo depresivnosti ter anksioznosti.....	37
Tabela 7: Povprečne vrednosti stresa pri skupinah A, B, C za PSS in DASS	42
Tabela 8: Primerjava med stopnjo zaznanega stresa po lestvici PSS oz. DASS pri moških in ženskah ...	43
Tabela 9: Povprečni rezultati zaznanega stresa in t-vrednost	44

POVZETEK

V raziskovalni nalogi smo merili povezavo med zaznamim stresom in kortizolom v laseh, depresivnostjo, anksioznostjo, spolom, indeksom telesne mase, hujšimi stresnimi dogodki ter odnosom do stresa.

Rezultati Pearsonove korelacije niso pokazali signifikantne povezave med kortizolom v laseh in zaznamim stresom. Udeleženci z visoko stopnjo zaznanega stresa so v povprečju dosegli višje rezultate depresivnosti in anksioznosti kot udeleženci s srednjo ali nizko stopnjo zaznanega stresa. Povezanost zaznanega stresa z depresivnostjo in anksioznostjo smo dodatno potrdili z rezultati korelacije, ki so pokazali veliko pozitivno korelacijo med stresom in depresivnostjo ter med stresom in anksioznostjo. Raziskava je pokazala majhno negativno korelacijo med stresom in indeksom telesne mase. Med zaznamim stresom in hujšimi stresnimi dogodki nismo zaznali signifikantnih povezav. Udeleženci z različnim odnosom do stresa so se signifikantno razlikovali glede zaznane ravni stresa, pri čemer so imeli udeleženci z negativnim odnosom do stresa višjo raven le-tega. Moški in ženske se razlikujejo po stopnji zaznanega stresa, pri čemer ženske zaznavajo več stresa kot moški.

Rezultati raziskovalne naloge prispevajo k izboljšanju metode meritve koncentracije kortizola v laseh in k boljšemu razumevanju povezav med zaznamim stresom in depresivnostjo, anksioznostjo ter koncentracijo kortizola v laseh.

ABSTRACT

The study measured the relationship between perceived stress and hair cortisol, depression, anxiety, gender, body mass index, major stressful events and attitudes towards stress.

Pearson correlation results showed no significant association between hair cortisol and perceived stress. Participants with high levels of perceived stress scored on average higher on depression and anxiety tests than participants with medium or low levels of perceived stress. The association of perceived stress with depression and anxiety was further confirmed by correlation results, which showed a strong positive correlation between stress and depression and between stress and anxiety. The study showed a small negative correlation between stress and body mass index. No significant correlation was found between perceived stress and major stressful events. Participants with different attitudes towards stress differed significantly in their perceived stress levels, with participants with negative attitudes towards stress having higher levels. Men and women differed in their perceived stress levels, with women perceiving more stress than men.

The results of this study contribute to improving the method of measuring hair cortisol concentration and to better understanding the relationship between perceived stress and depression, anxiety and hair cortisol concentration.

Ključne besede: mladostniki, stres, kortizol v laseh, depresivnost, anksioznost.

ZAHVALA

Posebna zahvala gre mentorju za usmerjanje v celotnem poteku raziskovalne naloge. Rad bi se zahvalil zunanjemu mentorju za pomoč pri pripravi vzorcev in Medicinski fakulteti Univerze v Mariboru za uporabo njihovega laboratorija. Zahvaljujem se zunanji mentorici za pomoč pri nabavi in razumevanju ELISA kompleta ter mentorici psihologije za hitre in strokovne nasvete. Zahvaljujem se lektorici za pregled naloge. Seveda pa se zahvaljujem vsem sodelujočim učencem, ki so bili pripravljeni rešiti vprašalnik in žrtvovati nekaj las.

1 UVOD

1.1 TEORETIČNO OZADJE

SPOLOŠNO O STRESU

Stres je sodoben fenomen, o katerem se veliko govori in piše, zato so ga ljudje začeli opisovati na različne načine. Znanstveniki stres opisujejo kot vzorec fizioloških, čustvenih, spoznavnih in vedenjskih odgovorov organizma na dražljaje (stresorje), ki porušijo človekovo notranje ravnotežje oz. homeostazo. Stresorji so vsi dražljaji, ki jih doživljamo kot grožnjo ali izliv, zato telesno ali duševno obremenjujejo našo osebnost (Stražišar idr., 2009, str. 108). Ko govorimo o stresu, pravzaprav govorimo o stresni reakciji, zapleteni kaskadi procesov živčnega, endokrinega in imunskega sistema. Njegova glavna naloga je, da pripravi um in telo na boj za preživetje in prilagoditev na nove okoliščine (Starc, 2009). Sesalci so skozi evolucijo razvili specifični odziv, ki jim omogoča spopad z grožnjo. W. B. Cannon je to reakcijo imenoval »spopad ali umik« (angl.: fight-or-flight response). Zaradi širokega nabora možnih odzivov na stresno situacijo so znanstveniki začeli reakcijo imenovati tudi »otrpnitev, umik, spopad, strah, omedlevica« (angl.: Freeze, Flight, Fight, Fright, Faint) (Bracha, 2014). Da bi se organizem v situaciji lahko učinkovito odzval, se morajo fiziološki sistemi, potrebni za borbo, aktivirati, nepotrebni fiziološki sistemi pa se morajo ustaviti. S prostijo se zaloge glukoze, potrebne za fizično aktivnost, srčni utrip se pospeši, sprosti se adrenalin, prebavni, rastni in razmnoževalni procesi pa se upočasnijo (Kemeny, 2003). Stresna reakcija omogoča osebi (živali) prilagoditev na nove okoliščine (homeostaza) in skozi stresne situacije spremembo v vedenju (alostaza) (Starc, 2009). Sproži se veliko zaplenih in med seboj povezanih fizioloških sistemov.

PSIHOLOGIJA STRESNE REAKCIJE

Sodobna psihologija razume stres kot odziv na stresorje (Tabela 1). Telo lahko sproži stresno reakcijo že zaradi razmišljanja o stresnih stvareh, kot je prepričanje (Stražišar idr., 2009, str. 108).

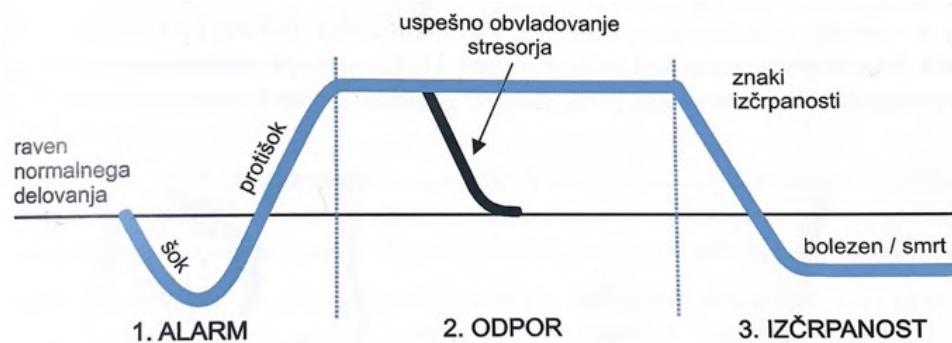
Tabela 1: Najpogostejši stresorji (Stražišar idr., 2009, str. 108).

Skupine stresorjev	Primeri stresorjev
Okolje	previsoka ali prenizka temperatura, hrup, kemikalije, naravne nesreče, kot so poplove, potresi in hurikani, vojne, teroristični napadi
Delovno mesto ali šola	preobremenjenost, prekratki roki, premalo dela, premalo zahtevno delo, preverjanje in ocenjevanje znanja, prezahitev ali prelahek učni program
Nenadne življenske spremembe	smrt bližnjih, ločitev od ljubljenih oseb, sprememba službe ali šolanja, zadetek na loteriji, rojstvo otroka, službeno napredovanje, izjemni osebni dosežek
Vsakodnevne skrbi	naglica, kaos, čakanje v vrstah, prevoz na delo ali v šolo, finančna stiska, slab medosebni odnos, kajenje, pretirano uživanje alkohola in hrane, malo telesne dejavnosti

Dogodki, razmere in dražljaji niso stresni sami po sebi, temveč je od posameznika odvisno, kako jih bo doživeljal. »Naš odziv je odvisen od tega, kako ocenimo zahteve okolja in lastne sposobnosti, da bi te razmere obvladali.« (Stražišar idr., 2009, str. 108)

Glede na učinek na telo ločimo **pozitiven in negativni stres**. Pozitiven stres (eustres) človeka spodbuja, krepi in vzdržuje njegovo vitalnost. Je normalen, neškodljiv in neizbežen pojav, ki ga doživljamo, ko so naše sposobnosti večje od zahtev situacije. Večkrat pa je govora o negativnem in škodljivem stresu (distresu), ki ga dojemamo kot napetost, stisko ali nevarnost (Selye, 1956). Doživljamo ga takrat, ko ocenimo, da so zahteve okolja večje od naših sposobnosti (Stražišar idr., 2009, str. 109). Negativen stres običajno povezujemo z neprijetnimi situacijami, vendar se ta lahko pojavi tudi zaradi prijetnih situacij, kot je poroka, napredovanje, prejetje nagrade ipd. »Vsaka sprememba, pozitivna ali negativna, zahteva odziv, da bi se prilagodili in se vrnili v relativno mirno stanje.« (Selye, 1956, str. 526)

Psihologija razlikuje med **kratkotrajnim in dolgotrajnim stresom**. Na kratkotrajni stres organizem reagira z že omenjeno reakcijo – beg ali boj (angl. Fight or Flight). Na dolgotrajni ali ponavljajoči se stres pa se odzovemo z modelom splošnega prilagoditvenega sindroma. Takšen odziv vsebuje tri faze: alarm, odpornost in izčrpanost (Slika 1) (Stražišar idr., 2009, str. 109).



Slika 1: Splošni prilagoditveni sindrom (Stražišar idr., 2009, str. 109)

V fazi alarma hipotalamus zazna stresor in začne stresno reakcijo (Burgess, 2017). V tej fazi smo najprej zaskrbljeni in vznemirjeni. Prva reakcija sta šok in krajši upad delovanja. Temu sledi protišok z aktivacijo simpatičnega živčevja. Takrat se v telesu sprostijo glukokortikosteroidi, ki povzročijo kaskado fizioloških procesov in z njimi povezanih duševnih sprememb. Sprostijo se energetske zaloge, zvišata se krvni tlak in utrip srca, tako da smo kar najbolje pripravljeni na akcijo, s katero bi obvladali učinke stresorjev (Stražišar idr., 2009, str. 110) (Burgess, 2017).

V fazi odpora se s povečano zmogljivostjo borimo proti stresorju in fiziološkim spremembam, ki jih je leta povzročil. Kadar smo v borbi s stresorjem uspešni ali se situaciji prilagodimo, začne organizem znova normalno delovati (Stražišar idr., 2009, str. 110). Parasimpatični del živčevja poskrbi za pomiritev in regeneracijo. Nivo kortizola, srčni utrip in srčni pritisk se normalizirajo (Burgess, 2017). »V tem primeru posledice stresa za človeka niso usodne, ampak celo spodbudne; uspeh ga opogumlja, razvija svoje sposobnosti, samopodoba se izboljša, postavlja si zahtevnejše cilje, zato je tudi večja verjetnost, da bo naslednji stresor ocenil kot izliv, ki je obvladljiv.« (Stražišar idr., 2009, str. 110) Če stresorja ne premagamo ali se začnejo pojavljati novi, organizem dalj časa deluje s povečano zmogljivostjo. Fiziološki procesi takrat človeka še naprej silijo, da veliko dela, malo spi, se zelo hitro odziva in zmore več kot običajno (Stražišar idr., 2009, str. 110).

Po dolgi borbi s stresorjem sledi faza izčrpanosti. Zanjo je značilno porušeno ravnotesje med simpatičnim in parasimpatičnim živčevjem ter izčrpanost, kot posledica pomanjkanja energije. Po šestih do osmih tednih intenzivnega stresa se začnejo pojavljati značilni znaki izčrpanosti, prikazani v *Tabeli 2*. Če jih pravočasno ne odpravimo, lahko vodijo v resne duševne težave (npr. duševne motnje, kot je depresija) ali v psihosomatska obolenja (Stražišar idr., 2009, str. 110).

Tabela 2: Znaki faze izčrpanosti (dobesedno navedeno iz Učbenika za psihologijo v 2. letniku gimnazialskega in srednjega tehniškega oz. strokovnega izobraževanja) (Stražišar idr., 2009, str. 110).

TELESNI ZNAKI	Kronična utrujenost, pomanjkanje energije, glavoboli, bolečine v križu, krči v mišicah, motnje spanja, povišana temperatura, padec odpornosti in prebavne težave.
DUŠEVNI ZNAKI	Napetost, razdražljivost, dolgočasje, slaba koncentracija, težave s pomnenjem, pomanjkanje samospoštovanja in cinizem.
VEDENJSKI ZNAKI	Prenagljene reakcije, nenadzorovani čustveni odzivi, povečano uživanje različnih drog (od kave do tablet in trdih drog), slabši odnosi doma in v službi, ki vodijo v socialno izolacijo, saj se neprijetnemu človeku raje izognemo.

FIZIOLOGIJA STRESNE REAKCIJE

Začetno vlogo v stresnem odzivu ima hipotalamus. Nadzoruje delovanje živčnega in endokrinega sistema. Vse informacije, ki jih telo zazna kot stresor, potujejo v poseben del hipotalamusa, imenovan paraventrikularno jedro (ang.: paraventricular nucleus ali PVN). PVN kot odgovor na stresor začne izločati kortikoliberin oz. sproščevalni hormon kortikotropina (ang.: corticotropin-releasing hormone – CRH). CHT potuje v prednji reženj hipofize, kjer vzbudi nastajanje kosinotropina oz. adrenokortikotropnega hormona (ang.: adrenocorticotropic hormone – ACTH). ACTH se sprosti neposredno v kri in potuje v zunanja sloja nadledvičnih žlez, natančneje v sloj, imenovan zona fasciculata. Ko receptorji v zoni fasciculata zaznajo ACTH, sprožijo tvorbo steroidov iz holesterola, kar imenujemo steroidogeneza. V procesu nastanejo glukokokortikosteroidi, med katerimi je tudi kortizol (CORT). Kortizol potuje v osrednja dela nadledvičnih žlez, imenovana medulla, in tam vzbudi sproščanje adrenalina (ADM) v kri (Todorovic, 2021).

Delovanje adrenalina (ADM): Receptorji na živčnih končkih zaznajo ADM in sproži se odziv simpatičnega živčevja. Začnejo se procesi, pomembni za borbo s stresorjem. Naše žile se skrčijo (periferna vazokonstrikcija), zenice se razširijo, krvni tlak naraste, utrip srca in dihanje pa se pospešita, da lahko mišice in možgani prejmejo več kisika. (Todorovic, 2021). »Simpatično-adrenergična aktivnost povzroči vazokonstrikcijo v koži in poveča nagnjenost k strjevanju krvi (protrombotično delovanje) za primer poškodbe ali krvavitve.« (Starc, 2009). ADM je torej zaslužen za obrambne procese, ki potekajo takoj ob stresnem dogodku.

Delovanje kortizola: Molekula kortizola je po sestavi lipid (steorid), zato lahko vstopi skozi celično membrano. V citoplazmi se veže na glukokortikoidni receptor, kar povzroči odcep proteina toplotnega šoka, ki je bil pred tem vezan na receptor. Aktiviran glukokortikoidni receptor (aGR) potuje v jedro celice, kjer se na specifičnem odseku DNA združi z glukokortikoidnim odzivnim elementom (ang.: glucocorticoid response element – GRE). GRE spodbuja prepisovanje gena fosfoenolpiruvat karboksikinaze (PEPCK) (Katsu in Baker, 2021, str. 947–948). Slednji pretvarja okseacetat (produkt Krebsovega cikla) v piruvat, ki je nujen za tvorbo energije. PEPCK spodbuja tudi izgradnjo glukoze iz virov, ki ne vsebujejo ogljikovih hidratov, kar imenujemo glukoneogeneza (The Editors of Encyclopaedia Britannica, 2022). Celoten proces povzroči povišan nivo glukoze v krvi, ki služi kot zaloga energije za naslednjo stresno situacijo. AGR vzbudi določene GRE, ki zavirajo prepisovanje genov imunskega sistema. Posledično zavira delovanje imunskega sistema in tako prihrani ogromno energije. V času oslabljenega imunskega sistema se v možgane sprostijo opioidi, ki delujejo proti bolečinam, kortizol pa sodeluje z močnim protivnetnim delovanjem. »Protibolečinsko, protivnetno in antiagregacijsko delovanje hormonov v stresni reakciji omogoča živali (osebi), da v boju za življenje ne podleže zaradi bolečin ali manjših krvavitev iz ran.« (Starc, 2009). AGR zavira tudi izgradnjo osteoblastov, ki sintetizirajo kostni matriks, in spodbuja izgradnjo osteoklastov, ki razgrajujejo kostnino ter posledično višajo krvno koncentracijo kalcija in fosfatov. Kalcij in fosfati so ključnega pomena za živčne prenose informacij in krčenje mišic. Molekule, ki jih mišice in živci v stresni situaciji ne uporabijo, se vrnejo v kostno tkivo. Kortizol je za razliko od ADM-ja zaslužen za procese, ki potekajo, ko se odzivi simpatičnega živčevja končajo (Todorovic, 2021).

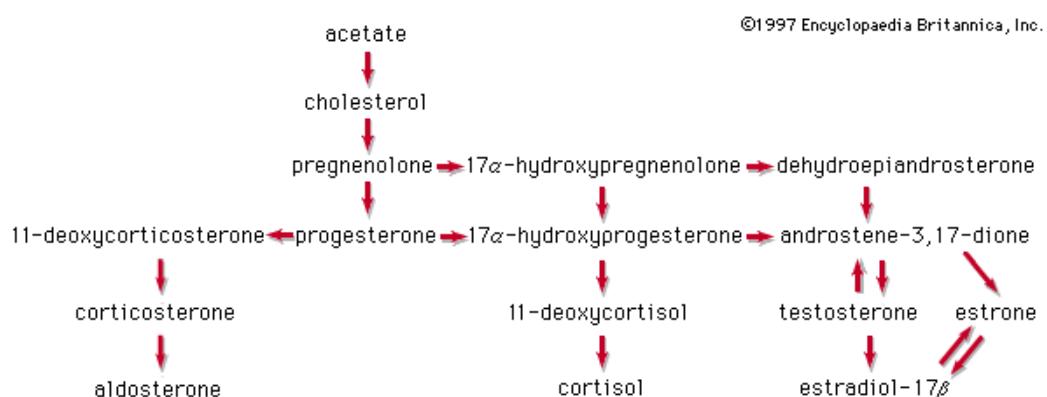
Uravnavanje glukoze in inzulina: Za boj s stresorjem telo potrebuje čim več energije, ki jo pridobi iz glukoze, zato spodbuja procese, ki vrednost glukoze zvišujejo, in zavira procese, ki to vrednost znižujejo. Kortizol, rastni hormon, adrenalin in noradrenalin (preko glikogenolize in lipolize) povzročijo zvišanje glukoze, zato se v stresni reakciji pospešeno izločajo. Med hormone, katerih izločanje ali učinkovitost se med akutno stresno reakcijo zmanjša, uvrščamo predvsem inzulin. Hormon, ki ga izloča trebušna slinavka in uravnava vrednosti glukoze v krvi. Med stresno reakcijo se izločanje inzulina upočasni/ustavi,

kar povzroči večje zaloge glukoze v krvi. Obenem pa se začnejo še katabolni procesi razgradnje, pri katerih iz glikogena, beljakovin in maščob dobimo glukozo (Starc, 2009).

KORTIZOL

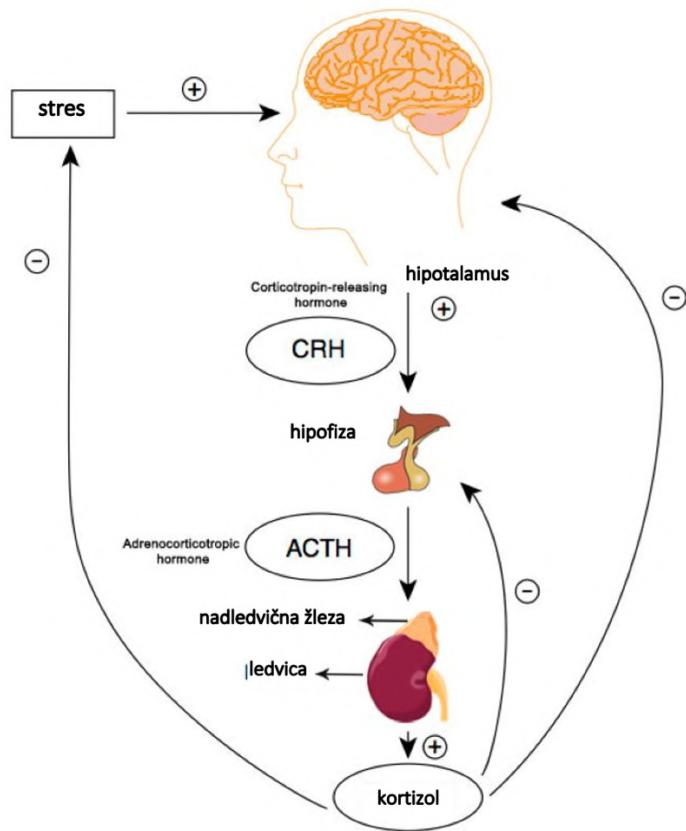
V poglavju o fiziologiji stresne reakcije je prikazan nastanek in učinek kortizola. V nadaljevanju bomo spoznali kemično sestavo, način izločanja in postopk merjenja koncentracije kortizola v telesu.

Kortizol je eden izmed glavnih človeških glukokortikosteroidov. Igra ključno vlogo v stresni reakciji, saj sproži glukoneogenezo, zavira delovanje imunskega sistema, deluje protivnetno, zvišuje nivo kalcija in fosfatov idr. (Todorovic, 2021). Sama molekula kortizola nastane skozi kaskado kemijskih reakcij, katerih vmesni produkti so prikazani na *Sliki 2*.



Slika 2: Biosinteza kortizola (Britannica, 18. 12. 2022)

Kortizol je reguliran v osi hipotalamus, hipofize in nadledvične žleze, ki jo s kratico imenujemo HPA-os (ang.: hypothalamic-pituitary-adrenal axis) (Greff idr., 2019). Organi HPA-osi izločajo hormone (CRH, ACHT, kortizol), ki med seboj učinkujejo po principu povratnih zank. Hipotalamus najprej izloča kortikoliberin (CRH) in vazpresin (AVP), regulator volumna telesnih tekočin. CRH povzroči izločanje ACHT, ta pa izločanje kortizola. Oba procesa delujeta v pozitivno povratni zanki (*Slika 3*). Ko je aktivna koncentracija kortizola dovolj visoka, ta začne zavirati izločanje CRH v hipotalamu in ACHT v hipofizi, čemur rečemo negativno povratna zanka (*Slika 3*).

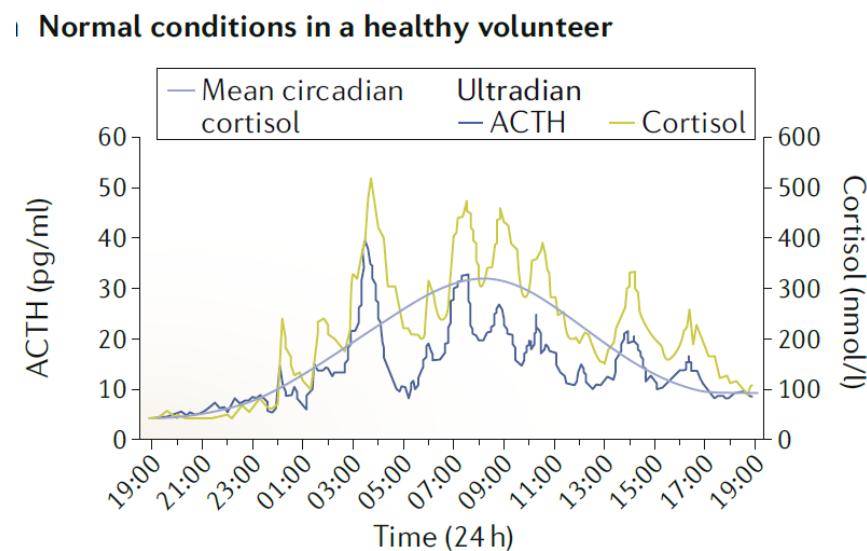


Slika 3: Povratne zanke hpa-osi; z + so označene pozitivne povratne zanke, z - pa negativne (pharmaceutical-networking.com, 2. 1. 2023)

Kortizol se sprošča v cirkadianem ritmu. Njegova raven je običajno najvišja zgodaj zjutraj in se čez dan znižuje, najnižjo raven pa doseže okoli polnoči. Ta vzorec se lahko spremeni, če delamo ponoči in če spimo v različnih delih dneva (Cortisol: What It Is, Function, Symptoms & Levels, 2021). Dokazano je, da na izločanje kortizola lahko vpliva tudi uživanje alkohola, nikotin, hrana, raven glukoze, vadba, raven kisika v krvi in akutna poškodba (Stalder idr., 2017).

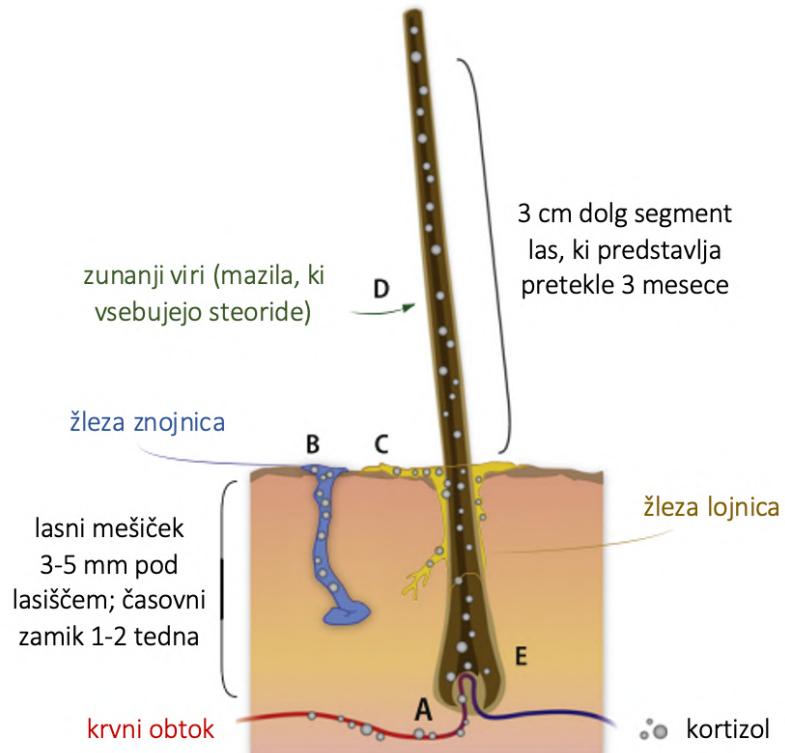
Cirkadiani ritem in vsi našteti faktorji otežujejo merjenje dolgoročnega izločanja kortizola s tradicionalnimi matricami telesnih tekočin, kot so slina, urin in kri. Kortizol glede na čas v dnevnu in vplive okolja nenehno niha, kar prikazuje rumena črta na *Grafu 1*.

Graf 1: Normalno nihanje kortizola pri zdravem človeku (rumena črta) (nature.com, 8. 8. 2022)



Pri zdravem človeku je večina kortizola, ki kroži, vezanega na globulin, ki veže kortikosteroide in albumin. »Običajno je < 5 % kortizola prostega (nevezanega); ostalih 95 % ga je vezanega na CBG (80 %) ali albumin (15 %). Nevezani kortizol je fiziološko aktivna oblika.« (Katsu in Baker, 2021, str. 947–948).

Kortizol se ne nahaja samo v krvi in slini, pač pa tudi v laseh. Vključitev prostega kortizola v lase bi se naj zgodila z difuzijo iz folikla kapilar v sredico (medulo) lasnega stebla med rastjo (*Slika 4*) (Greff idr., 2019). Prisotnost prostega kortizola v laseh je pred kratkim dokazala ekipa znanstvenikov, ki so kortizol, označen s tritijem, injicirali v skupino rezusih opic in po štirinajstih dneh v vzorcih las zaznali radioaktivni kortizol (Kapoor idr., 2018). Iz tega sklepamo, da je količina kortizola, ki se nabira v rastocih laseh, sorazmerna s količino prostega kortizola v krvnem obtoku (Greff idr., 2019).



Slika 4: Vstop kortizola v lase (Analysis of cortisol in hair, 9. 8. 2022)

Zaradi njegove lipofilnosti se kortizol nahaja v vseh plasteh lasnega stebla, vendar so njegove vrednosti običajno zelo majhne (Greff idr., 2019). Vrednosti kortizola se pri odraslih glede na količino stresa gibljejo med 55 pg in 250 pg na 1 mg las (Gonzalez idr., 2019). Nekaj kortizola se znajde tudi v izločkih žlez lojnic in znojnici ob lasnem mešičku (*Slika 4*). Ob analizi kortizola v laseh je zato potrebno lase oprati v ustreznom topilu, da se slednjih motečih izločkov znebimo. Za natančno merjenje kortizola v laseh je priporočljivo uporabiti vzorce las, ki niso daljši od 3 cm, saj se z oddaljevanjem od lasišča izguba kortizola iz lasnega stebla veča (Hordes idr., 2018).

Hitrost rasti las je pri vsakem posamezniku različna, odvisna od njegovega spola, rase in starosti; vendar je povprečna stopnja rasti približno 1 cm/mesec (Wennig, 2000). Priporočena regija za vzorčenje je zadnji del verteksa, kjer je dokazana najbolj enakomerna rast las (LeBeau idr., 2011).

ODNOS MED STRESOM IN DEPRESIVNOSTJO

Najprej je treba izpostaviti razliko med klinično depresijo in depresivnostjo. Izraz *depresivnost* se nanaša na znižano razpoloženje, pri čemer mladostniku sicer uspe opraviti svoje običajne obveznosti, vendar z manjšo učinkovitostjo in z večjimi težavami. Spremljajo jo spremembe na spoznavnem, telesnem, socialnem in vedenjskem področju, npr. anhedonija, potrtost, neodločnost, abulija, izguba interesov, zavrstost mišljenja, odvisnost od drugih in samokritičnost. Ko se našteti simptomi začnejo povečano pojavljati in onemogočati posameznikovo vsakdanje funkcioniranje, lahko govorimo o klinični depresiji. Poleg simptomov depresivnosti se pri klinični depresiji pojavijo tudi značilnosti znižanega razpoloženja in ravni energije, izgube zadovoljstva, zmanjšanja pozornosti, misli o samopoškodbenem vedenju in občutkov krivde (Kranjec, Košir in Komidar, 2016). Stres in depresija sta tesno povezana, saj stres pogosto služi kot sprožilec za nastanek depresije. Raziskave so pokazale, da imajo posamezniki, ki doživljajo dolgotrajen ali kronični stres, visoko tveganje za razvoj depresije (Kendler idr., 1999).

Več raziskav je preučevalo biokemične mehanizme, ki ležijo v ozadju odnosa med stresom in depresivnostjo. Na primer, raziskave so pokazale, da lahko kronični stres vodi do sprememb v ravni določenih nevrotransmitorjev, kot sta serotonin in noradrenalin, ki igrata vlogo pri razvoju depresije (Anisman in Matheson, 2005). Poleg tega lahko kronični stres tudi vodi do sprememb v delovanju HPA osi, ki je vključena v telesno odzivanje na stres in ki je dokazano disregulirana pri posameznikih z depresijo (McEwen in Magarinos, 2001).

ODNOS MED STRESOM IN ANKSIOZNOSTJO

Anksioznost je znanstveni fenomen, zaradi česar se opredeljuje na različne načine. V slovarju je opredeljena kot: »duševna motnja, ki se kaže v neprijetnem stanju vznemirjenosti, napetosti zaradi občutka ogroženosti, strahu brez stvarnega zunanjega razloga (Anksioznost, 2022).« V nasprotju s strahom se anksioznost pojavi kot odziv na navidezno neškodljive situacije ali pa kot posledica subjektivnih, notranjih čustvenih konfliktov, katerih vzroki osebi morda niso jasni (Horney idr., 2022).

»V zadnjih dvajsetih letih je bilo s funkcionalnim slikanjem možganov pri ljudeh ugotovljenih več možganskih področij, vključno s hipotalamusom, amigdalo, prefrontalno skorjo in jedri možganskega debla, ki so pri zdravih ljudeh aktivna med odzivanjem na oboje, stres in anksioznost ... Prepletanje nevronskih vezij, ki nadzorujejo tako stres kot anksioznost, kaže na močno dvosmerno povezavo med doživljjanjem stresa in anksioznosti pri zdravih in patoloških stanjih.« (Daviu idr., 2019). Čeprav so vzroki za stres in anksioznost običajno drugačni, se sama mehanizma stresa in anksioznosti velikokrat izmenično aktivirata (What's the Difference Between Anxiety and Stress?, b. d.).

Raziskave kažejo, da lahko stres vodi k razvoju motenj anksioznosti (American Psychological Association, 2020). Študija, objavljena v reviji Journal of Affective Disorders, je pokazala, da so osebe, ki so poročale o višjih ravneh stresa, bolj dovetne za razvoj motnje anksioznosti, kot je na primer generalizirana motnja anksioznosti (Brosschot idr., 2006). Poleg tega je metaanaliza študij, ki preučujejo odnos med stresom in anksioznostjo, ugotovila, da je stres pomemben dejavnik tveganja za razvoj motenj anksioznosti (Roemer idr., 2002).

VPLIV STRESA NA ZDRAVJE

Stres lahko ima velik vpliv na zdravje posameznika, tako na telesni kot na duševni ravni. Ko telo doživi stres, sprošča hormone, kot sta kortizol in adrenalin, ki pomagajo telesu pri "boj ali beg" reakciji. Čeprav je ta reakcija lahko koristna v kratkoročnih, nevarnih situacijah, lahko dolgotrajni stres povzroči vrsto negativnih posledic za zdravje.

Eden izmed najbolj znanih vplivov stresa na zdravje je njegova povezava z boleznimi srca in ožilja. Raziskava, objavljena v reviji Circulation, je pokazala, da je dolgotrajni stres povezan z večjim tveganjem za bolezni srca, vključno z infarktom in možgansko kapjo (Epel idr., 2000). Raziskava je pokazala, da so posamezniki, ki so poročali o visoki ravni stresa, imeli 40 % večje tveganje za bolezni srca v primerjavi s tistimi, ki so poročali o nižji ravni stresa. Poleg tega je meta-analiza, objavljena v Evropskem časopisu za preventivno kardiologijo, ugotovila, da imajo posamezniki z visokim nivojem stresa tudi večje tveganje za visok krvni tlak, visok holesterol in diabetes (Chida in Hamer, 2009).

Drugo področje telesa, na katero ima stres velik vpliv, je imunski sistem. Raziskava, objavljena v časopisu Brain, Behavior and Immunity, je pokazala, da lahko dolgotrajni stres upočasni delovanje imunskega sistema in tako posameznika naredi bolj dovzetnega za okužbe in bolezni (Segerstrom in Miller, 2004). Stres je poleg tega povezan tudi z razvojem avtoimunskih bolezni, kot sta revmatoidni artritis in lupus (Padgett in Glaser, 2003).

Stres lahko ima tudi negativen vpliv na duševno zdravje. Wang in sodelavci so ugotovili, da so posamezniki, ki so poročali o visoki ravni stresa, bolj dovzetni za depresijo, anksioznost in druge duševne motnje (Wang idr., 2008). Stres je povezan tudi z razvojem posttravmatskega stresnega sindroma (PTSD) in odvisnosti (Boscarino, 2006).

Stres lahko vpliva tudi na kakovost spanja. Raziskava, objavljena v časopisu Sleep, je ugotovila, da so osebe, ki so poročale o visoki ravni stresa, imele večje težave s spanjem in ohranjanjem spanja v primerjavi z osebami, ki so poročale o nižji ravni stresa (Bryant idr., 2018). Stres je torej tesno povezan z nespečnostjo in drugimi motnjami spanja (Han idr., 2012).

Če povzamemo, stres lahko vpliva na zdravje na različne načine, povečuje tveganje za bolezni srca, upočasnuje imunski sistem, ima negativen vpliv na duševno zdravje in na kvalitete spanca. Pomembno je, da posamezniki najdejo zdrave načine za spopadanje z stresom, kot so telovadba, tehnikе sprostitve in terapija.

OBVLADOVANJE STRESA

Stres je neizogiben del življenja, kar ne pomeni, da ga ne moremo uspešno obvladovati. Poglejmo si nekaj učinkovitih metod za obvladovanje stresa:

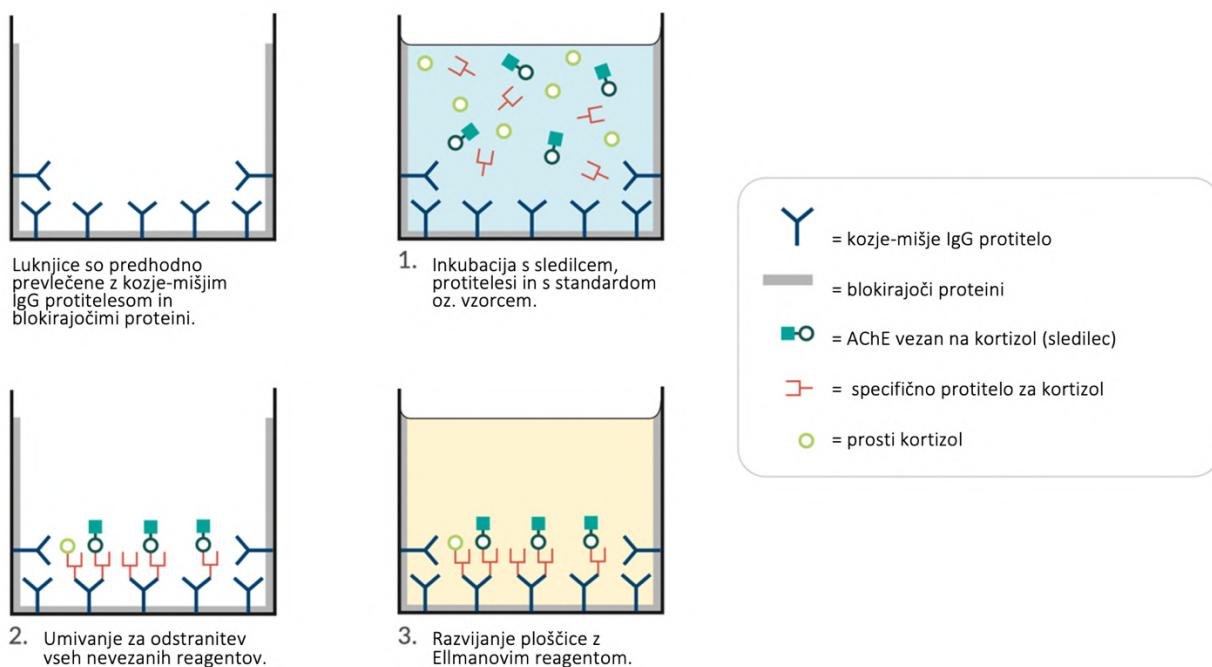
1. Telesna vadba: telesna aktivnost je odličen način za sproščanje napetosti in povečanje dobrega počutja. Redna telesna aktivnost lahko znižuje raven hormonov stresa, kot sta kortizol in adrenalin (Kubitz in Landers, 2016).
2. Sprostitvene tehnike: tehnike sprostitve, kot so joga, meditacija, dihalne vaje in avtogeni trening, lahko pomagajo zmanjšati napetost in izboljšati mentalno blagostanje (Murrant idr., 2018).
3. Socialna podpora: podpora prijateljev in družine lahko pomaga pri obvladovanju stresa (Cohen in Wills, 1985).
4. Organizacija časa: načrtovanje dneva in usklajevanje obveznosti lahko zmanjša občutke stresa (Klassen idr., 2008).
5. Strokovna pomoč: v primeru hudega stresa in težav s spoprijemanjem je lahko zelo koristno, da se posvetujemo z zdravnikom, psihologom ali psihoterapeutom (American Psychological Association, 2017).

ELISA TEHNOLOGIJA

Komplet ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) je laboratorijsko orodje, ki se uporablja za odkrivanje in merjenje določenih beljakovin ali protiteles v vzorcu (Mendrick, 2016). Komplet običajno vključuje ploščico z vdolbinicami, prevlečenimi z antigenom ali protitelesom; reagent, ki se veže na željeno beljakovino ali protitelo, in substrat, ki ob interakciji reagenta in beljakovine ali protitelesa daje merljiv signal (Mendrick, 2016). Test se lahko uporablja za odkrivanje prisotnosti določenega antiga na ali protitelesa, lahko pa se uporablja tudi za merjenje njegove koncentracije v vzorcu (Mendrick, 2016). Komplet ELISA se pogosto uporablja v raziskavah in medicinski diagnostiki, saj je hitra, občutljiva in specifična metoda za odkrivanje in količinsko določanje različnih biomolekul (Mendrick, 2016).

»Caymanov tekmovalni kortizol ELISA kit temelji na tekmovanju med prostim kortizolom in kortizol-acetilholinesteraznim (AChE) konjugatom (Cortisol-AChE Tracer = označevalci) za omejeno število vezavnih mest monoklonskega protitelesa kortizola. Ker je koncentracija Cortisol-AChE označevalca konstantna, medtem ko se koncentracija prostega kortizola spreminja, bo količina Cortisol-AChE označevalca, ki se lahko veže na monoklonsko protitelo kortizola, obratno sorazmerna koncentraciji prostega kortizola v posodi.« (Cortisol ELISA Kit, b.d.) Strnjeno: Več kot je prostega kortizola v vzorcu, manj označevalca se bo lahko vezalo. »Kompleks protitelo-kortizol se veže na poliklonsko kozno-mišno IgG protitelo, ki je bilo predhodno pritrjeno na vdolbinice (Slika 5). Ploščica se večkrat umije, da se odstranijo vsi nevezani reagenti, nato se vanjo doda Ellmanov reagent (ki vsebuje substrat za AChE). Produkt te encimske reakcije ima značilno rumeno barvo in se močno absorbira pri 412 nm (Slika 5). Intenzivnost spektrofotometrično izmerjene barve je sorazmerna količini Cortisol-AChE Tracerja, ki je vezan na posodo, kar je obratno sorazmerno količini prostega kortizola, ki je prisoten v posodi med inkubacijo.« (Cortisol ELISA Kit, b.d.)

$$Absorbanca \propto [vezan cortisol AChE sledilec] \propto 1/[kortizol]$$



Slika 5: Shematski prikaz metode delovanja ELIS kita (caymanchem.com, 28. 01. 2023)

1.1 NAMEN RAZISKAVE

Glavni namen raziskovalne naloge je poiskati povezave med zaznanim stresom, anksioznostjo, depresivnostjo in koncentracijo kortizola v laseh. Merili bomo naslednje spremenljivke:

- raven zaznanega stresa (v preteklih 3 mesecih),
- stopnjo depresivnosti (v preteklih 3 mesecih),
- stopnjo anksioznosti (v preteklih 3 mesecih),
- koncentracijo kortizola v laseh (v preteklih 3 mesecih),
- odnos posameznika do stresa,
- (ne)prisotnost hudega stresnega dogodka,
- spol,
- indeks telesne mase.

Postavili smo naslednja raziskovalna vprašanja:

1. Kakšna je povezava (korelacija) med zaznanim stresom in kortizolom v laseh?
2. Kakšna je poavezava (korelacija) med zaznanim stresom in depresivnostjo?
3. Kakšna je povezava (korelacija) med zaznanim stresom in anksioznostjo?
4. Kakšna je povezava med zaznanim stresom in odnosom do stresa?
5. Kakšna je povezava med zaznanim stresom in spolom?
6. Kakšna je povezava (korelacija) med zaznanim stresom in indeksom telesne mase?

Za ugotavljanje zaznanega stresa smo uporabili dve ocenjevalni lestvici: Percieved stress Scale (PSS) in Depression, Anxiety, Stress Scale (DASS). Z DASS smo merili tudi stopnjo depresivnosti in stopnjo anksioznosti. Odnos do stresa, (ne)prisotnost hudega stresnega dogodka, spol in indeks telesne mase smo izmerili s posameznimi vprašanji. Koncentracija kortizola v laseh pa je bila izmerjena s konkurenčno ELISA tehnologijo.

1.2 HIPOTEZE

Postavili smo naslednje hipoteze:

- **H1:** Dijaki, ki bodo zaznavali veliko oz. zelo veliko* stresa, bodo imeli višjo koncentracijo kortizola v laseh kot dijaki z normalnim ali nizkim zaznamenim stresom.

Utemeljitev: Xu idr. so v svoji študiji merili korelacijo med zaznamenim stresom in nivojem kortizola v laseh. Korelacija je bila močno pozitivna, s Cronbachovim koeficientom 0,89 (Liu idr., 2019).

- **H2:** Dijaki, ki bodo zaznavali veliko oz. zelo veliko* stresa, bodo zaznali tudi višjo stopnjo depresivnosti kot dijaki z normalnim ali nizkim zaznamenim stresom.

Utemeljitev: Wei idr. so pri 394 mladostnikih merili korelacijo med zaznamenim stresom in depresivnostjo. Korelacija je bila močno pozitivna (Wei, idr., 2003).

- **H3:** Dijaki, ki bodo zaznavali veliko oz. zelo veliko* stresa, bodo zaznali tudi višjo stopnjo anksioznosti kot dijaki z normalnim ali nizkim zaznamenim stresom.

Utemeljitev: Wei idr. so pri 394 mladostnikih merili korelacijo med zaznamenim stresom in depresivnostjo. Korelacija je bila močno pozitivna (Wei, idr., 2003).

- **H4:** Dijaki z višjim indeksom telesne mase (ITM)** bodo zaznali večjo stopnjo stresa kot dijaki z normalnim ali nizkim indeksom telesne mase**.

Utemeljitev: Chen idr. so pri 1553 mladostnikih merili korelacijo med ITM in zaznamenim stresom. Ugotovili so, da med njima obstaja pozitivna korelacija (β koeficient: 0.178 ($p < 0.001$)) (Chen idr., 2022).

- **H5:** Dijaki s pozitivnim in nevtralnim odnosom do stresa bodo zaznavali manj stresa kot dijaki z negativnim odnosom do stresa.

Utemeljitev: Meta-analiza je pokazala, da posamezniki, ki tretirajo stres kot negativno in preobremenjujočo izkušnjo, ponavadi pri sebi zaznavajo višje ravni stresa in večje težave pri soočanju z njim. Nasprotno, tisti, ki tretirajo stres kot normalen in obvladljiv del življenja, ga zaznavajo v manjših merah in se z njim bolje soočajo (Penley, 2002).

- **H6:** Ženske bodo zaznavale več stresa kot moški.

Utemeljitev: Študiji sta preučevali korelacijo med spolom in dojemanjem stresa in dokazali, da ženske običajno poročajo o višjih ravneh stresa kot moški (American Psychological Association, 2017; Zhang, 2016). V študiji, ki jo je izvedla skupina raziskovalcev na Univerzi British Columbia leta 2016, so ugotovili, da ženske poročajo o višjih ravneh stresa kot moški preko širokega spektra stresorjev, vključno s finančnimi, poklicnimi in zdravstvenimi stresorji (Zhang, 2016).

- **H7:** Dijaki ki so v preteklih treh mesecih doživeli hujši stresni dogodek, bodo zaznali več stresa kot dijaki, ki takšnega dogodka niso doživeli.

Utemeljitev: Veliki stresni dogodki, kot so naravne nesreče, izguba ljubljene osebe ali pomembna sprememba življenjskih okoliščin, lahko imajo znaten vpliv na raven stresa posameznika. Raziskave so pokazale, da izpostavljenost velikim stresnim dogodkom lahko vodi k povečanju ravni stresa, tesnobe in depresije (Bonanno, 2004; Neria, 2008).

*Vprašalnika PSS in DASS sta standardizirana in dobro uveljavljena. Posamezne ocene PSS lahko znašajo od 0 do 40 točk, pri čemer višje ocene kažejo na višjo zaznano stopnjo stresa. Oba vprašalnika definirata, koliko točk pomeni veliko oz. zelo veliko stresa. Enako velja za depresivnost in anksioznost pri DASS-u.

**ITM izračunamo s preprosto enačbo. Rezultat je definiran v 6 stopnjah – od podhranjenosti do debelosti 2. razreda (adipoznost) (ITM Kalkulator, Izračunaj Svoj Indeks!, 2021).

2 METODA

2.1 UDELEŽENCI

Vzorec zajema 38 dijakov (17–18 let, 63 % deklet) 3. letnika splošnega gimnazjskega programa Podravske regije v šolskem letu 2020/21.

Vprašalnik so rešili vsi udeleženci, analiza kortizola v laseh pa je bila opravljena pri 31 udeležencih.

2.2 PRIPOMOČKI

V raziskavi smo merili 8 spremenljivk: raven zaznanega stresa (v preteklih 3 mesecih), stopnjo depresivnosti, stopnjo anksioznosti, koncentracijo kortizola v laseh, odnos do stresa, (ne)prisotnost hudega stresnega dogodka, spol in indeks telesne mase. Preverili smo tudi spremenljivke, ki bi lahko vplivale na kvaliteto rezultatov: kronične bolezni, kajenje in jemanje zdravil.

2.2.1 ELISA KOMPLET ZA KORTIZOL

Za merjenje koncentracije kortizola v laseh smo uporabljali Caymanov ELISA komplet. »Cajmanov komplet ELISA za kortizol je konkurenčni test, ki se lahko uporablja za količinsko opredelitev kortizola v plazmi, urinu, slini, blatu, laseh in drugih matricah vzorcev.« (Cortisol ELISA Kit, b.d.) Razpon testa je od 6,6 do 4 000 pg/mg las (Cortisol ELISA Kit, b.d.).

Analizo mikroploščice smo opravili z visokokakovostnim fotometrom za mikroplošče Multiskan-om FC, znamke ThermoFisher. Uporablja se za merjenje absorbance mikrotitrskih ploščic s 96 ali 384 vdolbinicami v območju valovnih dolžin od 340 do 850 nm. Instrument se upravlja z vgrajenim grafičnim uporabniškim vmesnikom in tipkovnico. Multiskan FC je mogoče upravljati tudi z računalnikom, ki ima naloženo programsko opremo Skanlt (MultiskanTM FC Microplate Photometer, b. d.). Ostali pripomočki in kemikalije so navedeni v poglavju *Tehnični pripomočki*.

2.2.2 VPRAŠALNIK IN OCENJEVALNE LESTVICE

Ostalih osem spremenljivk smo izmerili s pomočjo vprašalnika, podanega v *Prilogi 1*. Vprašalnik smo sestavili iz dveh prevedenih standardiziranih ocenjevalnih lestvic (PSS + DASS) in osmih samostojnih vprašanj.

Nivo zaznanega stresa smo izmerili z lestvico zaznanega stresa, angl. Percieved Stress Scale (PSS). Cohenova lestvica za zaznavanje stresa – PSS je široko razširjena in uveljavljena samoocenjevalna lestvica za merjenje zaznanega stresa. »Orodje, ki je bilo prvotno razvito leta 1983, ostaja priljubljena izbira, ki nam pomaga razumeti, kako različne situacije vplivajo na naše občutke in zaznani stres.« (Perceived Stress Scale, b. d.). Lestvica PSS vsebuje 10 kratkih vprašanj, na katera udeleženci odgovarjajo z: *nikoli, skoraj nikoli, včasih, razmeroma pogosto in pogosto*. Vsako vprašanje se vrednoti z 0–4 točkami. Vprašanja 4, 5, 7 in 8 se vrednotijo obratno. Posamezne ocene v PSS lahko znašajo od 0 do 40 točk, pri čemer višje ocene pomenijo več zaznanega stresa. Rezultati od 0 do 13 veljajo za majhen stres, od 14 do 26 veljajo za zmeren stres, od 27 do 40 točk pa pomenijo visoko stopnjo zaznanega stresa (Perceived Stress Scale, b.d.). Celotno PSS lestvico smo dobesedno prevedli, spremenili smo le časovni razpon vprašanj – iz enega na tri mesece, saj je to ključno za kvalitetno računanje korelacije med zaznamim

stresom in kortizolom v 3 cm las (1cm = 1 mesec), ki smo jih potrebovali za analizo. Originalen izvod lestvice PSS je podan v *Prilogi 2*.

Z lestvico depresivnosti, anksioznosti in stresa, angl. Depression Anxiety Stress Scale (DASS) (Lovibond, 1995), smo izmerili stopnjo depresivnosti, anksioznosti in stresa. DASS se uporablja predvsem za raziskovalne namene in ne za diagnostiko. Lestvica z 21. trditvami je razdeljena na tri sklope po 7 trditev. Trditve za depresivnost, anksioznost in stres so med seboj premešane. »Lestvica depresivnosti ocenjuje disforijo, brezup, razvrednotenje življenja, samoprecenjevanje, pomanjkanje zanimanja/angažiranosti, anhedonijo in inercijo. Lestvica anksioznosti ocenjuje avtonomno vzburjenje, učinke na skeletne mišice, situacijsko anksioznost in subjektivno doživljanje anksioznega vpliva. Lestvica stresa je občutljiva na ravni kroničnega nespecifičnega vzburjenja. Ocenjuje težave pri sproščanju, živčno vznemirjenost in lahkotno vznemirjenost/razburjenost, razdražljivost, pretirano vznemirjenost in nestrpnost.« (Lovibond, 1995). Udeleženci pri DASS-u preberejo vsako postavko in označijo številko 0, 1, 2, 3, ki označuje, koliko je trditev veljala zanje v preteklem tednu. Enako kot pri PSS sem pri DASS-u prilagodil časovni razpon iz enega tedna na tri mesece. Rezultate trditev seštejemo in za izračun končnega rezultata pomnožimo z 2 (Lovibond, 1995). *Tabela 3* prikazuje, kako se rezultati vrednotijo. V vprašalnik smo vključili vseh 21 trditev, ki smo jih prej dobesedno prevedli. Originalen izvod lestvice DASS je podan v *Prilogi 3*.

Tabela 3: Kriteriji za vrednotenje rezultatov lestvice »Depression, Anxiety, Stress Scale« (DASS)

	Depresivnost	Anksioznost	Stres
Normalno	0–9	0–7	0–14
Blago	10–13	8–9	15–18
Zmerno	14–20	10–14	19–25
Hudo	21–27	15–19	26–33
Zelo hudo	28+	20 +	34 +

PSS in DASS sta pogosto uporabljeni, preverjeni in standardizirani lestvici. Ker njune vsebine nismo spremenjali, nam lestvici omogočata kakovostno in zanesljivo vrednotenje rezultatov. Da bi se lahko bolj zanesli na rezultat zaznanega stresa, smo ga izmerili z dvema ocenjevalnima lestvicama (PSS in DASS).

V vprašalnik smo vključili tudi osem vprašanj o odnosu do stresa, doživljanju zelo stresnih dogodkov, spolu, kroničnih boleznih udeleženca, morebitnem kajenju, jemanju zdravil, višini in telesni teži (za računanje ITM).

2.2.3 TEHNIČNI PRIPOMOČKI

Za določanje koncentracije kortizola v laseh smo uporabili različne naprave, kemikalije in pripomočke (*Tabela 4*).

Tabela 4: Pripomočki

ODVZEM IN VZORČENJE LAS	
PRIPOMOČKI:	<ul style="list-style-type: none"> • 3 cm dolga šablona, • aluminijasta folija, • glavnik, • špange, • prenosni računalnik, • zmrzovalnik, • splošen laboratorijski material.
UMIVANJE VZORCEV LAS	
PRIPOMOČKI:	<ul style="list-style-type: none"> • 38 mikrocentrifugirk mikrocentrifugirk (2 mL), • ročna mikropipeta (100-1000µl), • plastični nastavek za mikropipeto (100-1000µl), • stojalo za mikropipeto, • lateks rokavice, • flomaster, • držalo za mikrocentrifugirke, • čaša 100mL, • digestorij.
KEMIKALIJE:	<ul style="list-style-type: none"> • 60 mL heksana. <p>H225, H304, H315, H336, H361f, H373, H411, P202, P210, P273, P301, P310, P202, P361, 353</p> <p>Slika 6: Piktogrami heksana (SAFETY DATA SHEET, 2. 1. 2023).</p>
MLETJE LAS	
PRIPOMOČKI:	<ul style="list-style-type: none"> • vakumski eksikator, • laboratorijska tehnicka, • 76 mikrocentrifugirk (2 mL), • naprava MagNA Lyser,

	<ul style="list-style-type: none"> • približno 1800 mikro keramičnih kroglic za mletje, • splošen laboratorijski material.
EKSTRAKCIJA KORTIZOLA IZ LAS	
PRIPOMOČKI:	<ul style="list-style-type: none"> • ročna mikropipeta (100–1000µl), • plastični nastavki za mikropipeto (100–1000µl), • stojalo za mikropipeto, • vertikalni rotator mikrocentrifugirk, • mikrocentrifuga, • digestorij, • 38 mikrocentrifugirk (2 mL), • kuverta s kodami, • splošen laboratorijski material.
KEMIKALIJE:	<ul style="list-style-type: none"> • 70 mL metanola, <p>H225, H301+H311+H331, H370, P210, P270, P280, P303+P361+P353, P304+P340, P308+P311Ž.</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>Slika 7: Piktogrami metanola (<i>Varnostni list, metanol ≥ 99 %, za sintezo</i>, 2. 1. 2023)</p>
MERITEV KORTIZOLA Z ELISO	
PRIPOMOČKI:	<ul style="list-style-type: none"> • ročna mikropipeta (100–1000µl), • ročna mikropipeta (50–100µl), • 8-kanalna ročna mikropipeta (20–200µl), • sterilni plastični nastavki za mikropipete, (100–1000µl, 50–100µl in 20–200µl), • 500 ml čaša, 2x 1l čaši, • sterilna petrijevka, • 100 ml merilni valj, • 1l merilni valj, • vortex stresalnik, • digestorij, • rotacijski oscilator (krožni stresalnik), • majhna škatla, • fotometer za mikroplošče Multiskan FC, • računalnik z naloženo programsko opremo Skanlt,

	<ul style="list-style-type: none"> zaščitna očala in lateks rokavice, splošen laboratorijski material. Cayman Cortisol ELISA Kit, ki vsebuje: <ul style="list-style-type: none"> mikrotitersko ploščico, prevlečeno s kozjim anti-mišjim igG (angl. Goat Anti-Mouse IgG-Coated Plate), folijo za ploščico.
KEMIKALIJE:	<ul style="list-style-type: none"> Cayman Cortisol ELISA Kit, ki vsebuje: <ul style="list-style-type: none"> stekleničko/100dtn kortizol ELISA monoklonskega protitelesa (angl. Cortisol ELISA Monoclonal Antibody), stekleničko/100dtn kortizol-AChE detektorja oz. kortizol acetilholinesteraza (angl. Cortisol ELISA Tracer), stekleničko/0,5 ml kortizol ELISA standarda (angl. Cortisol ELISA Standard) H225, H302. <div style="text-align: center;">  </div> <p>Slika 8: Piktograma ELISA standarda (Safety data sheet, 2. 1. 2023)</p> <ul style="list-style-type: none"> Steklenička/10 ml koncentrata pufra ELISE (10-krat razredčena koncentracija) (angl. ELISA Buffer Concentrate), steklenička/5 ml koncentrata pufra za izpiranje (400-krat koncentracija) (angl. Wash Buffer Concentrate), steklenička/3 ml polisorbata 20 (angl. Polysorbate 20) Steklenička/100dtn Ellmanovega reagenta (angl. Ellman's Reagent) H301, H311. <div style="text-align: center;">  </div> <p>Slika 9: Piktogram Ellmanovega reagenta (Safety data sheet, 2. 1. 2023)</p> <ul style="list-style-type: none"> Pribl. 2,5 l destilirane vode.

2.3 POSTOPEK

Metodologija dela je potekala v več fazah, prikazanih v *Grafu 2*.

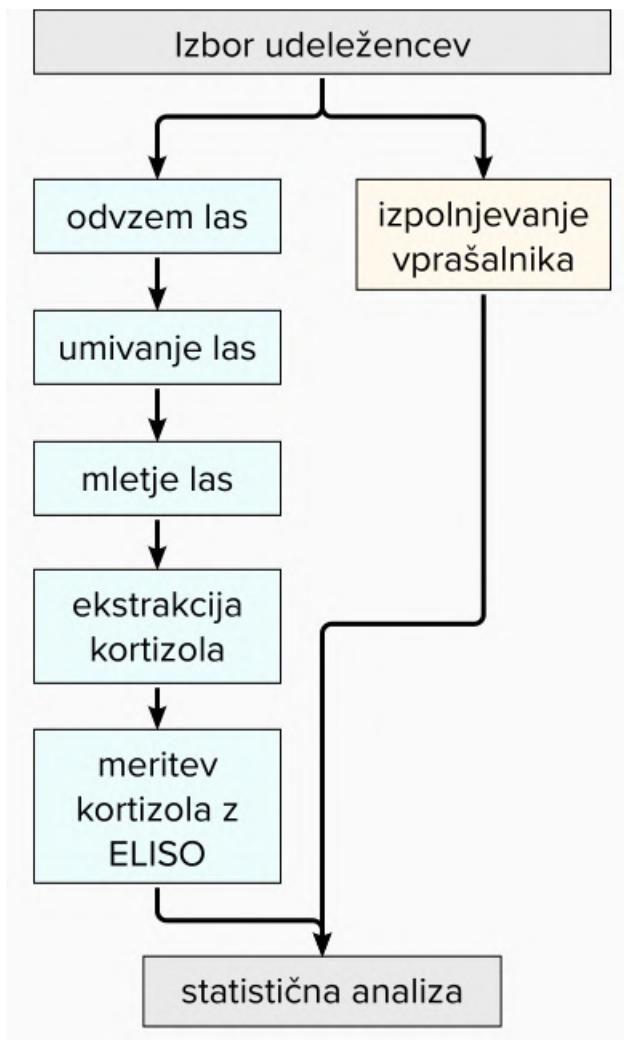
Najprej smo na šoli zbrali udeležence, ki so bili pripravljeni sodelovati v raziskavi.

Postopek merjenja koncentracije kortizola je potekal v petih fazah – faza odvzema las, umivanja las, mletja las, ekstrakcije kortizola in meritve kortizola z ELISA kompletom. Faze so bile prirejene v skladu z navodili proizvajalca Cayman ELISA kita, ki so vidna v *Prilogi 4*.

Meritve stopnje zaznanega stresa, stopnje depresivnosti, odnosa do stresa, morebitne prisotnosti hudega stresnega dogodka v bližnji preteklosti in ostalih spremenljivk so bile izvedene z uporabo vprašalnika, ki so ga udeleženci izpolnili med fazo odvzema las.

Po končanih meritvah kortizola v laseh smo podatke zbrali v preglednicah, jih analizirali, prikazali v grafih in jim določili korelacije. V nadaljevanju bomo postopke iz *Grafa 2* natančneje opisali.

Graf 2: Faze dela

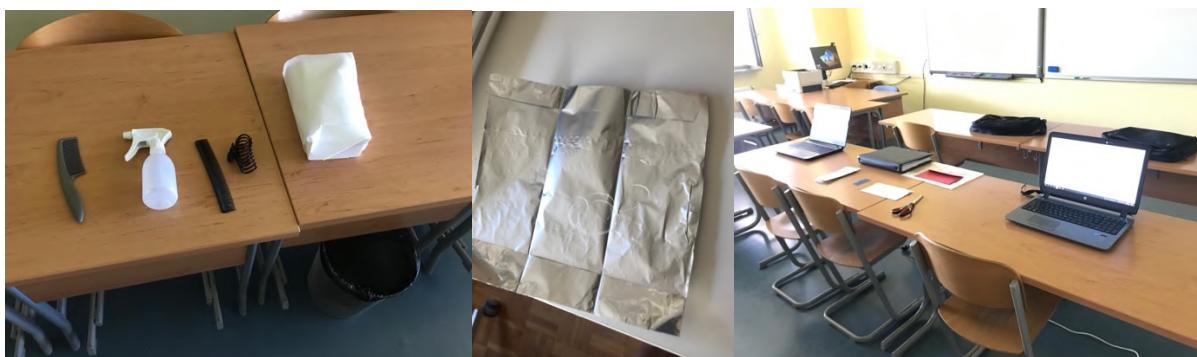


2.3.1 IZBOR UDELEŽENCEV

Na šoli smo meseca maja 2022 obiskali štiri oddelke 4. letnika in s kratko PowerPoint predstavljivo predstavili namen naše raziskovalne naloge. Med tistimi, ki so želeli sodelovati, smo naključno izbrali 40 dijakov/-inj in jim preko elektronske pošte posredovali datume za odvzem las ter izpolnjevanje vprašalnika. Udeležence smo prosili, naj si dan pred odvzemom ne umivajo las, saj bi to lahko vplivalo na rezultate.

2.3.2 ODVZEM LAS IN IZPOLNJEVANJE VPRAŠALNIKA

Pred odvzemom smo si pripravili vse potrebne pripomočke (*Tabela 3: Odvzem in vzorčenje las*). Iz aluminijaste folije smo izdelali majhne kuverte, v katerih smo kasneje shranjevali vzorce las (*Slika 10*).



Slika 10: Pripomočki, aluminijaste kuverte in delovna postaja (lasten vir).

Odvzem las je potekal 4 dni v biološki učilnici (*Slika 10*). Udeleženca smo najprej posedli, mu na kratko razložili potez odvzema in mu pokazali, koliko las bo izgubil. Skeptičnim udeležencem smo pojasnili, da bo odvzem potekal na zadnjem delu glave, na več mestih, zato bodo spremembe po odvzemu skoraj neopazne. Pred odvzemom smo razkužili pripomočke in svoje roke. Udeleženec je najprej iz kuverte izvlekel naključno kodo (npr. 10b), ki je od tedaj naprej identificirala njegove rezultate v namen anonimnosti. Počesali smo zadnji del udeleženčevega lasišča in nanj pritrdili špango. Z nitko smo ujeli majhen šop las in ga pazljivo tik ob lasišču s škarjami odrezali (*Slika 11*). Tri centimetre las (merjeno od korenine) smo shranili v kuverti iz folije, na katero smo napisali kodo udeleženca (npr. 10b). Kuverte smo do faze umivanja shranili v zamrzovalniku pri prib. – 20 °C.

Vse vzorce smo odvzemali na zadnjem delu lasišča (angl. posterior vertex), ker je bilo dokazano, da je na tem mestu rast las najbolj enakomerna (LeBeau idr., 2011) (*Slika 11*). Vsakemu udeležencu smo lase odrezali na 2 ali 3 mestih, odvisno od njegove gostote las.



Slika 11: Odvzem las (lasten vir)

Po odvzemu las je udeleženec na računalniku izpolnil vprašalnik, ki je v celoti podan v *Prilogah*. Vprašalnik je izpolnil na spletni strani 1ka.si. Na začetku vprašalnika je vstavil svojo kodo (npr. 10b), ki nam je omogočila, da smo lahko njegove rezultate iz vprašalnika primerjali z rezultati meritev kortizola v laseh.

2.3.3 UMIVANJE LAS

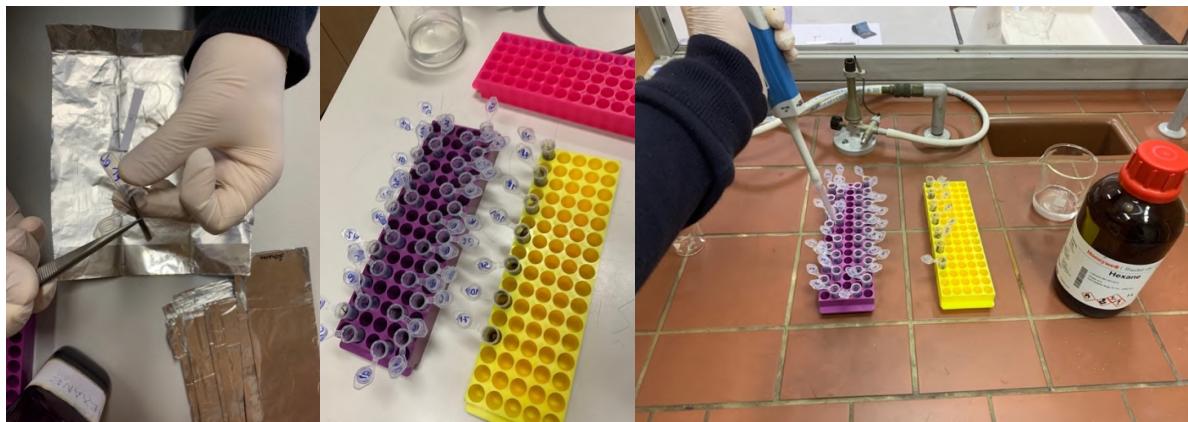
V laboratoriju smo si pripravili vse potrebne pripomočke, navedene v *Tabeli 3* pod naslovom *Umivanje las* in prikazane na *Sliki 12*.



Slika 12: Mikrocentrifugirke, heksan, držalo za mikrocentrifugirke, kuverte z vzorci las, ročna mikropipeta in splošen laboratorijski pribor (lasten vir)

Odprli smo kuverte, ki so bile shranjene na hladnem, in lase s pinceto previdno prestavili v mikrocentrifugirke (*Slika 13*). Na mikrocentrifugirke smo smo med prestavljanjem vzorcev las sproti pisali kode udeležencev. V digestoriju smo z ročno mikropipeto v vsako mikrocentrifugirko odpipetirali 1.5 ml heksana (*Slika 13*). Po dveh minutah smo iz mikrocentrifugirk s pomočjo pipete pazljivo posrkali heksan. Mikrocentrifugirke smo nekaj časa odprte pustili v digestoriju, da je izhlapel še ostanek heksana, nato pa smo jih zaprli in shranili v zmrzovalniku pri prib. – 20 °C.

Z umivanjem las smo odstranili kortizol, ki je na površini las raztopljen v znoju.



Slika 13: Prestavljanje vzorca, označene mikrocentrifugirke in pipetiranje heksana (lasten vir)

2.3.4 MLETJE LAS

Pripravili smo si pripomočke, navedene v *Tabeli 3* pod naslovom *Mletje las*. V laboratoriju smo pregledali vzorce in vlažne primerke prestavili v eksikakor, da smo izparili celoten heksan (*Slika 13*). Nato smo z laboratorijsko tehtnico stehtali vsebino vzorcev las in vsak vzorec previdno razdelili na dva dela (*Slika 14*). Polovico vzorcev smo prestavili v nove, debelejše mikrocentrifugirke, ki so se pri testnem poskusu mletja izkazale kot najtrpežnejše. Mikrocentrifugirke smo na več delih označili s kodo vzorca, da jih ne bi med seboj pomešali. Tako smo iz 38 vzorcev, shranjenih v eni mikrocentrifugirki, dobili 38 vzorcev, shranjenih v 76 mikrocentrifugirkah. Vzorce smo razpolovili, ker smo pri testnem preizkusu ugotovili, da se v manjših količinah zmeljejo na drobnejše delce, primernejše za nadaljnjo ekstrakcijo.



Slika 14: Sušenje z eksikatorjem in tehtanje z laboratorijsko tehtnico (lasten vir)

V vsako mikrocentrifugirko smo dodali približno 24 mikrokeramičnih kroglic (*Slika 15*). Mikrocentrifugirke smo zaprli, jih oblepili z lepilnim trakom in vstavili v rotor (*Slika 15*). Rotor smo pritrdirili v napravo MagNA Lyser (*Slika 15*). To je naprava, ki s hitrimi vibracijami v več oseh stresa mikrocentrifugirke, keramične kroglice pa z udarci ob steno mikrocentrifugirk meljejo njihovo vsebino. Mikrocentrifugirke smo stresali na 7000 obratih 99 sekund.



Slika 15: Mikrocentrifugirka s kroglicami, mikrocentrifugirke v rotorju in Magna Lyser (lasten vir)

Večino vzorcev las smo uspešno zmleli na majhne delce ali celo v prah, nekateri trpežnejši lasje pa so ostali v prvotni obliki (*Slika 16*). Trpežnejše vzorce smo s sterilnimi škarjami na drobno nasekljali in jih posebej označili (*Slika 17*). Zaradi velikega trenja med mletjem je nekaj mikrocentrifugirk počilo, zato

smo tovrstne vzorce izključili iz raziskave (*Slika 16*). Na koncu nam je ostalo 31 uporabnih vzorcev las, razdeljenih v 62 mikrocentrifugirki.



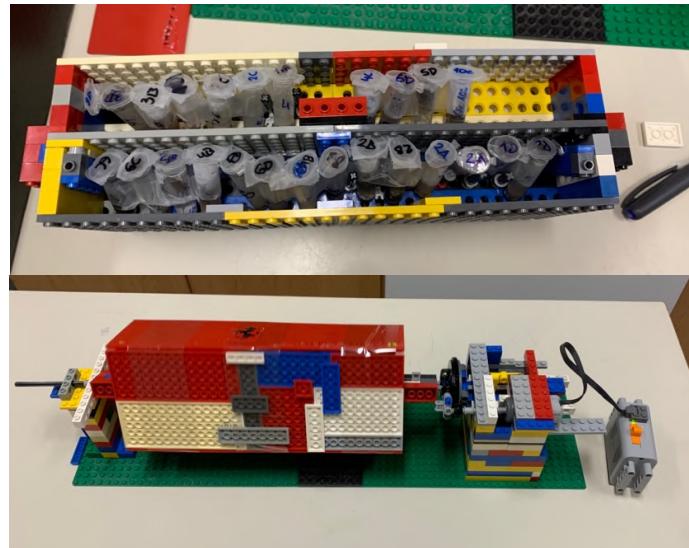
Slika 16: Drobno zmleti lasje, grobo zmleti lasje in počena mikrocentrifugirka (lasten vir)



Slika 17: Sesekljanje slabo zmletih/nezmletih las (lasten vir)

2.3.5 EKSTRAKCIJA KORTIZOLA IZ LAS

Pripravili smo si vse pripomočke, navedene v *Tabeli 3* pod naslovom *Ekstrakcija kortizola iz las*. Z ročno mikropipeto smo v digestoriju v vsako mikrocentrifugirko odpipetirali 0,9 ml metanola in mikrocentrifugirke tesno zaprli. Nato smo jih pritrdili v improviziran vertikalni rotator mikrocentrifugirk (*Slika 18*). Naprava, sestavljena iz lego kock in majhnega elektromotorčka, je mikrocentrifugirke vrtela v osi 360 °, kar je omogočilo dobro mešanje vzorca in topila med ekstrakcijo.



Slika 18: Lego vertikalni rotator mikrocentrifugirk (lasten vir)

Po 24 urah ekstrakcije smo mikrocentrifugirke prestavili v mikrocentrifugo (*Slika 19*) in jih pri 130 obratih na minuto centrifugirali 30 sekund, da se je v njih ustvarila usedlina las. Metanol smo nato iz vsake od 62 mikrocentrifugirk posrkali in ga prestavili v 31 novih mikrocentrifugirk (*Slika 19*). Tako je bilo v vsaki novi mikrocentrifugirki natanko 1,8 ml metanola (0,9 ml iz prve polovice in 0,9 ml iz druge polovice vzorca las).



Slika 19: Mikrocentrifuga in pipetiranje (lasten vir)

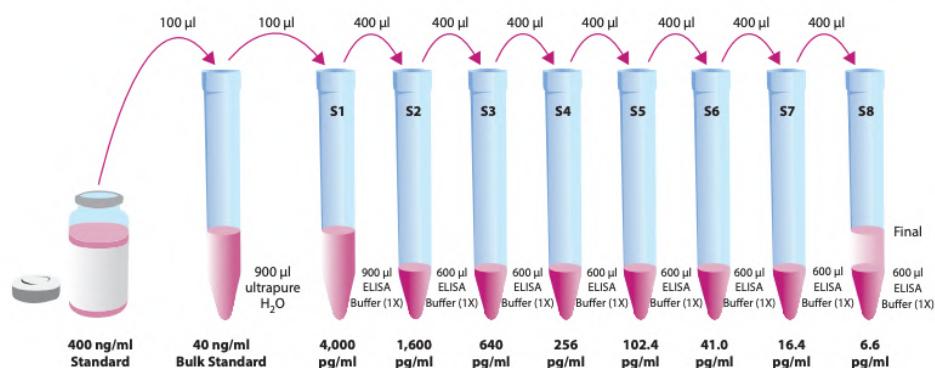
Mikrocentrifugirke smo naslednja dva dni pustili odprte v digestoriju, da je iz njih izhlapel ves metanol. Na stenah mikrocentrifugirk pa je ostal posušen kortizol.

2.3.6 MERITEV KORTIZOLA Z ELISO

Pred meritvijo kortizola z ELISA kitom smo si pripravili vse pripomočke in kemikalije, navedene v *Tabeli 3* pod naslovom *Meritev kortizola z ELISO*, ter naredili sistematičen načrt postopka. Večina dela je potekala v digestoriju, z uporabo zaščitne opreme.

Najprej smo pripravili kemikalije oz. reagente (*Slika 21*):

1. Za pripravo **1-krat koncentriranega ELISA pufrja** smo stekleničko 10-krat koncentriranega ELISA pufra razredčili v 90 ml destilirane vode. Vodo smo dodajali postopoma, tako da smo večkrat sprali stekleničko.
2. **1-krat koncentriran pralni pufer** smo pripravili tako, da smo z litrskim merilnim valjem v čašo odmerili 2 litra destilirane vode, kateri smo z brizgo dodali 1 ml polisorbata-20 in 5 ml 400-kratnega koncentriranega pralnega pufra.
3. Za pripravo **razredčenih standardnih raztopin** smo si najprej pripravili 9 čistih mikrocentrifugirk in jih označili s številkami od 0 do 8. Nastavek mikropipete smo parkrat razmočili v kortizol ELISA standardu. V mikrocentrifugirko 0 smo nato odpipetirali 100 µl kortizol ELISA standarda, 900 µl destilirane vode in vsebino dobro premešali. V vsako izmed mikrocentrifugirk 1–8 smo odpipetirali 900 µl 1-krat koncentriranega ELISA pufra. Za tem smo v 1 mikrocentrifugirko odpipetirali 100 µl vsebine mikrocentrifugirke 0 in dobro premešali. Nato smo odpipetirali 400 µl vsebine mikrocentrifugirke 1 v mikrocentrifugirko 2, premešali in postopek ponovili pri ostalih šestih mikrocentrifugirkah (*Slika 20*).



Slika 20: Priprava razredčenih standardnih raztopin (caymanchem.com, 15. 12. 2022)

4. Stekleničko **kortizol-AChE detektorja** smo razredčili v 6 ml 1-krat koncentriranega ELISA pufra.
5. Stekleničko **kortizol ELISA monoklonskega protitelesa** smo prav tako razredčili v 6 ml 1-krat koncentriranega ELISA pufra.



Slika 21: Priprava elisa pufra – 1, pralnega pufra – 2,3, kortizol elisa sledilca – 4 in standardov – 5 (lasten vir)

Po pripravi kemikalij in reagentov smo začeli z redčenjem vzorcev in polnjenjem mikrotiterske ploščice.

V vsako izmed enaintridesetih mikrocentrifugirk s posušenim kortizolom smo odpipetirali $400 \mu\text{l}$ 1-krat koncentriranega ELISA pufra. Mikrocentrifugirke smo nato stresli z vortex stresalnikom, da se je kortizol raztopil v pufru (Slika 22). Vzorce smo dali na stran in začeli s polnjenjem mikrotitrske ploščice.



Slika 22: Raztpljanje kortizola v ELISA pufru (1-krat) in stresanje z vortex stresalnikom (lasten vir)

Mikrotitrsko ploščico, prevlečeno s kozjim anti-mišjim igG, je sestavljena iz 96 vdolbinic. Pred polnjenjem smo določili prazen vzorec – Blk (angl. Blank), nespecifično vezavo – NSB (angl. Non Specific Binding), skupno aktivnost – TA (angl. Total Activity), največjo vezavo – B_0 (angl. Maximum Binding), standardne raztopine – S1-S8 (angl. Standards 1-8) in vzorce 1–31 (angl. Samples). Ploščico smo organizirali, kot prikazuje *Slika 23*. Vzorce smo razporedili v duplikatih, ker je ostalo dovolj prostora, so nekateri razporejeni celo v triplikatu (27, 7, 17, 20, 16, 19, 8, 2 in 4) (*Slika 23*).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blk	S1	S1	1	1	9	9	17	17	25	25	7
B	Blk	S2	S2	2	2	10	10	18	18	26	26	17
C	NSB	S3	S3	3	3	11	11	19	19	27	27	20
D	NSB	S4	S4	4	4	12	12	20	20	28	28	16
E	B_0	S5	S5	5	5	13	13	21	21	29	29	19
F	B_0	S6	S6	6	6	14	14	22	22	30	30	8
G	B_0	S7	S7	7	7	15	15	23	23	31	31	2
H	TA	S8	S8	8	8	16	16	24	24	22	27	4

Blk - Blank
TA - Total Activity
NSB - Non-Specific Binding
 B_0 - Maximum Binding
S1-S8 - Standards 1-8
1-24 - Samples

Slika 23: Razporeditev polj (lasten vir)

Po pripravi kemikalij/reagentov smo po naslednjih korakih začeli polniti vdolbinice mikrotiterske ploščice (*Slika 24*):

- Najprej smo z enokanalno mikropipeto v vsako vdolbinico NSB odpipetirali 100 µl 1-krat koncentriranega ELISA pufra, v vsako B_0 vdolbinico pa 50 µl 1-krat koncentriranega ELISA pufra.

2. Nato smo z enokanalno mikropipeto v vsako od S8 vdolbinic odpipetirali 50 µl 8. standardne raztopine. Za tem smo v vsako od S7 vdolbinic odpipetirali 50 µl 7. standardne raztopine in tako naprej za vse ostale standardne raztopine.
3. Po dodajanju standardov smo z enokanalno mikropipeto v vsako vdolbinico za vzorce odpipetirali 50 µl ustreznega vzorca.
4. Z multikanalno mikropipeto smo v vse vdolbinice, razen v TA in Blk, odpipetirali 50 µl kortizol-AChE detektorja.
5. Takoj po tem smo z multikanalno mikropipeto v vse vdolbinice, razen v TA, NSB in Blk, odpipetirali 50 µl kortizol ELISA monoklonskega protitelesa.
6. Ploščico smo prekrili z zaščitno folijo in jo inkubirali čez noč na 4 °C.



Slika 24: Pipetiranje z enokanalno in osemkanalno mikropipeto (lasten vir)

Naslednji dan smo začeli s pranjem, razvijanjem in skeniranjem ploščice. Najprej smo stekleničko Ellmanovega reagenta raztopili v 20 ml destilirane vode. Odstranili smo folijo in nad umivalnikom sunkovito izlili vsebino ploščice. Z multikanalno pipeto smo v vsako vdolbinico odpipetirali 300 µl 1-krat koncentriranega pralnega pufra in ploščico znova izpraznili (Slika 25). Ta postopek smo ponovili petkrat.



Slika 25: Pranje ploščice (lasten vir)

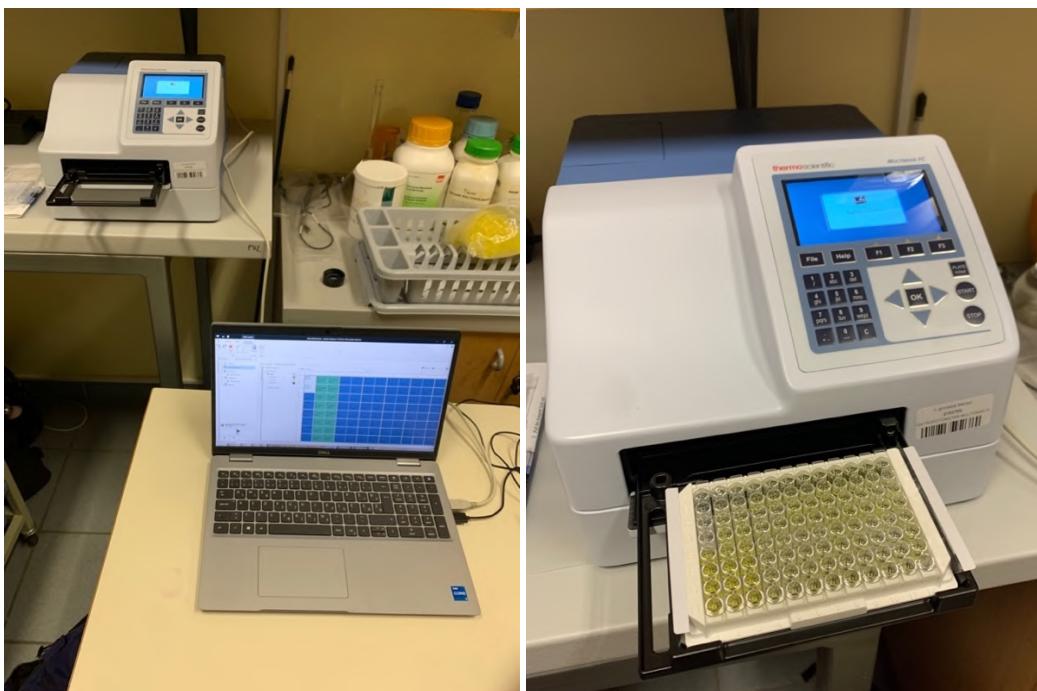
Za tem smo v vsako vdolbinico z multikanalno pipeto odpipetirali 200 µl razredčenega Ellmanovega reagenta. V TA vdolbinico smo odpipetirali še 5 µl kortizol-AChE detektorja.

Ploščico smo pokrili z zaščitno folijo, postavili na rotacijski oscilator in pokrili s škatlo, ki ne prepušča svetlobe (*Slika 26*). Ploščico smo razvijali 100 min na 50 obratih na minuto.



Slika 26: Razvijanje ploščice na rotacijskem oscilatorju (lasten vir)

Med razvijanjem ploščice smo prenosni računalnik povezali s fotometrom za mikroplošče (Multiskan FC) in izbrali ustrezen program (*Slika 27*). Ko se je ploščica razvila, smo odstranili folijo, jo vstavili v fotometer in izmerili absorbanco pri valovni dolžini 405 nm (*Slika 27*).



Slika 27: Povezovanje naprav in izbor programa; merjenje valovne dolžine (lasten vir)

2.3.7 STATISTIČNA ANALIZA IN RAČUNANJE KORELACIJ

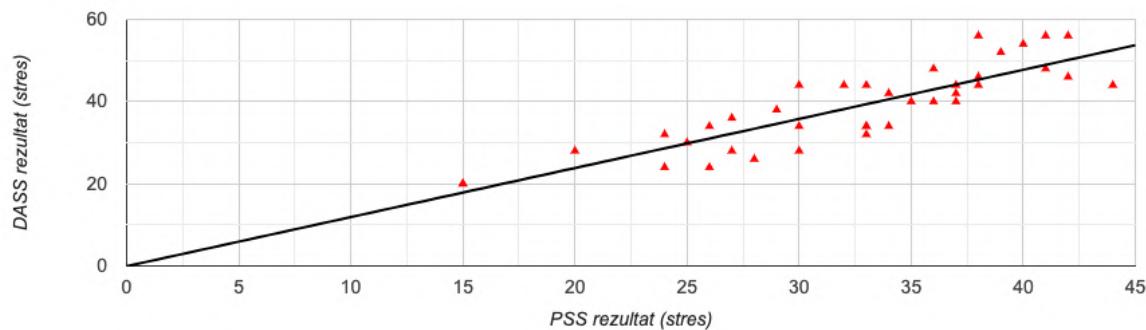
Pridobljene podatke iz vprašalnika in meritev s fotometrom smo prenesli v program Excel in ustrezno obdelali. Pri računanju statististike smo upoštevali rezultate vseh 38 udeležencev, ker nobeden ni imel kronične bolezni ali jemal kakšnega zdravila, ki bi lahko vplivalo na naše rezultate. Koncentracijo kortizola v laseh (*Priloga 7*) smo izračunali iz izmerjenih absorbanc (*Priloga 5*) po navodilih proizvajalca ELISA kita (*Priloga 6*). Pri statističnih izračunih smo si pomagali s spletnimi kalkulatorji. Rezultate smo pretvorili v grafe in tabele. Zaradi 2 metod obdelave las (mletja in rezanja) smo nekatere analize opravili ločeno.

3 REZULTATI

3.1 Korelacija med zaznamim stresom lestvice PSS in zaznamim stresom lestvice DASS

Stres smo merili z dvema različnima ocenjevalnima lestvicama, PSS in DASS, zato smo s korelacijo preverili, ali so rezultati meritve stresa obeh lestvic primerljivi. Rezultati Pearsonove korelacije (*Graf 3*) so pokazali, da med zaznamim stresom lestvice PSS in zaznamim stresom lestvice DASS obstaja velika pozitivna povezava ($r(38) = .858$, $p < .001$).

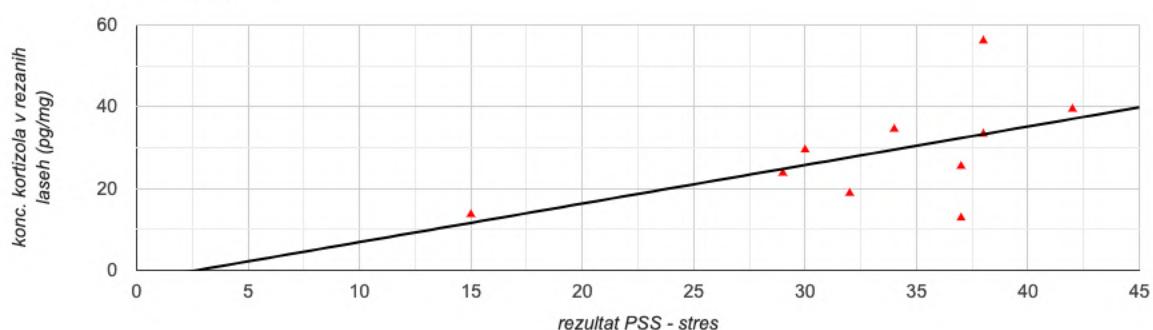
Graf 3: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)« in rezultatov stresa lestvice »Percieved Stress Scale (PSS)«



3.2 Korelacija med zaznamim stresom lestvice PSS in koncentracijo kortizola v rezanih laseh

Rezultati Pearsonove korelacije niso pokazali signifikantne povezave med zaznamim stresom lestvice PSS in koncentracijo kortizola v rezanih laseh ($r(10) = .546$, $p = .103$). Kljub temu lahko iz grafa razberemo pozitiven trend, ki nakazuje, da z naraščanjem rezultata zaznanega stresa narašča tudi koncentracija kortizola v laseh (*Graf 4*).

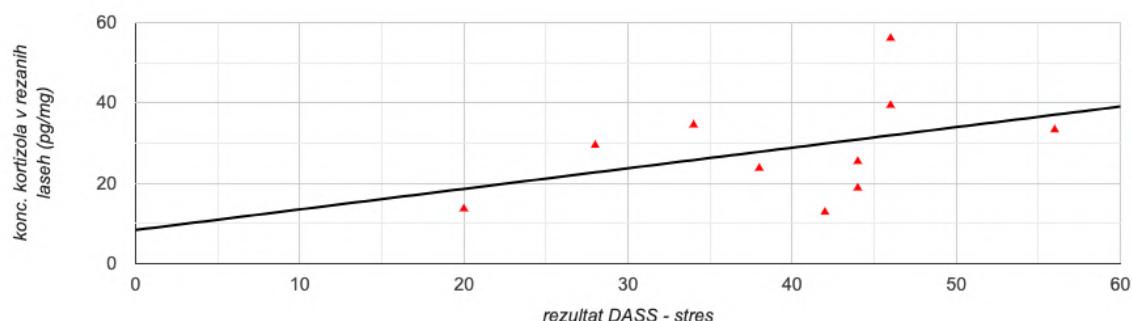
Graf 4: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Percieved Stress Scale (PSS)« in koncentracij kortizola v rezanih las



3.3 Korelacija med zaznanim stresom lestvice DASS in koncentracijo kortizola v rezanih laseh

Rezultati Pearsonove korelacije niso pokazali signifikantne povezave med zaznanim stresom lestvice DASS in koncentracijo kortizola v rezanih laseh ($r(10) = .403$, $p = .249$). Kljub temu lahko iz grafa razberemo pozitiven trend, ki nakazuje, da z naraščanjem rezultata zaznanega stresa narašča tudi koncentracija kortizola v laseh (Graf 5).

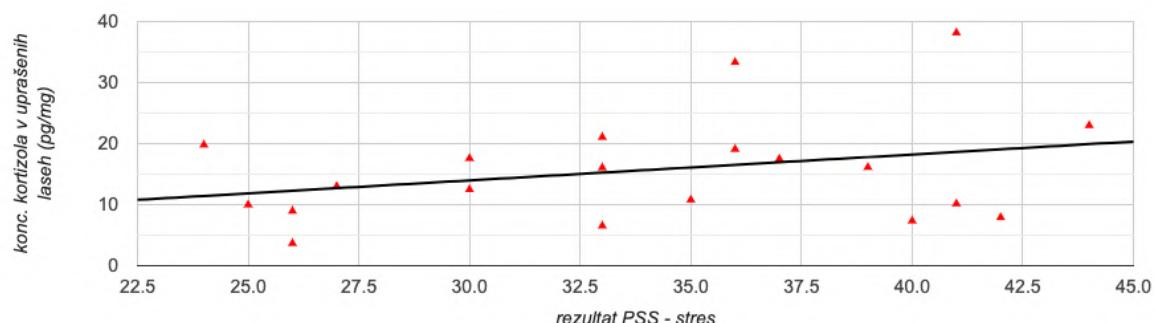
Graf 5: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)« in koncentracij kortizola rezanih las



3.4 Korelacija med zaznanim stresom lestvice PSS in koncentracijo kortizola v uprašenih laseh

Rezultati Pearsonove korelacije niso pokazali signifikantne povezave med zaznanim stresom lestvice PSS in koncentracijo kortizola v uprašenih laseh ($r(20) = .303$, $p = .194$). Kljub temu lahko iz grafa razberemo pozitiven trend, ki nakazuje, da z naraščanjem rezultata zaznanega stresa narašča tudi koncentracija kortizola v laseh (Graf 6).

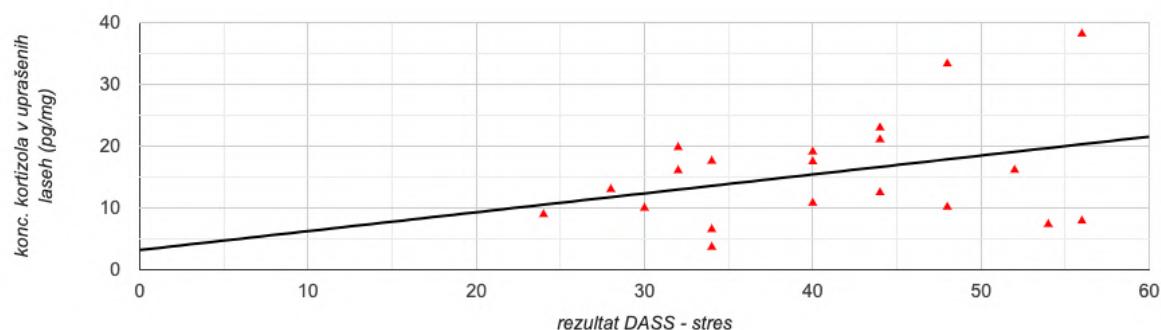
Graf 6: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Percieved Stress Scale (PSS)« in koncentracij kortizola uprašenih las



3.5 Korelacija med zaznamim stresom lestvice DASS in koncentracijo kortizola v uprašenih laseh

Rezultati Pearsonove korelacije niso pokazali signifikantne povezave med zaznamim stresom lestvice DASS in koncentracijo kortizola v uprašenih laseh ($r(20) = .337$, $p = .146$). Kljub temu lahko iz grafa razberemo pozitiven trend, ki nakazuje, da z naraščanjem rezultata zaznanega stresa narašča tudi koncentracija kortizola v laseh (Graf 7).

Graf 7: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)« in koncentracij kortizola uprašenih las



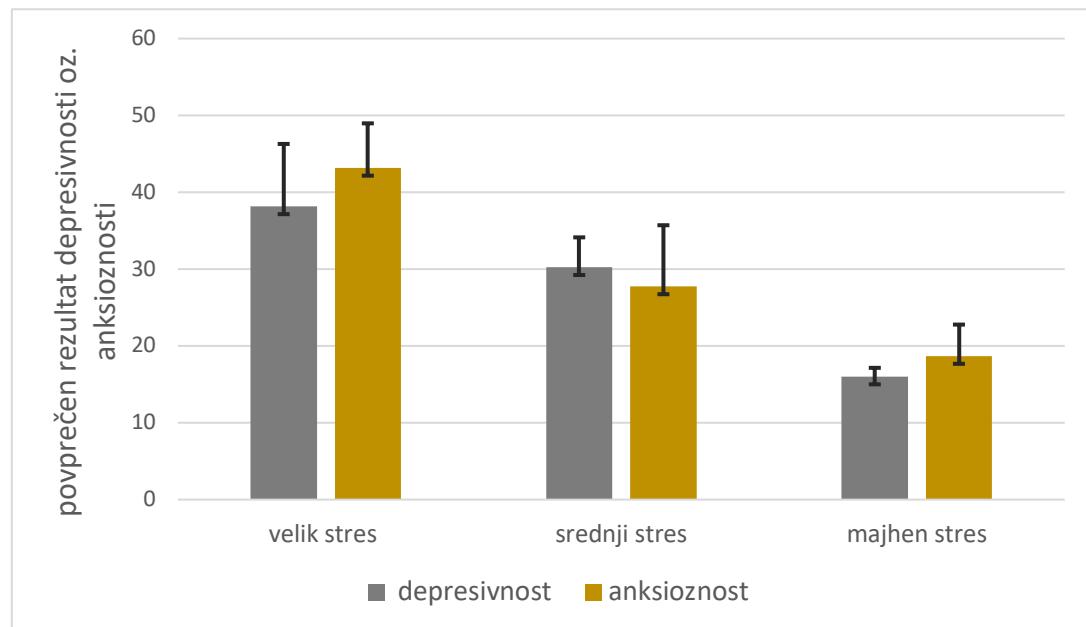
3.6 Povprečni rezultati depresivnosti in anksioznosti za udeležence, ki so glede na rezultat lestvice PSS zaznali velik, srednji oz. majhen stres

Tabela 5: Primerjava med stopnjo zaznanega stresa pri lestvici »Percieved Stress Scale (PSS)« in povprečno vrednostjo depresivnosti ter anksioznosti pri lestvici »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)«

PSS	<i>f</i>	DEPRESIVNOST		ANKSIOZNOST	
		<i>M</i>	SD	<i>M</i>	SD
velik stres	13	38,15	8,14	43,16	5,81
srednji stres	22	30,23	3,9	27,73	7,98
majhen stres	3	16	1,15	18,67	4,11

Opomba. Absolutna frekvenc – *f*; Standardni odklon – SD; Povprečen rezultat – *M*

Graf 8: Histogram povprečnih rezultatov stresa lestvice »Percieved Stress Scale (PSS)« pri posameznih stopnjah stresa

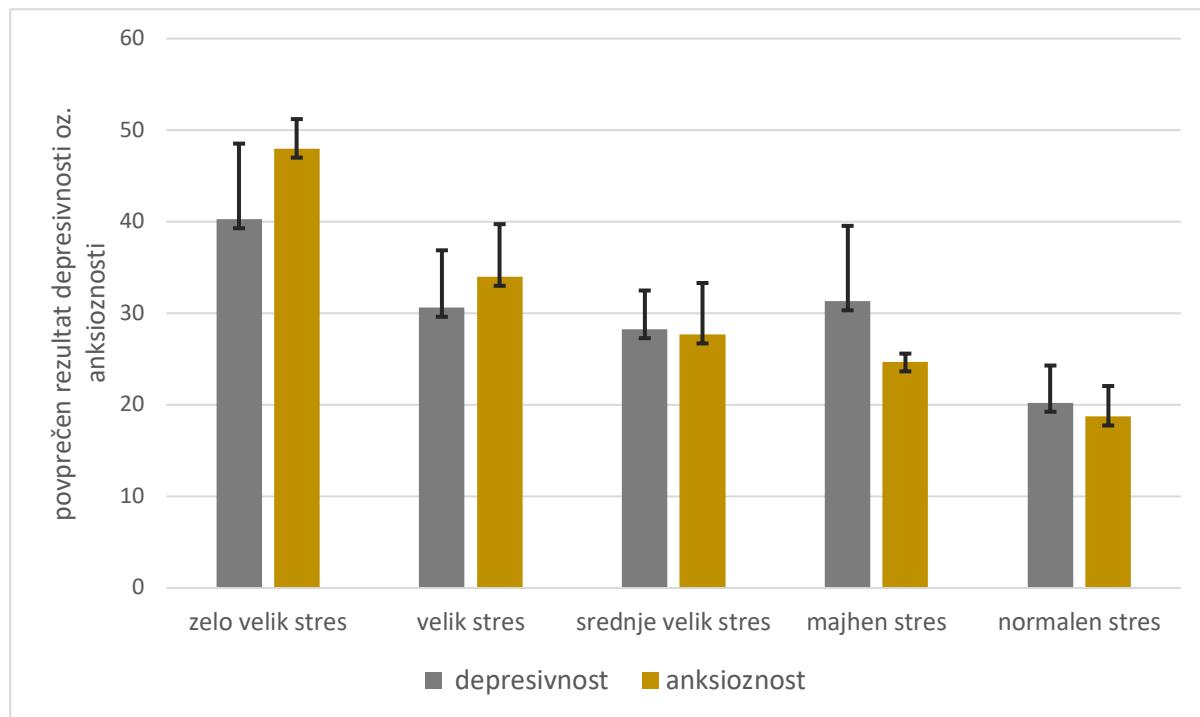


3.7 Povprečni rezultati depresivnosti in anksioznosti za udeležence, ki so glede na rezultat DASS pri sebi zaznali velik, srednji oz. majhen stres

Tabela 6: Primerjava med stopnjo zaznanega stresa pri lestvici »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)« in povprečno vrednostjo depresivnosti ter anksioznosti pri lestvici »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)«

DASS	<i>f</i>	DEPRESIVNOST		ANKSIOZNOST	
		<i>M</i>	SD	<i>M</i>	SD
zelo velik stres	7	40,29	8,24	48	3,21
velik stres	13	30,62	6,26	34	5,74
srednje velik stres	7	28,29	4,2	27,71	5,6
majhen stres	3	31,33	8,22	24,66	0,94
normalen stres	8	20,25	4,05	18,75	3,31
Opomba. Absolutna frekvanca – <i>f</i> ; Standardni odklon – SD; Povprečen rezultat – <i>M</i>					

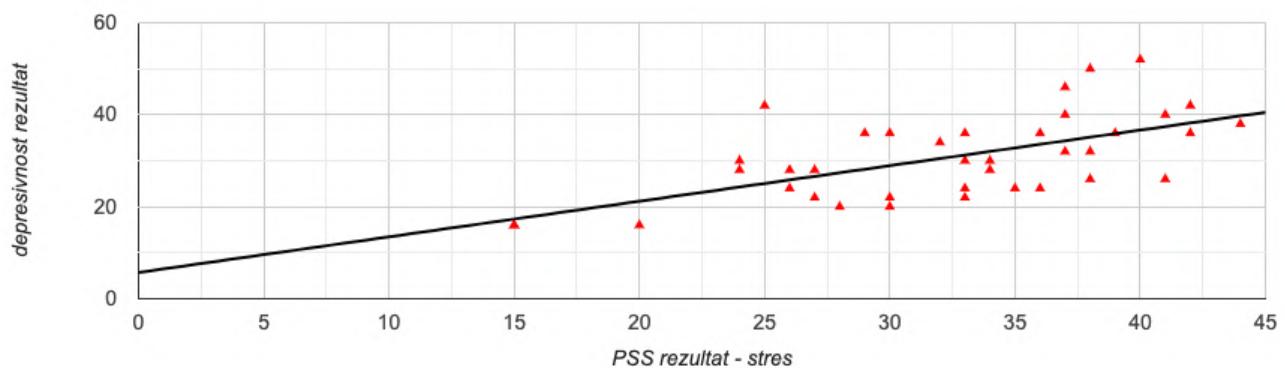
Graf 9: Histogram povprečnih rezultatov stresa lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)« pri posameznih stopnjah stresa



3.8 Korelacija med zaznamim stresom lestvice PSS in depresivnostjo

Rezultati Pearsonove korelacije so pokazali, da obstaja velika pozitivna povezava med zaznamim stresom lestvice PSS in depresivnostjo ($r(38) = .609$, $p < .001$).

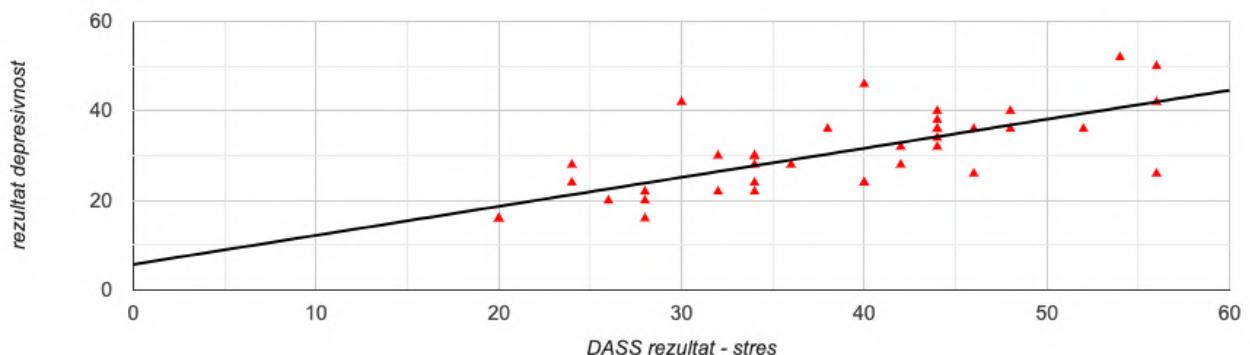
Graf 10: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Percieved Stress Scale (PSS)« in rezultatov depresivnosti lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)«



3.9 Korelacija med zaznanim stresom lestvice DASS in depresivnostjo

Rezultati Pearsonove korelacije so pokazali, da obstaja velika pozitivna povezava med zaznanim stresom lestvice DASS in depresivnostjo ($r(38) = .71$, $p < .001$).

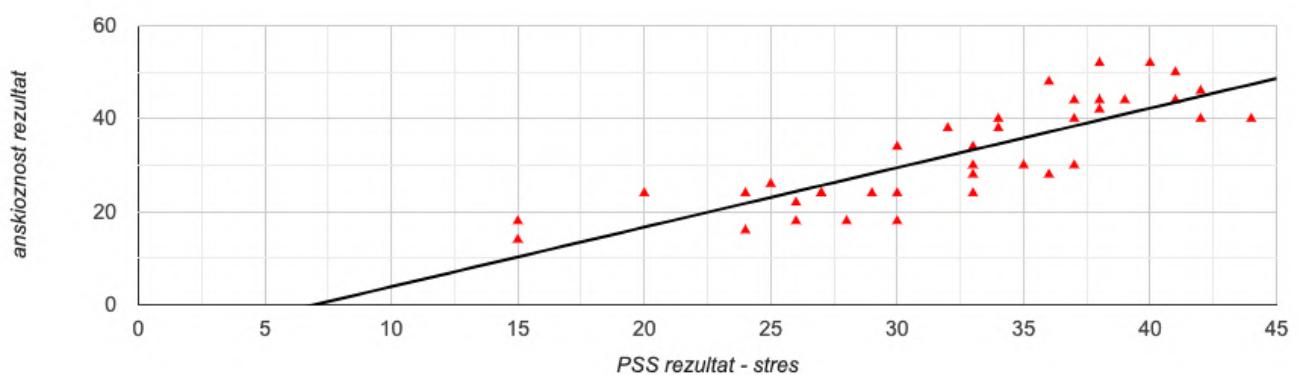
Graf 11: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)« in rezultatov depresivnosti lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)«



3.10 Korelacija med zaznanim stresom lestvice PSS in anksioznostjo

Rezultati Pearsonove korelacije so pokazali, da obstaja velika pozitivna povezava med zaznanim stresom lestvice PSS in anksioznostjo ($r(38) = .827$, $p < .001$).

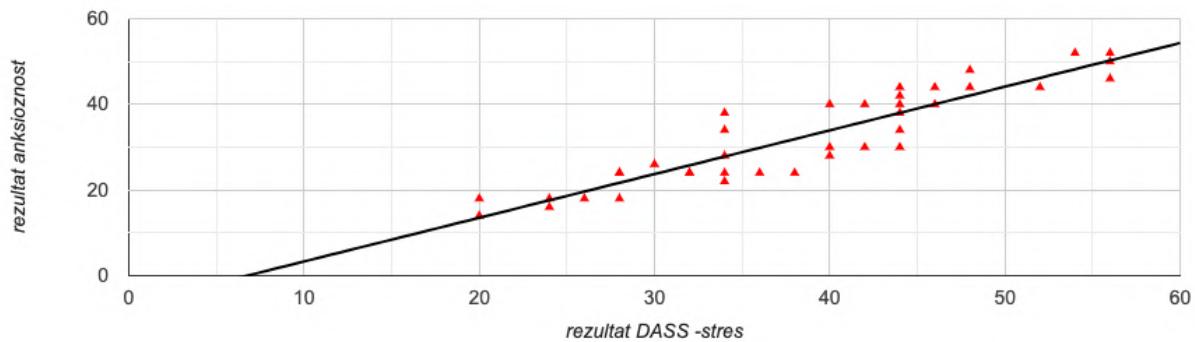
Graf 12: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Percieved Stress Scale (PSS)« in rezultatov anksioznosti lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)«



3.11 Korelacija med zaznanim stresom lestvice DASS in anksioznostjo

Rezultati Pearsonove korelacije so pokazali, da obstaja zelo velika pozitivna povezava med zaznanim stresom lestvice DASS in anksioznostjo ($r(38) = .918$, $p < .001$).

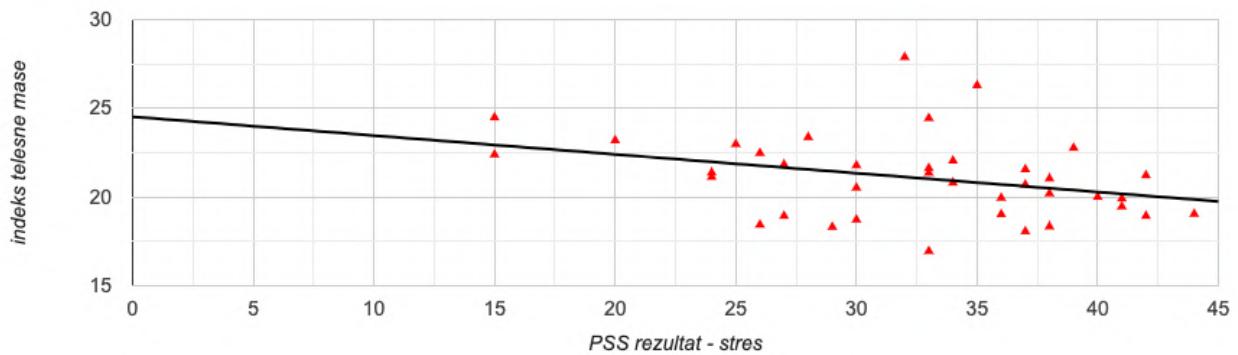
Graf 13: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)« in rezultatov anksioznosti lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)«



3.12 Korelacija med zaznanim stresom lestvice PSS in indeksom telesne mase

Rezultati Pearsonove korelacije so pokazali, da obstaja majhna negativna povezava med zaznanim stresom lestvice PSS in indeksom telesne mase ($r(38) = -.329$, $p = .044$).

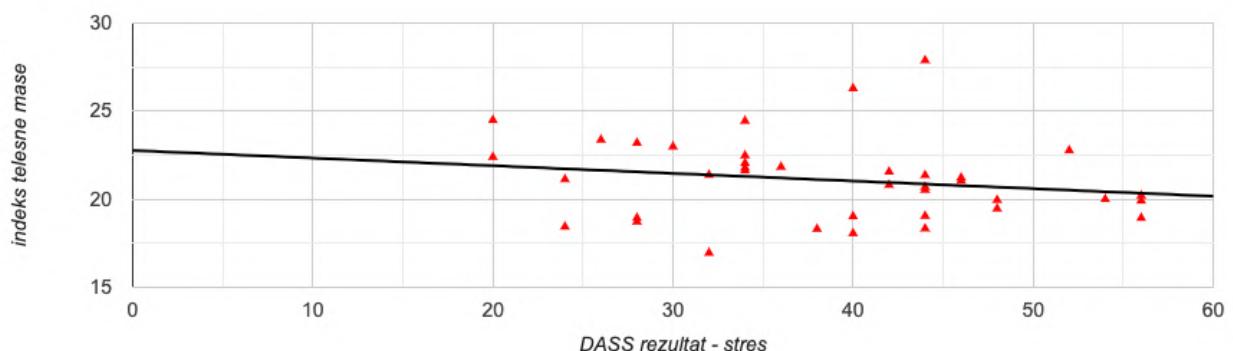
Graf 14: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Percieved Stress Scale (PSS)« in indeksov telesne mase



3.13 Korelacija med zaznanim stresom lestvice DASS in indeksom telesne mase

Rezultati Pearsonove korelacije niso pokazali signifikantne povezave med zaznanim stresom lestvice DASS in indeksom telesne mase ($r(38) = .187, p = .260$). Kljub temu lahko iz grafa razberemo negativen trend, ki nakazuje, da z naraščanjem rezultata zaznanega stresa upada rezultat indeksa telesne mase (Graf 13).

Graf 15: Graf raztrosa rezultatov stresa lestvice »Depression Anxiety Stress Scale (DASS)« in indeksov telesne mase



3.14 Razlika v rezutatih zaznanega stresa lestvice PSS oz. DASS med udeleženci, ki imajo pozitiven, negativen oz. nevtralen odnos do stresa

Udeleženci so pri vprašalniku izrazili, kako se počutijo, ko so pod stresom.

Možni odgovori so bili:

- A – stres name ne vpliva in mu ne posvečam pozornosti,
- B – mislim, da mi stres koristi/rad imam občutek stresa,
- C – zaradi stresa se počutim slabo.

Udeležence lahko glede na njihov odgovor razdelimo v skupine A, B in C. A predstavlja nevtralen odnos do stresa, B predstavlja pozitiven odnos do stresa, C pa negativen odnos do le-tega. Da bi ugotovili razliko med rezultati stresa skupin A, B in C, smo izračunali povprečen rezultat vsake skupine udeležencev.

Tabela 7: Povprečne vrednosti zaznanega stresa pri skupini z nevtralnim (a), pozitivnim (b) in negativnim (c) odnosom do stresa

	LESTVICA PSS			
	A	B	C	skupaj
absolutna frekvenca	4	6	28	38
povprečen rezultat stresa	24	26	35	32
standardni odklon	6	8	5	7
	LESTVICA DASS			
	A	B	C	skupaj
absolutna frekvenca	4	6	28	38
povprečen rezultat stresa	27	31	42	39
standardni odklon	6	8	9	10
Opomba. A = nevtralen odnos, B = pozitiven odnos, C = negativen odnos.				

Za dokaz statistično pomembne razlike v rezultatu stresa med skupinami A, B in C smo uporabili enosmerni Anova test. Vrednost p je bila za rezultate lestvice PSS nižja od 0,05 (**0,0003**), kar pomeni, da se ena ali več skupin signifikantno razlikujejo (*Priloga 9*). Vrednost p je bila za rezultate lestvice DASS prav tako nižja od 0,05 (**0,0009**), kar pomeni, da se ena ali več skupin signifikantno razlikujejo v stopnji zaznanega stresa (*Priloga 11*).

Da bi dokazali kateri pari skupin se med seboj pomembno razlikujejo, smo uporabili Tukeyjev test.

Razlike med pari za vrednosti lestvice PSS (*Priloga 10*):

Med skupinama A in B ni bilo statistično pomembne razlike ($p = 0,85$). Skupini A in C sta pokazali pomembno statistično razliko, saj je bila p-vrednost manjša od 0,01 (0,0039). Skupini B in C sta prav tako pokazali pomembno statistično razliko, saj je bila p-vrednost manjša od 0,01 (0,0052).

Razlike med pari za vrednosti lestvice DASS (*Priloga 12*):

Med skupinama A in B ni bilo statistično pomembne razlike ($p = 0,76$). Skupini A in C sta pokazali pomembno statistično razliko, saj je bila p-vrednost manjša od 0,01 (0,0058). Skupini B in C sta prav tako pokazali pomembno statistično razliko, saj je bila p-vrednost manjša od 0,05 (0,014).

3.15 Povprečni rezultati moških in žensk po posameznih stopnjah lestvice PSS (velik stres, srednji stres, majhen stres) in DASS (zelo velik stres, velik stres, srednje velik stres, majhen stres, normalen stres)

Tabela 8: Primerjava med stopnjo zaznanega stresa po lestvici PSS oz. DASS pri moških in ženskah

PSS	ŽENSKE (24)				MOŠKI (14)			
	f	delež (%)	M	SD	f	delež (%)	M	SD
velik stres	12	50	39,75	2,17	1	7	37,00	0
srednji stres	12	50	32,17	3,16	10	71	27,90	3,18
majhen stres	0	0	0	0	3	21	16,67	2,36
DASS	ŽENSKE (24)				MOŠKI (14)			
	f	delež (%)	M	SD	f	delež (%)	M	SD
zelo velik stres	7	29	52,86	3,36	0	0	0	0
velik stres	11	46	43,64	1,67	2	14	40,00	0
srednje velik stres	4	17	34,00	0	3	21	36,00	1,63
majhen stres	1	4	32,00	0	2	14	31,00	1,00
normalen stres	1	4	24,00	0	7	50	24,86	3,36
Opomba. Absolutna frekvenca – f; Standardni odklon – SD; Povprečen rezultat – M								

3.16 Statistično pomembne razlike v rezultatu zaznanega stresa po lestvici PSS in lestvici DASS med spoloma

Za računanje razlike med rezultati moških in žensk smo uporabili t- test.

Vrednost t za lestvico PSS je 5,38729. Vrednost p je < ,00001.

Vrednost t za lestvico DASS je 5,01912. Vrednost p je < ,00001.

Razliki v rezultatu stresa med spoloma sta signifikantni, saj je p- vrednost pri obeh lestvicah manjša od 0,05.

3.17 Razlika v rezultatih zaznanega stresa po lestvici PSS oz. DASS med udeleženci, ki so v preteklih treh mesecih doživeli hujši stresni dogodek, in udeleženci, ki niso

12 udeležcev (od 38) je v preteklih treh mesecih doživelo hujši stresni dogodek.

Hudi stresni dogodki so bili:

- razhod,
- prepri,
- družinske težave,
- ločitev staršev,
- smrt bližnjega,
- vozniški izpit,
- selitev.

Za dokazovanje razlik smo izračunali povprečen rezultat zaznanega stresa za obe skupini udeležencev. Iz rezultatov zaznanega stresa udeležencev, ki so in ki niso doživeli hujšega stresnega dogodka, smo izračunali tudi t- in p-vrednost (*Tabela 9*).

Tabela 9: Primerjava povprečnega rezultata zaznanega stresa glede na prisotnost hujšega stresnega dogodka v preteklosti – t-vrednost in p- vrednost

Vrsta lestvice	prisotnost dogodka DA/NE	povprečen rezultat	t-vrednost	p- vrednost
PSS	DA	32,08	-0,149	0,44
	NE	32,46		
DASS	DA	39.17	0,243	0,41
	NE	38.31		

Med udeleženci, ki so doživeli hujši stresni dogodek, in med tistimi, ki ga niso, nismo zaznali statistično pomembnih razlik v rezultatu zaznanega stresa.

4 RAZPRAVA

V raziskovalni nalogi smo preverili, ali obstajajo povezave med zaznamim stresom in kortizolom v laseh, depresivnostjo, anksioznostjo, spolom, indeksom telesne mase, hujšimi stresnimi dogodki in odnosom do stresa.

Za pridobitev temeljnih podatkov o stopnji zaznanega stresa smo uporabili dve ocenjevalni lestvici, PSS (angl. Percieved Stress Scale) in DASS (angl. Depression Anxiety Stress Scale). Rezultati Pearsonove korelacije (*Graf 3*) so pokazali, da med zaznamim stresom lestvice PSS in zaznamim stresom lestvice DASS obstaja velika pozitivna povezava ($r(38) = .858$, $p < .001$), kar potrjuje zanesljivost rezultatov o zaznanem stresu. Kljub veliki pozitivni korelaciji med lestvicama se njuni rezultati nekoliko razlikujejo, zato smo pri nadalnjih analizah rezultate lestvice PSS in lestvice DASS obravnavali ločeno.

Prvi del vzorcev las smo uprašili, drugi del pa smo samo nasekljali, zato smo koncentracije kortizola prvega in drugega dela analizirali ločeno. Rezultati Pearsonove korelacije (*Grafa 4 in 5*) za obe lestvici (PSS in DASS) niso pokazali signifikantne povezave med koncentracijo kortizola v rezanih laseh in zaznamim stresom ($r(PSS)(10) = .546$, $p = .103$ in $r(DASS)(10) = .403$, $p = .249$). Rezultati Pearsonove korelacije (*Grafa 6 in 7*) za obe lestvici (PSS in DASS) niso pokazali signifikantne povezave med koncentracijo kortizola v uprašenih laseh in zaznamim stresom ($r(PSS)(20) = .303$, $p = .194$ in $r(DASS)(20) = .337$, $p = .146$). Kljub temu je pri vseh štirih grafih raztrosa razvidno, da obstaja pozitiven trend med koncentracijo kortizola v laseh in zaznamim stresom (*Grafi 4, 5, 6 in 7*). Trend nakazuje, da z naraščanjem rezultata zaznanega stresa narašča tudi koncentracija kortizola v laseh. Nesignifikantnost povezav ($p > 0.05$) je najverjetnejše posledica majhnega vzorca udeležencev (30) in visoke variabilnosti izmerjenih koncentracij kortizola (*Priloga 7*), ki je natančneje razložena v nadalnjem podoglavlju *Ocena metode*. Potencialnih vzrokov za razliko v korelaciji med zaznamim stresom in koncentracijo kortizola v rezanih ter uprašenih laseh je več. Najverjetnejše je do razlike prišlo zaradi majhnega števila vzorcev (rezanih je deset, uprašenih pa dvajset). Metoda obdelave vzorcev las je prav tako eden izmed mogočih razlogov za razlike v korelacijah, kar je natančneje razloženo v nadalnjem podoglavlju *Ocena metode*. Tudi izbor ocenjevalne lestvice ima majhen, a nezanemarljiv vpliv na faktor korelacije. Zaradi nesignifikantnih povezav med zaznamim stresom in koncentracijo kortizola v laseh nismo uspeli potrditi prve hipoteze, da imajo dijaki, ki so zaznali veliko oz. zelo veliko stresa, višjo koncentracijo kortizola v laseh kot dijaki z normalnim ali nizkim zaznamim stresom.

Gonzalez in sodelavci so v raziskavi ugotovili, da so udeleženci z višjo stopnjo zaznanega stresa imeli višjo povprečno koncentracijo kortizola v laseh kot tisti z nižjo zaznano stopnjo stresa (Gonzalez idr., 2019). Karlén in sodelavci so med kortizolom v laseh in zaznamim stresom izmerili majhno negativno korelacijo ($r(99) = -0.061$, $p = 0.025$).

Udeleženci, ki so po merilih lestvice PSS in DASS zaznali velik oz. zelo velik stres, so dosegali višji povprečen rezultat depresivnosti in anksioznosti kot tisti s srednjim, majhnim ali normalnim zaznamim stresom (*Tabeli 5 in 6*). Višja kot je stopnja zaznanega stresa, višji je povprečen rezultat depresivnosti in anksioznosti (*Grafa 8 in 9*). Izrazito signifikantna razlika je med povprečnimi rezultati anksioznosti pri posameznih stopnjah stresa. Omeniti je treba dokaj veliko razpršenost rezultatov okoli povprečij, še posebej pri rezultatih depresivnosti (*Tabeli 5 in 6*). Potrdili smo drugo in tretjo hipotezo, da so dijaki, ki so zaznali veliko oz. zelo veliko stresa, zaznali tudi višjo stopnjo depresivnosti oz. anksioznosti kot dijaki z normalnim ali nizkim zaznamim stresom.

Omenjeni hipotezi (2 in 3) smo potrdili tudi z rezultati Pearsonove korelacije (*Grafi 11, 12, 13 in 14*), saj obstaja velika pozitivna povezava med zaznanim stresom in depresivnostjo ($r(PSS)(38) = .609, p < .001$ in $r(DASS)(38) = .71, p < .001$) ter zaznanim stresom in anksioznostjo ($r(PSS)(36) = .827, p < .001$ in $r(DASS)(36) = .918, p < .001$).

Študije potrjujejo veliko povezanost med zaznanim stresom in depresijo ter anksioznostjo. Chen in sodelavci so ugotovili, da so višje stopnje zaznanega stresa povezane z večjimi možnostmi za prisotnost depresije in anksioznosti pri študentih (Chen idr., 2021). Liu in sodelavci so ugotovili, da so posamezniki z višjimi stopnjami zaznanega stresa pogosteje doživljali simptome depresije in anksioznosti v primerjavi s tistimi z nižjimi stopnjami stresa (Liu idr., 2020). Depresija in zaznan stres sta močno povezana, ker lahko stres sproži ali poslabša simptome depresije in obratno. Kronični stres lahko vodi do sprememb v strukturi in delovanju možganov, ki so povezane z razvojem depresije (Hasler idr., 2004). Po drugi strani pa lahko depresija poveča naše zaznavanje stresa, saj negativne misli in občutki, povezani z depresijo, vodijo do povečane občutljivosti na stresorje (Liu in Alloy, 2010). Tudi stres in anksioznost sta medsebojno povezana. Stres lahko sproži ali poslabša simptome anksioznosti, medtem ko lahko anksioznost poveča stopnjo in percepциjo stresa (McEwen in Morrison, 2013).

Zanimala nas je tudi korelacija med stresom in indeksom telesne mase. Rezultati Pearsonove korelacije (*Grafa 14 in 15*) so pokazali, da je med rezultatom zaznanega stresa lestvice PSS in indeksom telesne mase srednje velika negativna povezava ($r(36) = .329, p = .044$), med rezultati zaznanega stresa lestvice DASS in indeksom telesne mase pa ni bilo signifikantne povezave ($r(36) = .187, p = .260$). Povezave nam verjetno ni uspelo dokazati, ker so vsi razen dveh udeležencev imeli normalen indeks telesne mase. V nedavni študiji z večjim številom udeležencev ($n = 1535$) so odkrili, da med indeksom telesne mase in zaznanim stresom obstaja pozitivna povezava. Zaradi večjega vzorca so raziskovalci v raziskavi naleteli na več oseb s premajhno oz. prekomerno telesno težo, kar je bistveno za računanje korelacije med ITM in zaznanim stresom (Chen idr., 2022). Zaradi nesignifikantnih povezav nismo potrdili četrte hipoteze, da so dijaki z višjim indeksom telesne mase zaznali večjo stopnjo stresa kot dijaki z normalnim ali nizkim indeksom telesne mase.

Z enosmernim ANOVA testom smo dokazali, da se udeleženci z različnim odnosom do stresa bistveno razlikujejo v stopnji zaznanega stresa. Med udeleženci s pozitivim oz. nevtralnim odnosom do stresa in udeleženci z negativnim odnosom do stresa je bistvena razlika, saj je bila p-vrednost manjša od 0,01 oz. 0,05 v enem primeru. Iz *Tabele 7* je razvidno, da je povprečen rezultat zaznanega stresa skupine z negativnim odnosom do stresa izrazito višji od skupin s pozitivnim in nevtralnim odnosom do stresa. S tem smo potrdili peto hipotezo, da dijaki s pozitivnim in nevtralnim odnosom stresa zaznavajo manj stresa kot dijaki z negativnim odnosom do stresa.

Seery in sodelavci so prav tako dokazali, da ima negativen odnos do stresa vpliv na stopnjo zaznanega stresa. Posamezniki z negativnim odnosom do stresa redkeje uporabljajo konstruktivne strategije spoprijemanja z le-tem, kar lahko poveča stopnjo zaznanega stresa (Seery idr., 2010).

Raziskovali smo povezavo med spolom in stopnjo zaznanega stresa. Statistično pomembno razliko smo dokazali z izračunom t-vrednosti, ki je znašala 5,39 ($p < ,00001$) za lestvico PSS in 5,02 ($p < ,00001$) za lestvico DASS. Moški in ženske so se izrazito razlikovali po stopnji zaznanega stresa, 50 % žensk je po lestvici PSS zaznalo velik stres, 50 % pa srednje velik stres, medtem ko je velik stres zaznalo le 9 % moških, 70 % srednje velik stres in 21 % majhen stres (*Tabela 8*). Po rezultatih lestvice DASS so razlike še nekoliko večje, 75 % žensk je zaznalo zelo velik oz. velik stres, 17 % srednje velik stres, le 8 % pa majhen oz. normalen stres, medtem ko je zelo velik oz. velik stres zaznalo le 14 % moških, srednje velik stres 21 %, večina (64 %) pa je zaznala majhen oz. normalen stres (*Tabela 8*). Povprečne vrednosti zaznanega stresa

po stopnjah so pri ženskah večinoma višje kot pri moških, razpršenost podatkov pa je dokaj majhna (*Tabela 8*). S tem smo potrdili šesto hipotezo, da ženske zaznavajo več stresa kot moški.

Študija, ki je uporabila enako ocenjevalno lestvico (PSS), je pokazala značilne razlike med spoloma na področju zaznanega stresa, saj so ženske poročale o izrazito višjih vrednostih zaznanega stresa, poleg tega pa je več žensk pokazalo večjo stopnjo stresa v primerjavi z moškimi (Graves idr., 2021). Do enakih ugotovitev so prišli tudi v drugih študijah (Deatherage idr., 2014; Backović idr., 2012; Rahardjo idr., 2013; Hall idr., 2006). Schmaus in sodelavci so razlike med spoloma preučili v kontroliranem okolju in ugotovili, da so ženske verjetno bolj občutljive na ponavljanje stresu v primerjavi z moškimi (Schmaus, 2008). K višji stopnji stresa pri ženskah lahko prispevajo družbena pričakovanja, spolne vloge, pritisk skladanja z normami telesne podobe, razlike v plačilu med spoloma in omejene karierni možnosti (O'Brien et al., 2009; Goyal et al., 2016; Field et al., 2003; APA, 2016).

Med udeleženci nismo zaznali, da bi hujši stresni dogodek v bližnji preteklosti vplival na njihov zaznani stres (*Tabela 9*). Povprečen rezultat zaznanega stresa udeležencev, ki so oz. niso doživeli hujšega stresnega dogodka, je zelo podoben. Ugotovitev potrjuje tudi t-vrednost, ki je relativno majhna, in p-vrednost, ki dokazuje, da statistična razlika ne obstaja. Nismo potrdili sedme hipoteze, da dijaki, ki so v preteklih treh mesecih doživeli hujši stresni dogodek, zaznajo več stresa kot dijaki, ki takšnega dogodka niso doživeli.

Feizi in sodelavci so dokazali, da je stopnja stresa višja pri osebah, ki so nedavno doživele psihično nasilje ali probleme v odnosih z družino in partnerji (Feizi idr., 2012). Tudi v naši raziskavi je nekaj udeležencev izrazilo nedavne težave v odnosih (razhod, ločitev), vendar se njihovi rezultati v zaznanem stresu niso razlikovali od udeležencev, ki niso imeli takšnih težav. Predvidevamo, da bi z razširjenim zaprtim tipom vprašanj dobili bolj objektivne odgovore.

2.5.2 Ocena metode, možni viri napak in možnosti za izboljšave

Pred mletjem vzorcev smo opravili testni preizkus mletja las v različnih mikrocentrifugirkah in pri različnih količinah las. Testne vzorce smo brez problema brezhibno zmleli v prah. V nadaljevanju smo uporabili vrsto mikrocentrifugirke, ki se je pri preizkusu izkazala za najtrpežnejšo. Pri mletju vzorcev pa so naše mikrocentrifugirke zaradi velikega trenja keramičnih kroglic začele pokati. Tako smo uničili 9 vzorcev. Tretjina uporabnih vzorcev las pa je bila tako trpežna, da se ni uprašila. Če bi trpežne vzorce še naprej mleli, bi njihove mikrocentrifugirke verjetno počile. Zato smo trpežne vzorce raje na drobno narezali in jih ločeno analizirali. Če bi uporabili trdnješje mikrocentrifugirke, namenjene napravi MagNA Lyser, bi verjetno ohranili in uprašili vse vzorce, naši rezultati korelacije pa bi bili bolj verodostojni.

Koncentracije kortizola v laseh (*Priloga 7*) so bile manjše od naših pričakovanj. Za to obstaja več možnih vzrokov. Prvi vzrok je starost naših udeležencev. Študija, objavljena v reviji Streroids, je proučila koncentracije kortizola v laseh različnih starostnih skupin, pri dojenčkih (7 mesecev do 3 let), adolescentih (12–17 let) in odraslih (18–60 let). Ugotovili so, da se koncentracija kortizola v laseh s starostjo povečuje (Lanfear idr., 2020). Če bi bili naši udeleženci starejši, bi bili naši rezultati koncentracij verjetno višji. Drugi vzrok je izbor pralne tekočine (topila). Za umivanje las smo uporabili heksan, saj tako priporoča poizvajalec ELISA kita. V eni od nedavnih raziskav so kot topilo za merjenje kortizola v laseh uporabili izopropanol, ki je relativno nežno topilo. V nasprotju z metanolom ali vodo ne povzroča otekanja las, kar lahko zmanjša tveganje za uhajanje kortizola iz notranjosti lasnega vlakna pri umivanju (Hodes idr., 2018). Tretji vzrok pa je nepopolno srkanje metanola iz mikrocentrifugirke z lasmi. Iz mikrocentrifugirke je bilo treba posrkati celoten metanol, s čim manj drobcev uprašenih las. Zaradi mehke usedline pa je postopek zelo zahteven. Če bi usedlino več časa pustili stati ali bi jo centrifugirali

z močnejšo mikrocentrifugo, ne bi imeli težav s srkanjem in delo bi bilo natančnejše. Kljub relativno nizkim vrednostim koncentracij pa vemo, da so le-te zanesljive, saj so bile koncentracije naših standardnih vrednosti skladne koncentracijam v navodilih proizvajalca.

Iz rezultatov je razvidno, da so izmerjene koncentracije kortizola v laseh precej variabilne (*Priloga 7*). Del variabilnosti je posledica naravne variabilnosti, del pa lahko pripisemo napakam metod. Napake so se najverjetneje pojavljale pri tehtanju majhnih količin las, nekaj las smo izgubili pri mletju in rezanju, do napak je verjetno prišlo tudi pri pipetiranju majhnih količin vzorcev. Sklepamo, da so omenjene napake močno vplivale na signifikantnost povezave med zaznanim stresom in koncentracijo kortizola v laseh.

Zaradi visoke cene ELISA kita smo v raziskavo vključili samo osemintrideset udeležencev, kortizol pa smo izmerili pri tridesetih. Če bi imeli še več časa in sredstev, bi meritve opravili pri več udeležencih, kar bi doprineslo k večji zanesljivosti rezultatov.

Raziskovalno nalogu bi lahko nadaljevali in razvijali naprej. V prihodnje bi bilo priporočljivo vključiti bolj zanesljivo metodo mletja las, kot je homogenizacija ali mletje s svinčenimi kroglicami (angl. ball mill). Lase bi lahko predhodno zmrznili s tekočim dušikom, kar bi povzročilo boljši razpad lasnih vlaken in večjo ekstrakcijsko površino. Alternativna metoda je tudi rezanje las, vendar je tovrsten postopek zamuden in manj natančen. V primeru višje razpoložljivih sredstev in interesov bi v raziskavo lahko vključili večje število udeležencev in raziskovalcev. Spremenljivke bi merili pri različnih starostnih skupinah in v različnih časovnih obdobjih, rezultate pa bi med seboj primerjali.

5 ZAKLJUČEK

Raziskovalna naloga je preučevala povezave med zaznamim stresom in kortizolom v laseh, depresivnostjo, anksioznostjo, spolom, indeksom telesne mase, hujšimi stresnimi dogodki in odnosom do stresa. Za pridobitev osnovnih podatkov o stopnji stresa sta bili uporabljeni prevedena lestvica zaznanega stresa (PSS) in prevedena lestvica depresije, anksioznosti in stresa (DASS). Ostali podatki so bili pridobljeni z vprašalnikom. Koncentracije kortizola v laseh so bile merjene po principu tekmovalne ELISA tehnologije.

Rezultati so pokazali veliko pozitivno korelacijo med rezultati zaznanega stresa lestvic PSS in DASS, kar potrjuje zanesljivost rezultatov o zaznanem stresu. Rezultati Pearsonove korelacije niso pokazali signifikantne povezave med kortizolom v laseh in zaznamim stresom, kljub temu pa rezultati nakazujejo pozitiven trend. Ugotovili smo, da so udeleženci z visoko stopnjo zaznanega stresa v povprečju dosegli višje rezultate na lestvicah depresije in anksioznosti kot udeleženci s srednjo ali nizko stopnjo zaznanega stresa. Povezanost stresa z depresivnostjo in anksioznostjo so potrdili rezultati korelacije, ki so pokazali veliko pozitivno korelacijo med stresom in depresijo ter anksioznostjo. Raziskava je pokazala tudi majhno negativno korelacijo med stresom in indeksom telesne mase. Med zaznamim stresom in hujšimi stresnimi dogodki nismo zaznali signifikantnih povezav. Rezultati so tudi pokazali, da se moški in ženske razlikujejo po stopnji zaznanega stresa, pri čemer ženske zaznavajo več stresa kot moški. Raziskovalna naloga je pokazala, da so se udeleženci z različnim odnosom do stresa signifikantno razlikovali glede zaznane ravni stresa, pri čemer so imeli udeleženci z negativnim odnosom do stresa višjo raven le-tega.

Namen raziskovalne naloge je bil dosežen. Potrdili smo pet od sedmih hipotez. Pokazali smo, da je ELISA tehnologija perspektivna metoda za merjenje koncentracije kortizola v laseh, saj je neinvazivna, specifična in omogoča dolgoročnejši pregled izločanja kortizola. Zaradi visoke cene in tehnične zahtevnosti pa omenjena metoda potrebuje še veliko izboljšav in nadaljnji raziskav.

6 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Tema naše raziskovalne naloge se navezuje na osnovna načela družbene odgovornosti. Upoštevali smo anonimnost udeležencev, zato smo za primerjavo rezultatov ocenjevalnih lestvic in koncentracij kortizola uporabili kode. Z nevarnimi kemikalijami smo ravnali v skladu z opozorilnimi znaki. Po uporabi smo jih pravilno reciklirali. Pri eksperimentalnem delu naloge smo se držali vseh varnostnih smernic, da smo preprečili potencialne poškodbe. Delo smo opravljali pod sterilnimi pogoji, da bi preprečili kontaminacijo vzorcev.

V raziskovalni nalogi smo izmerili pozitivno povezavo med zaznamim stresom in depresivnostjo, anksioznostjo ter odnosom do stresa. Dokazali smo, da je merjenje kortizola v laseh – kljub zahtevnosti in možnostim za izboljšave – perspektivna metoda za merjenje dolgoročne aktivnosti HPA-osi. Rezultati raziskav, kot je ta, pripomorejo k razvoju kvalitetnih in klinično uporabnih diagnostičnih meritov, ki bodo pripomogle k učinkovitejšemu zdravljenju bolnikov ali k preventivnemu odkrivanju dejavnikov, ki vodijo v bolezenska stanja. Upamo, da smo z našo raziskovalno nalogo prispevali k izboljšanju metode meritve koncentracije kortizola v laseh in k boljšemu razumevanju povezav med zaznamim stresom in depresivnostjo, anksioznostjo ter koncentracijo kortizola v laseh. Z našo raziskovalno nalogo želimo vzpodbuditi nadaljnje raziskave na tem področju.

7 PRILOGE

PRILOGA 1 – VPRAŠALNIK S PREVEDENIMA OCENJEVALNIMA LESTVICAMA (PSS IN DASS)



Zaznavanje stresa pri dijakih

Odgovarjajte glede na počutje v preteklih 3 mesecih!
Najbolje je odgovoriti precej hitro. To pomeni, da ne poskušajte prešteti, kolikokrat ste se počutili na določen način.
Če vam zmanjka časa/motivacije za reševanje, ne odgovarjajte naključno, raje me opozorite.
Hvala!

Naslednja stran

* Spol

- Ženski
 Moški

* Ali ste kadilec?

- DA
 NE

* Kako se počutite, ko ste pod stresom?

- čutim, da name ne vpliva/mu ne posvečam pozornosti
 mislim, da mi koristi /rad imam občutek stresa
 počutim se slabo/izčrpano

* Prepišite kodo iz listka:

* Višina v cm:

* Ponovno prepišite kodo iz listka:

* Ali imate kakšno kronično bolezen?

- DA
 NE

* Teža v kg:

Katero (ni obvezno)

* Ali redno jemljete zdravila

- DA
 NE

Katera?(ni obvezno)

* Ali ste v preteklih 3 mesecih doživelji zelo stresen dogodek (npr. smrt bližnjega, ločitev, družinske težave, selite, ipd.)?

- Da
 Ne

Kakšen dogodek?

*

	0-Nikoli	1-skoraj nikoli	2-včasih	3- razmeroma pogosto	4-pogosto
1. Kako pogosto ste v zadnjih 3 mesecih imeli občutek, da ne morete nadzorovati pomembnih stvari v svojem življenju?	<input type="radio"/>				
2. Kako pogosto ste se v zadnjih 3 mesecih počutili nervozne in pod stresom?	<input type="radio"/>				
3. Kako pogosto ste se v zadnjih 3 mesecih počutili samozavestno glede svoje sposobnosti obvladovanja osebnih težav?	<input type="radio"/>				
4. Kako pogosto ste v zadnjih 3 mesecih imeli občutek, da se stvari odvijajo po vaši poti?	<input type="radio"/>				
5. Kako pogosto ste v zadnjih 3 mesecih ugotovili, da se ne morete spopasti z vsemi stvarmi, ki bi jih morali opraviti?	<input type="radio"/>				
6. Kako pogosto se vam je v zadnjih 3 mesecih zgodilo, da ste lahko obvladovali nadležnosti/ovire v svojem življenju?	<input type="radio"/>				
7. Kako pogosto ste v zadnjih 3 mesecih imeli občutek, da imate stvari pod kontrolo?	<input type="radio"/>				
8. Kako pogosto ste bili v zadnjih 3 mesecih jezni zaradi stvari, ki so se zgodile in na katere niste imeli vpliva?	<input type="radio"/>				
9. Kako pogosto ste v zadnjih 3 mesecih imeli občutek, da se težave kopičijo tako hitro, da jih ne morete premagati?	<input type="radio"/>				
10. Kako pogosto ste bili v zadnjih 3 mesecih razburjeni zaradi nečesa, kar se je zgodilo nepričakovano?	<input type="radio"/>				

*** ODGOVORI ZA PRETEKLE 3 MESECE**

	0- sploh NI veljalo zame	1- VČASIH je veljalo zame	2- POGOSTO je veljalo zame	3- VEDNO je veljalo zame
1. Težko sem se umiril	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
2. Zavedal sem se suhosti v ustih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3. Zdi se mi, da sploh nisem mogel/a občutiti pozitivnih občutkov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4. Občutil(a) sem težave z dihanjem (npr. pretirano hitro dihanje, zadihanost brez fizičnega napora)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5. Težko sem zbral/a zagon za delo	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
6. Na situacije sem se pretirano odzival/a	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
7. Doživljjal/a sem tresenje (npr. rok)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
8. Čutil(a) sem, da porabljam veliko živčne energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
9. Skrbelo me je zaradi situacij, v katerih bi lahko zapadel/a v paniko in se osmešil/a	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
10. Čutil(a) sem, da se nimam česa veseliti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
11. Opazil(a) sem, da se razburjam	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
12. Težko sem se sprostil/a	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
13. Počutil/a sem se obupano in žalostno	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
14. Bil/a sem nestrpen/a do vsega, kar me je oviralo pri opravljanju mojega dela	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
15. Čutil/a sem, da sem blizu panike	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
16. Nisem se mogel/a navdušiti nad ničemer	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
17. Čutil/a sem, da kot oseba nisem vreden veliko	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
18. Čutil/a sem, da sem bil/a precej občutljiv/a	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
19. Zavedal/a sem se delovanja svojega srca brez telesnega napora (npr. razzava povišanega srčnega utripa, neenakомерen utrip)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
20. Bilo me je strah brez pravega razloga	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
21. Zdela se mi je, da je življenje brez smisla	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

PRILOGA 2 – PSS IZVIRNIK (Perceived Stress Scale, b. d.).

Perceived Stress Scale

For each question choose from the following alternatives: 0 – never, 1 - almost never, 2 – sometimes, 3 - fairly often, 4 - very often

_____ 1. In the last month, how often have you been upset because of something that happened unexpectedly?

_____ 2. In the last month, how often have you felt that you were unable to control the important things in your life?

_____ 3. In the last month, how often have you felt nervous and stressed?

_____ 4. In the last month, how often have you felt confident about your ability to handle your personal problems?

_____ 5. In the last month, how often have you felt that things were going your way?

_____ 6. In the last month, how often have you found that you could not cope with all the things that you had to do?

_____ 7. In the last month, how often have you been able to control irritations in your life?

_____ 8. In the last month, how often have you felt that you were on top of things?

_____ 9. In the last month, how often have you been angered because of things that happened that were outside of your control?

_____ 10. In the last month, how often have you felt difficulties were piling up so high that you could not overcome them?

Figuring Your PSS Score

You can determine your PSS score by following these directions:

- First, reverse your scores for questions 4, 5, 7, and 8. On these 4 questions, change the scores like this:

$$0 = 4, 1 = 3, 2 = 2, 3 = 1, 4 = 0.$$

- Now add up your scores for each item to get a total. **My total score is _____.**
- Individual scores on the PSS can range from 0 to 40 with higher scores indicating higher perceived stress.
 - ▶ Scores ranging from 0-13 would be considered low stress.
 - ▶ Scores ranging from 14-26 would be considered moderate stress.
 - ▶ Scores ranging from 27-40 would be considered high perceived stress.

DASS21

Name:

Date:

Please read each statement and circle a number 0, 1, 2 or 3 which indicates how much the statement applied to you *over the past week*. There are no right or wrong answers. Do not spend too much time on any statement.

The rating scale is as follows:

- 0 Did not apply to me at all
- 1 Applied to me to some degree, or some of the time
- 2 Applied to me to a considerable degree, or a good part of time
- 3 Applied to me very much, or most of the time

1	I found it hard to wind down	0	1	2	3
2	I was aware of dryness of my mouth	0	1	2	3
3	I couldn't seem to experience any positive feeling at all	0	1	2	3
4	I experienced breathing difficulty (eg, excessively rapid breathing, breathlessness in the absence of physical exertion)	0	1	2	3
5	I found it difficult to work up the initiative to do things	0	1	2	3
6	I tended to over-react to situations	0	1	2	3
7	I experienced trembling (eg, in the hands)	0	1	2	3
8	I felt that I was using a lot of nervous energy	0	1	2	3
9	I was worried about situations in which I might panic and make a fool of myself	0	1	2	3
10	I felt that I had nothing to look forward to	0	1	2	3
11	I found myself getting agitated	0	1	2	3
12	I found it difficult to relax	0	1	2	3
13	I felt down-hearted and blue	0	1	2	3
14	I was intolerant of anything that kept me from getting on with what I was doing	0	1	2	3
15	I felt I was close to panic	0	1	2	3
16	I was unable to become enthusiastic about anything	0	1	2	3
17	I felt I wasn't worth much as a person	0	1	2	3
18	I felt that I was rather touchy	0	1	2	3
19	I was aware of the action of my heart in the absence of physical exertion (eg, sense of heart rate increase, heart missing a beat)	0	1	2	3
20	I felt scared without any good reason	0	1	2	3
21	I felt that life was meaningless	0	1	2	3

PRILOGA 4 – NAVODILA ZA OBDELAVO VZORCEV LAS (Cortisol ELISA Kit, b.d.).

Hair

1. Place 35 mg of hair into a clean Precellys® tissue homogenizer tube or any similar tissue homogenizer, add 1.5 ml of hexane, and incubate at room temperature for 2 minutes. Remove hexane from the tube and dry the hair under a gentle stream of nitrogen.
2. Cap the Precellys® tube and flash freeze the hair sample using liquid nitrogen. Grind the hair sample using a Precellys® homogenizer at 6,800 rpm, 5x20s cycles, pausing for 30 seconds between the cycles.
3. Add 1.8 ml of methanol, vortex, and rock overnight on a shaker at room temperature.
4. Collect methanol into a clean test tube.
5. Evaporate methanol under a gentle stream of nitrogen at 37°C.
6. Reconstitute in 400 µl of ELISA Buffer (1X) and analyze in the assay.

General Precautions

- All samples must be free of organic solvents prior to assay.
- Samples should be assayed immediately after collection; samples that cannot be assayed immediately should be stored at -20 or -80°C.
- Samples of mouse origin may contain antibodies that interfere with the assay by binding to the goat anti-mouse plate. We recommend that all mouse samples be purified prior to use in this assay.
- AEBSF (Pefabloc SC®) and PMSF inhibit AChE. Samples containing these protease inhibitors should not be used in this assay.

PRILOGA 5 – SUROVI PODATKI ABSORBANC

 Absorbance 1

Wavelength: 405 nm

Plate 1

Abs

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank1 0,1617	S1 0,2274	S1 0,2259	1 0,2933	1 0,2893	9 0,3775	9 0,3735	17 0,4107	17 0,3884	25 0,4412	25 0,4596	7.1 0,3828
B	Blank1 0,1578	S2 0,3056	S2 0,3222	2 0,6598	2 0,6686	10 0,4589	10 0,4677	18 0,6393	18 0,5645	26 0,5135	26 0,4745	17.1 0,4004
C	NSB0001 0,1629	S3 0,4671	S3 0,4874	3 0,2950	3 0,2827	11 0,7216	11 0,7196	19 0,5762	19 0,5613	27 0,5085	27 0,5023	20.1 0,6539
D	NSB0001 0,1640	S4 0,7053	S4 0,7006	4 0,4863	4 0,4957	12 0,4746	12 0,4657	20 0,6584	20 0,6528	28 0,7927	28 0,7773	16.1 0,5522
E	B0-max binding000 1,2022	S5 0,9102	S5 0,9354	5 0,4373	5 0,4271	13 0,2949	13 0,3048	21 0,5088	21 0,4711	29 0,3083	29 0,3108	19.1 0,4824
F	B0-max binding000 1,2147	S6 1,0626	S6 1,0294	6 0,3729	6 0,3908	14 0,4578	14 0,4750	22 0,4930	22 0,4692	30 0,3016	30 0,3027	8.1 0,5138
G	B0-max binding000 1,2851	S7 1,2216	S7 1,1739	7 0,4535	7 0,4449	15 0,4510	15 0,4617	23 0,3913	23 0,3812	31 0,4428	31 0,4146	2.1 0,5710
H	TA0001 1,8734	S8 1,1865	S8 1,2234	8 0,5726	8 0,4237	16 0,6184	16 0,5965	24 0,5688	24 0,5047	22.1 0,4513	27.1 0,4651	4.1 0,0478

PRILOGA 6 – NAVODILA ZA RAČUNANJE KONCENTRACIJE KORTIZOLA IZ ABSORBANC (Cortisol ELISA Kit, b.d.).

Calculations

Preparation of the Data

The following procedure is recommended for preparation of the data prior to graphical analysis.

NOTE: If the plate reader has not subtracted the absorbance readings of the Blk wells from the absorbance readings of the rest of the plate, be sure to do that now.

1. Average the absorbance readings from the NSB wells.
2. Average the absorbance readings from the B_0 wells.
3. Subtract the NSB average from the B_0 average. This is the corrected B_0 or corrected maximum binding.
4. Calculate the B/B_0 (Sample or Standard Bound/Maximum Bound) for the remaining wells. To do this, subtract the average NSB absorbance from the S1 absorbance and divide by the corrected B_0 (from Step 3). Repeat for S2-S8 and all sample wells. (To obtain % B/B_0 for a logistic four-parameter fit, multiply these values by 100.)

NOTE: The TA values are not used in the standard curve calculations. Rather, they are used as a diagnostic tool. Low or no absorbance from a TA well could indicate a dysfunction in the enzyme-substrate system.

PRILOGA 7 – REZULTATI KONCENTRACIJ KORTIZOLA V LASEH

KONC. CORT V LASEH (pg/mg)	KODA
29,06	5A
11,02	10A
43,38	5C
10,65	8A
21,30	8C
15,86	1B
13,09	4B
14,04	10D
18,81	2B
18,40	K
6,54	3D
17,35	10C
32,14	6A
15,20	9C
11,40	7C
6,13	9D
20,63	6D
6,55	7D
8,20	2A
5,39	8B
10,55	1C
10,38	3B
15,96	1D
8,29	4C

14,07	5D
12,63	9A
9,03	2C
3,07	8D
30,83	6C
27,88	2D
13,49	1A

PRILOGA 8 – SUROVI PODATKI VPRAŠALNIKA/LESTVIC

Prepišite kodo iz listka:	PSS REZULTAT , 10-23=majhen stres, 24-36=srednji stres, 37-50=velik stres	REZULTAT DEPRESIVNOST, 14-16=normalna, 17-20=majhna, 21-27=srednja, 28-34=resna, 34+=zelo resna	REZULTAT ANKSIOZNOST, 14-21=normalna, 22-23=majhna, 24-26=srednja, 27-31=resna, 32+=zelo resna	REZULTAT STRES, 14-28=normale n, 29-32=majhen, 33-39=srednje velik, 40-47=velik, 48+=zelo velik	Kako se počutite, ko ste pod stresom? 3- slab odnos, 2-dober odnos, 1-nevtralen odnos	ITM, <18,5=premajh na telesna teža; 18,5-24,9=normalno ; 25-29,9=prekomer na telesna teža; 30-34,9=debelost; 35>ekstremna debelost
1A	41	26	50	56	3	19,91836735
9D	24	30	24	32	3	21,38099285
3B	33	30	28	34	2	21,63114885
2B	33	36	30	44	3	21,36558327
4B	27	22	24	28	3	18,93877551
2D	38	50	52	56	3	20,2020202
1D	30	36	34	44	3	20,52892163
1C	37	32	30	42	3	21,56454491
4D	33	24	34	34	3	24,44727891
5A	34	30	38	34	3	22,05219018
1B	32	34	38	44	3	27,88518739
10B	15	16	18	20	2	22,39541342
2A	42	42	46	56	3	18,93877551
5C	38	26	44	46	3	21,04804761
9B	27	28	24	36	3	21,83589485
9a	30	22	24	34	1	21,78587596
2C	39	36	44	52	3	22,77318641
6A	42	36	40	46	3	21,2244898
9C	26	24	18	24	1	18,44254582

7C	15	16	14	20	1	24,48979592
5D	25	42	26	30	1	22,98539751
8B	41	40	44	48	3	19,46740129
4C	36	24	28	40	3	19,03114187
3A	28	20	18	26	3	23,37472608
6C	26	28	22	34	3	22,48132907
7D	40	52	52	54	3	20,00656932
7A	24	28	16	24	2	21,13271344
3D	44	38	40	44	3	19,05197378
8A	37	46	40	40	3	18,06780742
5B	34	28	40	42	3	20,81032484
7B	38	32	42	44	3	18,33910035
10D	33	22	24	32	3	16,9550173
10C	29	36	24	38	2	18,31445927
10A	36	36	48	48	3	19,95728441
8C	30	20	18	28	3	18,7260073
8D	35	24	30	40	2	26,29656684
K	37	40	44	44	3	20,70081674
3C	20	16	24	28	2	23,19831507

PRILOGA 9 – REZULTAT ANOVA TESTA ZA PRIMERJAVO ODNOSA DO STRESA IN REZULTATA STRESA PRI LESTVICI PSS

Descriptive statistics of your k=3 independent treatments:

Treatment →	A	B	C	Pooled Total
observations N	4	6	28	38
sum $\sum x_i$	96.0000	156.0000	977.0000	1,229.0000
mean \bar{x}	24.0000	26.0000	34.8929	32.3421
sum of squares $\sum x_i^2$	2,426.0000	4,356.0000	34,875.0000	41,657.0000
sample variance s^2	40.6667	60.0000	29.0622	51.5825
sample std. dev. s	6.3770	7.7460	5.3909	7.1821
std. dev. of mean $SE_{\bar{x}}$	3.1885	3.1623	1.0188	1.1651

One-way ANOVA of your k=3 independent treatments:

source	sum of squares SS	degrees of freedom ν	mean square MS	F statistic	p-value
treatment	701.8741	2	350.9370	10.1790	0.0003
error	1,206.6786	35	34.4765		
total	1,908.5526	37			

PRILOGA 10 – TUKEY TEST ZA UGOTAVLJANJE RAZLIK MED SKUPINAMI (PSS)

treatments pair	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD inference
A vs B	0.7463	0.8466160	insignificant
A vs C	4.9083	0.0038953	** p<0.01
B vs C	4.7611	0.0051515	** p<0.01

- A- Posamezniki, ki stresu ne posvečajo pozornosti (nevtralen odnos),
- B- posamezniki, ki imajo radi stres oz. mislijo da jim koristi (ga jemljejo kot izliv) (pozitiven odnos),
- C- posamezniki, ki se zaradi stresa počutijo slabo, jih izčrpava (negativen odnos).

PRILOGA 11 – REZULTAT ANOVA TESTA ZA PRIMERJAVO ODNOSA DO STRESA IN REZULTATA STRESA PRI LESTVICI DASS

Descriptive statistics of your k=3 independent treatments:

Treatment →	A	B	C	Pooled Total
observations N	4	6	28	38
sum $\sum x_i$	108.0000	184.0000	1,174.0000	1,466.0000
mean \bar{x}	27.0000	30.6667	41.9286	38.5789
sum of squares $\sum x_i^2$	3,032.0000	5,960.0000	51,268.0000	60,260.0000
sample variance s^2	38.6667	63.4667	75.6984	100.0882
sample std. dev. s	6.2183	7.9666	8.7005	10.0044
std. dev. of mean $SE_{\bar{x}}$	3.1091	3.2523	1.6442	1.6229

One-way ANOVA of your k=3 independent treatments:

source	sum of squares SS	degrees of freedom ν	mean square MS	F statistic	p-value
treatment	1,226.0727	2	613.0363	8.6615	0.0009
error	2,477.1905	35	70.7769		
total	3,703.2632	37			

Tukey HSD results

treatments pair	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD inferfence
A vs B	0.9549	0.7625642	insignificant
A vs C	4.6948	0.0058398	** p<0.01
B vs C	4.2082	0.0142187	* p<0.05

- A- Posamezniki, ki stresu ne posvečajo pozornosti (nevtralen odnos),
- B- posamezniki, ki imajo radi stres oz. mislijo da jim koristi (ga jemljejo kot izliv) (pozitiven odnos),
- C- posamezniki, ki se zaradi stresa počutijo slabo, jih izčrpava (negativen odnos).

8 VIRI IN LITERATURA

American Psychological Association. (2017). Stress in America: Coping with Change. <https://www.apa.org/news/press/releases/stress/2016/coping-with-change.pdf>

American Psychological Association. (2017). Stress and Its Effects on Your Health. <https://www.apa.org/helpcenter/stress-effects-health>

American Psychological Association. (2020). Stress and anxiety. <https://www.apa.org/topics/stress/anxiety-difference>

Anksioznost. (2022). Fran.si. <https://fran.si/iskanje?View=1&Query=anksioznost>

Backović, D. V., Zivojinović, J. I., Maksimović, J. in Maksimović, M. (2012). Gender differences in academic stress and burnout among medical students in final years of education. *Psychiatria Danubina*, 24(2), 175–181.

Bonanno G. A. (2004). Loss, trauma, and human resilience: have we underestimated the human capacity to thrive after extremely aversive events?. *The American psychologist*, 59(1), 20–28. <https://doi.org/10.1037/0003-066X.59.1.20>

Boscarino, J. A. (2006). A prospective study of PTSD and early-age heart disease mortality among Vietnam veterans: Implications for surveillance and prevention. *Psychosomatic Medicine*, 68, 909–916.

Bracha, H. S. (2004). Freeze, flight, fight, Fright, faint: Adaptationist perspectives on the Acute Stress Response Spectrum. *CNS Spectrums*, 9(9), 679–685. <https://doi.org/10.1017/s1092852900001954>

Brosschot, J.F., Verkuil, B. in Gerin, W. (2006) Persistent stress in humans and the role of the sympathetic nervous system, *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 15(5), pp.539–547.

Bryant, P.A., Jackson, N., O'Malley, S., Patten, C.A., Demidenko, E. in Williams, D.L. (2018). Association of stress with sleep quality in adults: A systematic review and meta-analysis. *Sleep*, 41(10), 1–10.

Burgess, L. (2017). What to know about general adaptation syndrome. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/320172>

Chen, J., Xu, Y. in Tan, Y. (2021). Perceived stress and depression among college students in China: The mediating role of rumination. *Journal of Affective Disorders*, 276, 123–128.

Chen, Y., Petzold, M., Rüetschi, U., Dahlstrand, J., Löfstedt, P., Corell, M. in Friberg, P. (2022). Hair glucocorticoid concentration, self-perceived stress and their associations with cardiometabolic risk markers in Swedish adolescents. *Psychoneuroendocrinology*, 146, 105908. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2022.105908>

Chida, Y. in Hamer, M. (2009). Chronic psychosocial factors and acute cardiovascular responses to laboratory-induced stress in healthy populations. *European Journal of Preventive Cardiology*, 16(1), 53–61.

Cohen, S. in Wills, T. A. (1985). Stress, social support, and the buffering hypothesis. *Psychological bulletin*, 98(2), 310–357.

Cortisol: What It Is, Function, Symptoms & Levels. (2021). Cleveland Clinic. <https://my.clevelandclinic.org/health/articles/22187-cortisol>

Cortisol ELISA Kit (2022). Cayman <https://www.caymanchem.com/product/500360/cortisol-elisa-kit>

Daviu, N., Bruchas, M. R., Moghaddam, B., Sandi, C. in Beyeler, A. (2019). Neurobiological links between stress and anxiety. *Neurobiology of Stress*, 11, 100191. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100191>

Deatherage, S., Servaty-Seib, H. L. in Aksoz, I. (2014). Stress, coping, and internet use of college students. *Journal of American college health : J of ACH*, 62(1), 40–46. <https://doi.org/10.1080/07448481.2013.843536>

Encyclopædia Britannica, Inc. (2022). *Biosinteza kortizola [Graf]*. Britannica.Com. <https://www.britannica.com/science/cortisol>

Epel, E. S., McEwen, B., Seeman, T., Matthews, K., Castellazzo, G., Brownell, K. D., Bell, J. in Ickovics, J. R. (2000). Stress and body shape: stress-induced cortisol secretion is consistently greater among women with central fat. *Psychosomatic medicine*, 62(5), 623–632. <https://doi.org/10.1097/00006842-200009000-00005>

Field, T., Hernandez-Reif, M., Diego, M., Schanberg, S. in Kuhn, C. (2003). Cortisol decreases and serotonin and dopamine increase following massage therapy. *International Journal of Neuroscience*, 113(1), 15–22. <https://doi.org/10.1080/00207450310000967>

Feizi, A., Aliyari, R. in Roohafza, H. (2012). Association of Perceived Stress with Stressful Life Events, Lifestyle and Sociodemographic Factors: A Large-Scale Community-Based Study Using Logistic Quantile Regression. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2012, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2012/151865>

Gonzalez, D., Jacobsen, D., Ibar, C., Pavan, C., Monti, J., Fernandez Machulsky, N., Balbi, A., Fritzler, A., Jamardo, J., Repetto, E. M., Berg, G. in Fabre, B. (2019). Hair Cortisol Measurement by an Automated Method. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44693-3>

Goyal, T., Shah, P. in Mishra, A. (2016). Perceived stress among women: A literature review. *Journal of Women's Health, Issues & Care*, 5(3), 1–7. <https://doi.org/10.4172/2325-9795.1000319>

Graves, B. S., Hall, M. E., Dias-Karch, C., Haischer, M. H. in Apter, C. (2021). Gender differences in perceived stress and coping among college students. *PLoS one*, 16(8), e0255634. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255634>

Greff, M. J., Levine, J. M., Abuzgaia, A. M., Elzagallaai, A. A., Rieder, M. J. in van Uum, S. H. (2019). Hair cortisol analysis: An update on methodological considerations and clinical applications. *Clinical Biochemistry*, 63, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.09.010>

Hall, N. C., Chipperfield, J. G., Perry, R. P., Ruthig, J. C. in Goetz, T. (2006). Primary and secondary control in academic development: gender-specific implications for stress and health in college students. *Anxiety, Stress & Coping*, 19(2), 189–210. <https://doi.org/10.1080/10615800600581168>

Han, K. S., Kim, L. in Shim, I. (2012). Stress and sleep disorder. *Experimental neurobiology*, 21(4), 141–150. <https://doi.org/10.5607/en.2012.21.4.141>

Hasler, G., Drevets, W. C., Manji, H. K. in Charney, D. S. (2004). Discovering endophenotypes for major depression. *Neuropsychopharmacology*, 29(11), 1765–1781.

Hodes, A., Meyer, J., Lodish, M. B., Stratakis, C. A. in Zilberman, M. (2018). Mini-review of hair cortisol concentration for evaluation of Cushing syndrome. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 13(5), 225–231. <https://doi.org/10.1080/17446651.2018.1517043>

Horney, K., Sullivan, S. H. in Klein, M. (2022). Anxiety. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/anxiety>

ITM kalkulator, izračunaj svoj indeks! (2021). SITIS - Prehranska Dopolnila. <https://sitis.si/itm-kalkulator-izracunaj-svoj-indeks-telesne-mase/>

Kapoor, A., Schultz-Darken, N. in Ziegler, T. E. (2018). Radiolabel validation of cortisol in the hair of rhesus monkeys. *Psychoneuroendocrinology*, 97, 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.07.022>

Katsu, Y. in Baker, M. E. (2021). Cortisol. In *Handbook of Hormones* (str. 947–948). Amsterdam University Press.

Kemeny, M. E. (2003). The Psychobiology of Stress. *Current Directions in Psychological Science*, 12(4), 124–129. <https://doi.org/10.1111/1467-8721.01246>

Kendler, K. S., Karkowski, L. M. in Prescott, C. A. (1999). Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *American Journal of Psychiatry*, 156(6), 837–841.

Klassen, R. M., Krawchuk, L. L. in Rajaratnam, N. (2008). The effect of homework, organizational strategies, and time-management practices on the academic achievement of middle school students. *Journal of educational psychology*, 100(4), 940.

Kranjec, E., Košir, K. in Komidar, L. (2016). Dejavniki akademskega odlašanja: vloga perfekcionizma, anksioznosti in depresivnosti. *Psihološka obzorja*, 25, 51–62.

Kubitz, K. A. in Landers, D. M. (2016). The effects of exercise on mental health. *Current opinion in psychiatry*, 29(1), 54–60.

Lanfear, J. H., Voegel, C. D., Binz, T. M. in Paul, R. A. (2020). Hair cortisol measurement in older adults: Influence of demographic and physiological factors and correlation with perceived stress. *Steroids*, 163, 108712. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2020.108712>

LeBeau, M. A., Montgomery, M. A. in Brewer, J. D. (2011). The role of variations in growth rate and sample collection on interpreting results of segmental analyses of hair. *Forensic science international*, 210(1-3), 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.02.015>

Liu, R. T. in Alloy, L. B. (2010). Stress generation in depression: A systematic review of the empirical literature and recommendations for future study. *Clinical psychology review*, 30(5), 582–593. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2010.04.010>

Liu, J., Hu, Y., Li, Y., Li, X. in Zhang, L. (2020). The relationship between perceived stress and depression: The mediating role of well-being. *Personality and Individual Differences*, 158, 110136.

Lovibond, S.H. in Lovibond, P.F. (1995). Manual for the Depression Anxiety & Stress Scales. (2nd Ed.) Sydney: Psychology Foundation.

McEwen, B. S. in Magarinos, A. M. (2001). Stress and hippocampal plasticity. *Annual Review of Neuroscience*, 24(1), 1–1.

McEwen, B. S. in Morrison, J. H. (2013). The brain on stress: vulnerability and plasticity of the prefrontal cortex over the life course. *Neuron*, 79(1), 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.028>

Mendrick, D. L. (2016). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In Encyclopedia of Analytical Chemistry (str. 1-28). John Wiley & Sons, Ltd.

Monroe, S. M. in Harkness, K. L. (2005). Life stress, the “kindling” hypothesis, and the recurrence of depression: Considerations from a life stress perspective. *Psychological Review*, 112(2), 417–445.

Multiskan™ FC Microplate Photometer (2022). <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/51119000>

Murrant, C. L., Gagné, M. in Koerner, N. (2018). Yoga and mindfulness-based interventions for children and adolescents: a systematic review of reviews. *Journal of child and adolescent psychopharmacology*, 28(6), 399–410.

Neria, Y., Nandi, A. in Galea, S. (2008). Post-traumatic stress disorder following disasters: a systematic review. *Psychological medicine*, 38(4), 467–480. <https://doi.org/10.1017/S0033291707001353>

Normalno nihanje CORT pri zdravemu človeku. (2019). [Graf]. Nature.Com. <https://www.nature.com/articles/s41574-019-0228-0>

O'Brien, K. M., Wolanin, A. in Murphy, J. G. (2009). Gender and stress in college students. *Journal of Adolescent Health*, 44(5), 470–478. <https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2008.07.016>

Padgett, D. A. in Glaser, R. (2003). How stress influences the immune response. *Trends in Immunology*, 24(8), 444–448. [https://doi.org/10.1016/s1471-4906\(03\)00173-x](https://doi.org/10.1016/s1471-4906(03)00173-x)

Perceived Stress Scale (By State of New Hampshire Employee Assistance Program). das.nh.gov. <https://www.das.nh.gov/wellness/docs/percieved%20stress%20scale.pdf>

Penley, J. A., Tomaka, J. in Wiebe, J. S. (2002). The Association of Coping to Physical and Psychological Health Outcomes: A Meta-Analytic Review. *Journal of Behavioral Medicine*, 25(6), 551–603. <https://doi.org/10.1023/a:1020641400589>

Persistent stress in humans and the role of the sympathetic nervous system, *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 15(5), pp.539–547.

Petzold, M., Rüetschi, U., Dahlstrand, J., Löfstedt, P., Corell, M. in Friberg, P. (2022). Hair glucocorticoid concentration, self-perceived stress and their associations with cardiometabolic risk markers in Swedish adolescents. *Psychoneuroendocrinology*, 146, 105908. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2022.105908>

Pharmaceutical Networking. (2021). ZELLX® HPA Axis testing. https://www.pharmaceutical-networking.com/zellx-hpa-axis-testing/?utm_source=dlvr.it&utm_medium=twitter

Rahardjo, W., Juneman, J. in Setiani, Y. (2013). Computer Anxiety, Academic Stress, and Academic Procrastination on College Students. *Journal of Education and Learning (EduLearn)*, 7(3), 147–152. <https://doi.org/10.11591/edulearn.v7i3.179>

Roemer, L., Litz, B. T. in Orsillo, S. M. (2002). Emotion regulation in the treatment of anxiety disorders. New York: Guilford Press

Safety Data Sheet: Cortisol ELISA Kit Item No. 500360. (2021). Cayman Chemical. <https://cdn.caymanchem.com/cdn/msds/500360m.pdf>

SAFETY DATA SHEET: Hexane. (2022). Sigma-Aldrich Chemie GmbH. <https://www.sigmaaldrich.com/SI/en/sds/sial/296090>

Segerstrom, S. C. in Miller, G. E. (2004). Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychological bulletin*, 130(4), 601–630. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.130.4.601>

Schmaus, B. J., Laubmeier, K. K., Boquiren, V. M., Herzer, M. in Zakowski, S. G. (2008). Gender and stress: differential psychophysiological reactivity to stress reexposure in the laboratory. *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology*, 69(2), 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2008.03.006>

Selye, H. (1956). What is stress. *Metabolism*, 5(5), 525–530.

Seery, M. D., Holman, E. A. in Silver, R. C. (2010). Whatever does not kill us: cumulative lifetime adversity, vulnerability, and resilience. *Journal of personality and social psychology*, 99(6), 1025–1041. <https://doi.org/10.1037/a0021344>

Stalder, T. in Kirschbaum, C. (2012). Analysis of cortisol in hair – State of the art and future directions. *Brain, Behavior, and Immunity*, 26(7), 1019–1029. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.02.002>

Stalder, T., Steudte-Schmiedgen, S., Alexander, N., Klucken, T., Vater, A., Wichmann, S., Kirschbaum, C. in Miller, R. (2017). Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 77, 261–274. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.12.017>

Starc, R., Sima, Đ., Kaučič, B. M. in Kvas, A. (2009). Stres in njegove posledice za srčno-žilni sistem. V *Preprečimo, da nas strese stres na delovnem mestu* (str. 11–15). Društvo medicinskih sester, babic in zdravstvenih tehnikov.

Stražišar, M., Dogša, I., Vec, T., Curk, J., Hočevar, B., Škrabar, M., Onič, S., Levpušček, M. P. in Vesel, J. (2009). *Uvod v psihologijo: Učbenik za psihologijo v 2. letniku gimnaziskoga in srednjega tehniškega oz. strokovnega izobraževanja*. Dzs-Lj Ljubljana.

Todorovic, M., PhD. (2021). *Stress Physiology / Cortisol* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=T5SclqPnqf8>

The Editors of Encyclopaedia Britannica. (2022). *cortisol / Definition & Function*. Encyclopedia Britannica. 16. 10. 2022, <https://www.britannica.com/science/cortisol>

Varnostni list, Metanol ≥99 %, za sintezo. (2022). Carl Roth GmbH + Co KG. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-8388-SI-SL.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzNjM3MTB8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oNjAvaDkxLzkwNjUwNzA5ODUyNDYucGRmfDgyYzhkNGQ3MjU3YTczZmUzZjhYjEyOGY3ZmM5YjA5NGYxOWYzOTZmZjRmMzlmODNhMGE2NzM4Y2E2N2Q5ZjE>

Wang, J., Lesage, A., Schmitz, N. in Drapeau, A. (2008). The relationship between work stress and mental disorders in men and women: findings from a population-based study. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 62(1), 42–47. <https://doi.org/10.1136/jech.2006.050591>

Wei, L. in Sha, T. (2003). The relationship between perceived stress and depression and anxiety in college students: The effect of social support. *Chinese Journal of Clinical Psychology*, 11(2), 108–110.

Wennig, R. (2000, January). Potential problems with the interpretation of hair analysis results. *Forensic Science International*, 107(1–3), 5–12. [https://doi.org/10.1016/s0379-0738\(99\)00146-2](https://doi.org/10.1016/s0379-0738(99)00146-2)

What's the difference between anxiety and stress? | Here to Help. <https://www.hertohelp.bc.ca/q-and-a/whats-the-difference-between-anxiety-and-stress>

Xu, Y., Liu, Y., Chen, Z., Zhang, J., Deng, H. in Gu, J. (2019). Interaction Effects of Life Events and Hair Cortisol on Perceived Stress, Anxiety, and Depressive Symptoms Among Chinese Adolescents: Testing the Differential Susceptibility and Diathesis-Stress Models. *Frontiers in Psychology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00297>

Zhang, H. (2016). *Potential sex difference in the effects of mild acute stress on executive functions* (T). University of British Columbia. <https://open.library.ubc.ca/collections/ubctheses/24/items/1.0319267>