

SLUTRAPPORT FOR PROJEKTET

Er spytkortisol en valid biomarkør for opfattelse af stress?

**Undersøgelsen er finansieret af en bevilling fra Arbejdsmiljøforskningsfondet,
Projektnr. 20-2012-09 sagsnr. 20120220925**

Arbejds- og Miljømedicinsk Afdeling
Bispebjerg og Frederiksberg Hospital
August 2015

Indholdsfortegnelse

Forord	3
Indledning	4
Formål og hypotese	4
Opbygning	4
Baggrund	5
Stress	5
Historie	5
En generel model?	6
Hvordan måles stress?	7
Opsamling	8
Kortisol	8
Indledning	8
Biologisk funktion	9
Kortisolmålinger	10
Kendte kortisoldeterminanter	11
Sygdomme forårsaget af kortisol	11
Tidligere studier på området	12
Andre mulige sammenhænge	17
Metode:	18
Population:	18
Mål for selvopfattet stress	19
Mål for spytkortisol	20
Data analyse	20
Resultater	21
Deskriptiv	21
Non-parametrisk association mellem PSS og kortisol	22
Regressionskoefficienter for sammenhængen mellem PSS og kortisol	26
Diskussion	27
Konklusion	30
Referencer	31
Bilag	34

Forord

Projektet er gennemført ved Arbejds- og Miljømedicinsk Afdeling i perioden fra 1.2.2013 til og med 30.6.2015, og er finansieret af Arbejds miljøforskningsfonden med i alt DKK 126.000. Den drivende kraft i projektet har været medicinstuderende Samuel Fink, som gennem 1 år har sat medicinstudiet på pause for at gennemføre denne undersøgelse som et såkaldt forskningsårsprojekt under indskrivning ved Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet ved Københavns Universitet. Samuel Fink har været vejledt af en gruppe af seniore forskere ved Arbejds- og Miljømedicinsk Afdeling – nemlig overlæge dr.med. Sigurd Mikkelsen, overlæge, PhD Jane Frølund Thomsen, PhD-studerende Marianne Vammen samt professor overlæge, dr.med. Jens Peter Bonde (projektansvarlig).

Projektet har resulteret i en forskningsårsopgave indleveret til og godkendt af Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet ved Københavns Universitet, og i forbindelse hermed har Samuel Fink bestået en eksamen. Efterfølgende er undersøgelsens resultater viderearbejdet til et tidsskriftartikel manuskript, som er indsendt med henblik på publikation i internationalt tidsskrift med Samuel Fink som første forfatter.

I nærværende rapport gives en kortfattet dansksproget fremstilling af undersøgelsens vigtigste resultater.

Arbejds- og Miljømedicinsk Afdeling
Bispebjerg og Frederiksberg Hospital
August 2015
Forfatterne

Indledning

Man har i over 40 år regnet med, at oplevelse af mental stress medfører en ændring i hormonfrigørelsen fra hypothalamus-hypofyse-binyre(HPA)-aksen, således at en følelse af mental stress medfører en stigning i plasmaindholdet af kortisol. Mens det er særdeles veldokumenteret at kortisolniveauet stiger i tilslutning til en akut mental stresspåvirkning(1, 2), er det fortsat usikkert om en længerevarende opfattelse af mental stress også ledsages af øget HPA-akse aktivitet(3). ”Længerevarende opfattelse af mental stress” er i dette studie blevet operationaliseret ved Percieved Stress Scale(PSS) og sammenhængen mellem de to begreber vil blive uddybet nedenfor. HPA-akse aktivitet er operationaliseret som koncentrationen af hormonet kortisol målt i spytet.

Formål og hypotese

Formålet med projektet er, at undersøge om en oplevelse af mental stress gennem længere tid er associeret til øget HPA akse-aktivitet.

Opbygning

I det følgende vil der først søges en begrebsafklaring omkring termen ”stress” og tilknyttede termer, og hvorledes disse vil blive brugt i denne rapport. Derefter redegøres om kortisols biologi, måling og kendte determinanter. En gennemgang af litteraturen på området følger. Derefter gennemgås det aktuelle studie – dets metoder, resultater, diskussion af disse og konklusion.

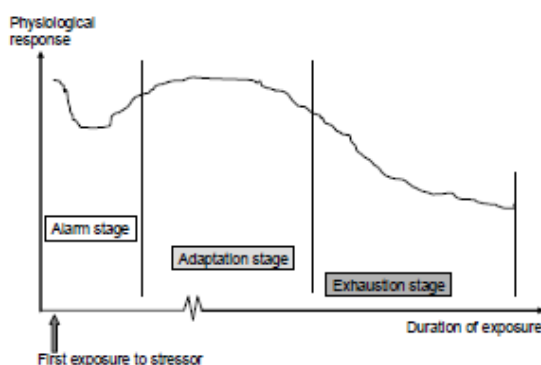
Baggrund

Stress

Historie

Den første omtale i moderne medicinsk litteratur af stress var i 1936 af Hans Selye, der dog undlod at bruge ordet stress om denne tilstand(4). Selye opdagede, at forsøgsrotter havde én fælles reaktion på mange forskellige fysiske og psykiske stressorer – ”A syndrome produced by diverse noxious agents”. Han valgte at kalde denne reaktion for ”general alarm reaction”(GAR). Samtidig opdagede han, at hvis rotterne blev udsat for den samme stressor igen og igen ændrede reaktionen sig og forsvandt næsten. Dette kaldte han ”general adaptation syndrom”(GAS) – rotterne tilpassede sig den nye situation. Hvis rotterne i lang tid nok blev udsat for en given stressor indtrådte en tredje tilstand, hvor de til sidst blev udtrættede og der kom en reaktion lignende GAR – dette kaldte han exhaustion. Dette er vist på figur 1, som er taget fra Kristenson et al(5).

Figur 1 General Adaptation Syndrome fra Kristenson et al(5)



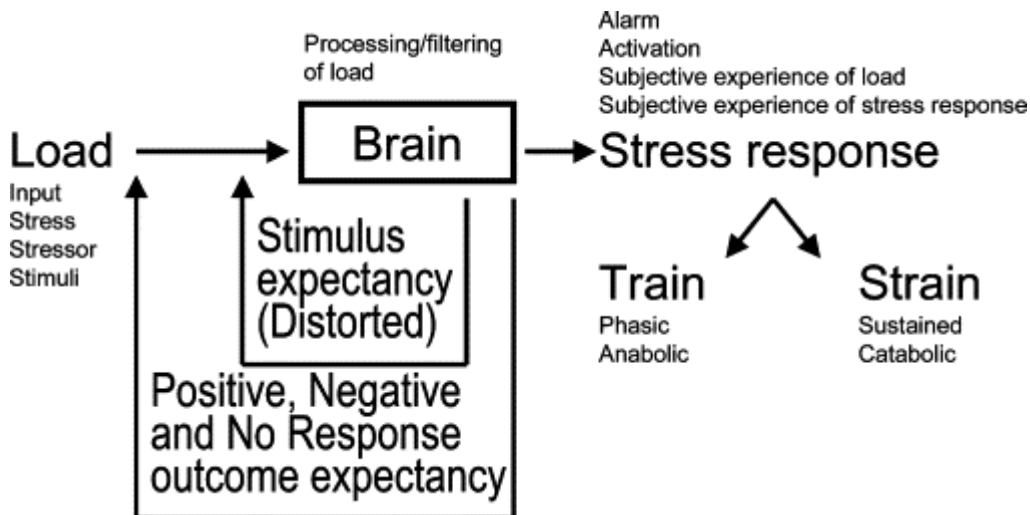
2: The three stages of General Adaptation Syndrome. Modified from Selye [13, 14].

Sammenkoblingen mellem psykologisk og fysiologisk stress blev for første gang gjort helt tydelig i et review af John W Mason i 1968 (6), hvor Mason gennemgik al relevant litteratur på området. I dette review blev det bl.a. konkluderet, at psykologisk påvirkning var blandt de mest potente regulatorer af Hypothalamus-Hypofyse-Binyre aksens (HPA-aksens). Dette er punkt 1 i det, der kaldes for The Mason Principles(7) – i alt 8 hypoteser omhandlende HPA-aksens biologi og psykologi som Mason mente at have fundet bevis for, og som alle siden hen er blevet efterprøvet og fundet korrekte.

En generel model?

Gennem tiden har der været en del hypoteser om, hvordan oplevelse af mental stress fører til et respons i kroppen. I dag er en af de mere brugte CATS-modellen udformet af Ursin og Eriksen i 2004(5, 8), som i skematisk form kan se ud som på figur 2.

Figur 2



Den øverste linie repræsenterer et input, der kommer til hjernen, bliver behandlet i denne og derefter giver ophav til et stress respons. Der kan udover de viste pile også sættes to pile fra responset: Én tilbage til hjernen der selvstændigt kan medføre opfattelse af stress – altså en kognitiv stress bliver fysisk, der så igen forstærker den kognitiv osv. og én pil tilbage til input, da stressresponsen skaber en ny situation, som individet skal forholde sig til. Sammenlagt kalder Ursin og Eriksen dette for de 4 aspekter af stress. Altså:

- 1) stress stimuli(stressor)
- 2) stress oplevelse
- 3) stress respons
- 4) feedback til hjerne og nyt input.

Samtidig sker der efterhånden, som vi skaber erfaringer gennem livet, en forventning om, hvad inputtet og vores respons vil føre til, hvilket i sig selv kan være et input, som hjernen skal forholde sig til. Enten kan individet tro, der sker noget positivt, noget negativt eller ikke vide hvad der sker ved et specielt respons. Denne følelse agerer igen som et input, som hjernen skal forholde sig til. Udgangen af alle disse processer medfører et respons, som Ursin og Eriksen kalder Train eller Strain. Train er kendetegnet ved, at det er relativt korte eksponeringer for en stressor, hvor udgangen eller løsningen på denne er nært forestående. Dette medvirker blot til at træne kroppen og gøre den klar på en lignende situation i fremtiden. Et eksempel kan være en studerende, der møder

op til undervisning og får at vide, der skal være en prøve i undervisningen. Dette stimuli vil få hjernen til at overveje om, det er noget godt eller dårligt, men første gang vedkommende oplever denne situation, vil svaret være, at det ved hjernen ikke. Derfor bliver der skabt et alarm-respons i kroppen med frigivelse af adrenalin. Dog er løsningen nært forestående, eftersom prøven hurtigt forbi. Næste gang vil responset ikke blive nær så stort, da kroppen har adapteret sig til denne situation, og har en forventning om hvad outcomet bliver. Denne proces beskriver Ursin og Eriksen som værende anabolsk for kroppen – den opbygger et sundt respons til stressstimuli.

Hvis nu eksemplet var et andet og den studerende i stedet fik at vide, at der ligger en eksamen en måned ude i fremtiden, kan det lede til et mere kronisk respons, som i stedet skaber det som Ursin og Eriksen kalder strain. Dette respons er kendetegnet ved at være langvarigt og involverer ændringer i noradrenalin, kortisol og thyroxin(8). Studier på dyr, der har haft et længerevarende respons har vist, at en sådan situation giver ophav til mavesår, hypertension, hjertesvigt, immunologiske svigt og ændring af biokemien i hjernen. Det formodes, at noget lignende foregår hos mennesker(9). Derfor betragter Ursin og Eriksen dette som katabolsk og dermed skadeligt for kroppen.

Hvordan måles stress?

Ifølge CATS-modellen kan man gå ind 4 forskellige steder og måle på mennesker(8) – sv.t. de fire aspekter af stress. Tidligere brugtes hovedsageligt det 1. aspekt – hvilke stressorer et individ havde i sin tilværelse. Det kunne eks. gøres gennem et life-event spørgeskema, hvor der blev spurgt ind til hvilke af en række formodede stressende begivenheder – evt. med forskellig vægtning for forskellige begivenheder – der havde fundet sted i det enkelte individs liv for nylig. Man kunne så score på et point skema og derefter ud fra dette, mente man, at kunne fremstille hvor mentalt stresset et individ var. Denne model tager dog ikke højde for den kognitive del – eller det andet aspekt jf. CATS – af stress(8, 10), og måler derfor nok i højere grad mentale stressorer og ikke opfattelse af mental stress.

I 1983 lavede Sheldon Cohen en ny skala, der netop havde til hensigt at måle dette andet aspekt af stress – hvordan vi selv opfatter mental stress. Den fik derfor navnet Percieved Stress Scale(PSS)(10). Baggrunden for at lave en skala som PSS, var at Cohen – på baggrund af artikler af psykologen Richard Lazarus fra 1960'erne og 1970'erne – mente, der manglede en psykometrisk metode til at måle den psykologiske eller kognitive del af stress. PSS findes i tre modeller: en med 4 spørgsmål, en med 10 spørgsmål og en med 14 spørgsmål, som har høj korrelation indbyrdes(10).

PSS-skalaen er en af de mere brugte indenfor måling af opfattelse af mental stress(11). Spørgsmålene bygger på hvor ofte en oplevelse af psykologisk stress kontra en oplevelse af medgang har forekommet inden for den sidste måned, og der svares på en Likert-skala fra 0 (aldrig) til 4 (meget ofte). Et eksempel på et spørgsmål fra modellen er: ”In the last month, how often have you felt that you were unable to control the important things in your life”. Skalaen har vist sig overlegen i forhold til life-event-skalaen til at bedømme forskellige outcomes af stress såsom fysiske symptomer på stress, brug af sundhedstjenester og social angst(10). Den er desuden gennem tiden blevet valideret adskillige gange(12) – dog er den danske udgave brugt i dette studie ikke valideret. I PRISME studiet er spørgsmålene udformet som i bilag 1. Spørgsmål 2 og 3 i bilag 1 er inverst relateret til begrebet opfattet mental stress, hvorfor den inverse værdi bruges i når det samlede resultat beregnes. Dette har ledt til en teori om, at PSS er et udtryk for summen af opfattet mental stress og counter-stress. (13) Endelig kan man måle på det 3. aspekt af stress – Kroppens fysiske respons(8). Dette kan gøres på en mængde forskellige måder, eks. adfærdsændring og adrenalinmåling. I dette studie er spytkortisol valgt som respons.

Opsamling

”Stress” vil på baggrund af ovenstående i det følgende blive opdelt i stressor, opfattelse af stress og stressrespons, svarende til det første, andet og tredje aspekt af stress fra ovenstående CATS-model, medmindre andet er udtrykkeligt anført. Percieved Stress Scale, PSS, forholder sig til begrebet opfattelse af stress, som værende det værktøj der bliver brugt til at operationalisere og objektificere et individs opfattelse af stress. Dette medfører også, at der ved begrebet opfattelse af stress menes længevarende opfattelse af stress – helt specifikt den måned som PSS inddrager i sine spørgsmål. Som tidligere nævnt er kortisol valgt som et udtryk for stressrespons.

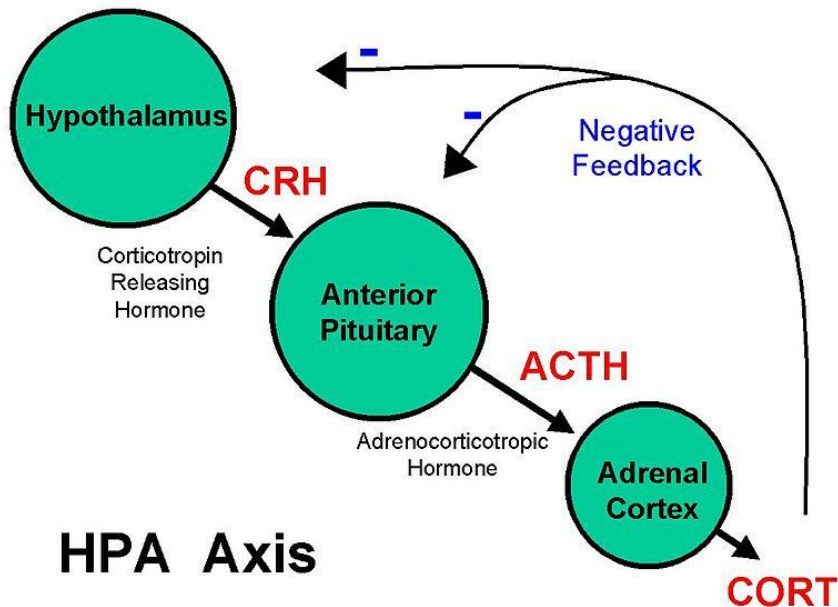
Kortisol

Indledning

Kortisol er et hormon, der bliver dannet i og udskilt fra cortex af binyrerne. For at kontrollere binyrernes udskillelse af kortisol, kræves at de påvirkes af hormonet ACTH der kommer fra hypofysen, der igen bliver kontrolleret af hormonet CRH, der kommer fra hypothalamus. Kortisol

hæmmer frigørelsen af disse 2 kontrolhormoner – en proces der kaldes negativ feedback. En opsamlende tegning er vist på figur 3.(14)

Figur 3 oversigt over reguleringen af kortisol



Kongstanken bag idéen om, at opfattelse af stress påvirker udskillelsen af kortisol bygger på det tidligere nævnte 1. Mason Principle (6, 7): At psykologiske og kognitive procedurer i hjernen kan påvirke mængden, der udskilles af de kortisolregulerende hormoner og dermed udskillelsen af kortisol.

Biologisk funktion

Kortisol har en mængde biologisk funktioner, der er vigtige af hensyn til opretholdelse af kroppens homeostase. Det er med til at opbygge glykogendepoterne i leveren, specielt dem der sker ved nedbrydelse af proteiner(15). Det flytter kroppens fedtdepoter fra periferien og ind mod centrale dele af kroppen(15). Det ændrer immunresponset og hæmmer inflammationsprocesser(15) – noget som syntetisk fremstillede kortisollignende hormoner ofte bliver brugt til i lægemiddelindustrien. Det er med til at regulere helingsprocesser og knogleopbygning(15) – således at en hypersekretion af kortisol, vil virke hæmmende på heling og knogleopbygning. Endelig spiller kortisol også en rolle for opbygning og indlæring i hjernen, samt har væsentlige funktioner præ- og neonatalt(15).

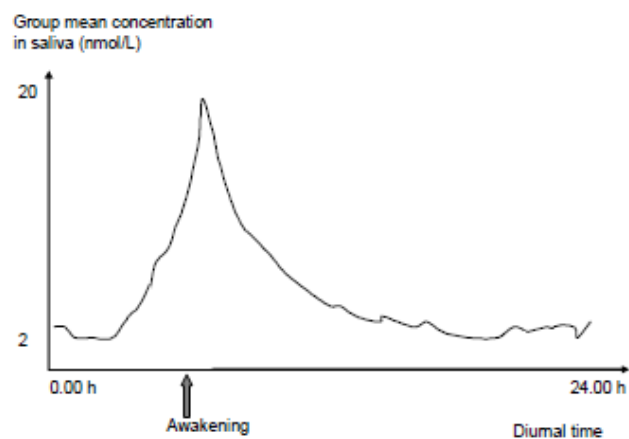
Kortisol kan frit gå over cellemembraner, og binder sig inde i targetcellen til en receptor, der vandrer ind i kernen, hvor kortisol-receptor komplekset bindes til DNA og regulerer transskriptionen af gener(15).

Kortisol elimineres fra kroppen ved metabolisering i leveren og efterfølgende ekskretion i nyrerne(15).

Kortisolmålinger

Et problem ved målinger af kortisol er, at kortisolniveauet varierer over hele døgnet, startende med en stigning på op til 160% indenfor de første 30 minutter efter opvågning(16) kaldet Cortisol Awakening Rise eller CAR. Denne stigning ophører derefter omkring 45 – 60 min efter opvågning, og bliver til en langsom sænkning af niveauet resten af døgnet(2), indtil ca. midten af natten hvor en langsom stigning begynder igen(17). Dette kan ses på figur 4, der er fra Kristenson et al.(5)

Figur 4 Kortisol døgnvariation fra Kristenson et al(5).



Kortisol kan måles ud fra plasma, urin eller spyt(15).

Endokrinologiske lidelser diagnosticeres oftest ved en døgnurinmåling, hvor man på den måde får adgang til den totale mængde udskilt kortisol i et døgn. Denne metode viser dog intet om den aktuelle koncentration af kortisol i kroppen, ligesom den i praksis har vist sig svær at udføre(15, 17).

Blodmålinger bliver besværliggjort af kortisol oftest findes i blod i frie former bundet til proteiner. Desuden medfører den invasive procedure ofte en ikke-ubetydelig stigning i kortisol, ligesom det også kræver uddannet personale at tage prøven(15, 17).

I spyt findes kortisol oftest i en fri form og samtidig tillader denne prøvetagningsmetode ikke-invasive natur, at hjemmeprøvetagning bliver mulig. En problemstilling er, at enzymet 11 β -

hydroxysteroid dehydrogenase type 2, omdanner op til mellem 30 % til ca. 50 % af kortisol til kortison, som man derfor skal huske at tage højde for i analysen(15, 17).

Kortisol måles oftest vha. en immunoassay teknik, hvor man får et stof til at binde sig til kortisol, og dette nye kompleks har så nogle egenskaber(eksempelvis lys eller radioaktivitet), der gør det målbart, hvor meget stof-kortisol kompleks der er(15), og dermed hvor meget kortisol der oprindeligt var i prøven.

Kendte kortisoldeterminanter

Kortisolniveauet er meget individuelt og varierer således meget fra person til person. Man har viden om en mængde determinanter, der lader til at kunne påvirke mængden af kortisol, der udskilles. Disse omfatter bl.a.: alder, køn, rygning, orale antikonceptiver, muligvis BMI, socioøkonomisk status, race/etnicitet, kraftig alkoholindtagelse, medicinindtag og sygdomme(17).

Sygdomme forårsaget af kortisol

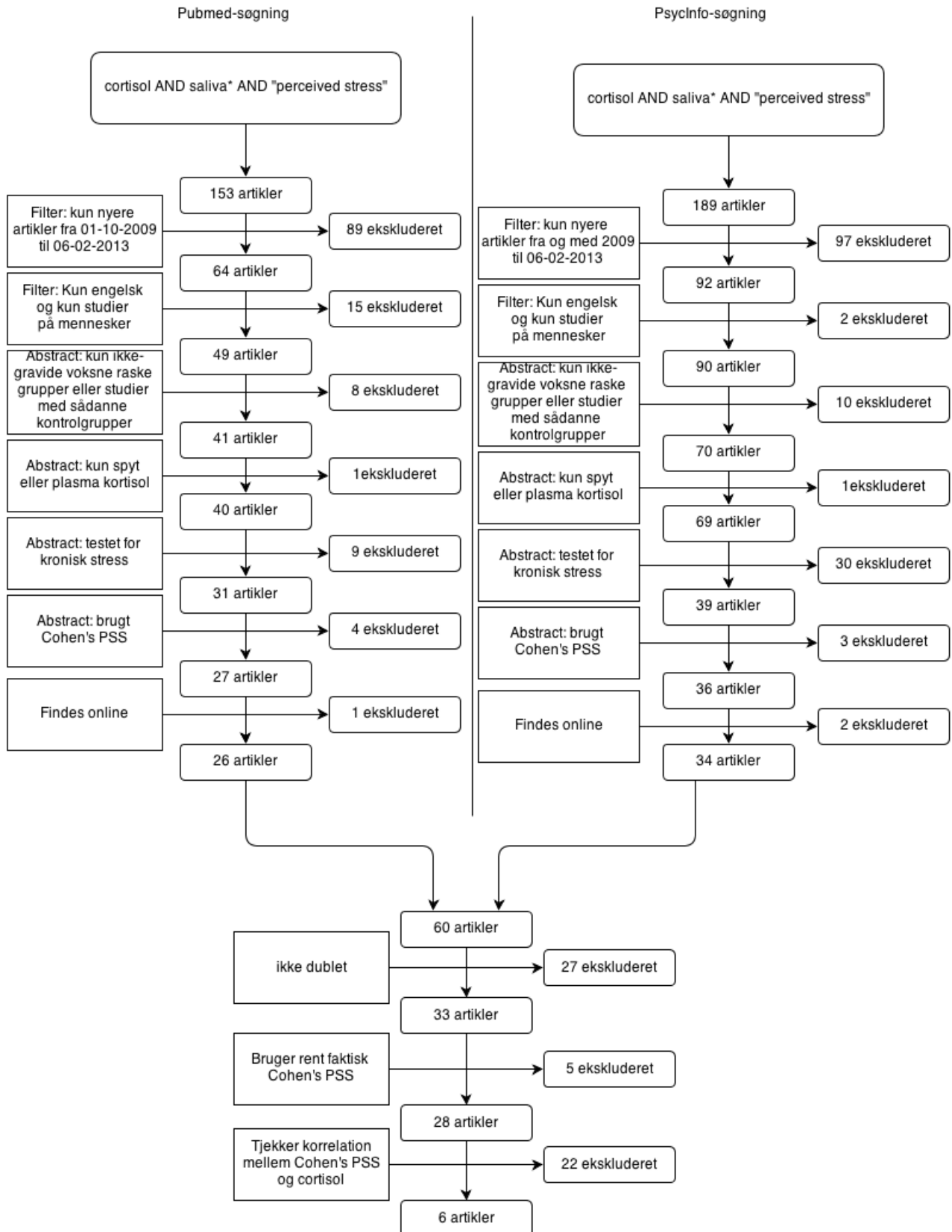
Endokrinologiske lidelser er kendt for at give ophav til en mængde hyper- og hypokortisolæmiske sygdomme, som eks. Cushing's syndrom og Addison's sygdom, hvor kroppen endogent producerer henholdsvis for meget eller lidt kortisol(15). Symptomerne bliver derefter, som beskrevet under kortisols biologiske funktion. Udover disse "logiske" følger af hypo- og hyperkortisolæmi har udsving i HPA akse også vist sig relateret til andre sygdomme. Således har hypoaktivitet af HPA-aksen vist at være relateret til bl.a. kronisk træthedssyndrom, fibromyalgi, atypisk depression, mens hyperaktivitet har vist sig at være relateret til bl.a. melankolsk depression og dysmenoré(3, 18) Generel dysregulation af akse er bl.a. relateret til cancer, autoimmune sygdomme og Alzheimers(19).

Tidligere studier på området

Halford et al.(11) lavede i 2011 et litteraturstudie omhandlende en mulig korrelation mellem Perceived Stress Scale (PSS) og kortisol målt i spyttet. Der er i det følgende taget udgangspunkt i dette litteraturstudie.

Søgning er fortsat efter same princip som Halford et al.(11) på PubMed og PsycINFO. Der søgtes med termen: cortisol AND saliva AND ”percieved stress”. Derefter blev der foretaget en mængde eksklusioner udfra kriterierne som vist på figur 5, der er et flowdiagram over hvorledes søgningen forløb.

Figur 5 Flowdiagram over litteratursøgning



I alt 6 studier er blevet føjet til listen over studier inkluderet i Halford et al.

Sammenligningen studierne imellem lider kraftigt under, at der mangler en konsensus for hvilken kortisolanalyse der bruges, og det kan diskuteres om ikke analyserne er så forskellige, så sammenligningsgrundlaget falder sammen. Groft set kan analyserne inddeles på 3 måder(5):

- a) Enkelte kortisol målinger i løbet af dagen, evt. med gennemsnit.
- b) Beregning af en hældningskoefficient(slope) enten ved stigningen om morgenen eller faldet ud på eftermiddagen.
- c) Beregning af en Area under the curve (AUC), som udtryk for den samlede mængde kortisol frigivet i et givent tidsrum. Dette er oftest brugt på Cortisol Awakening Rise (CAR), men er også brugt over andre tidsintervaller.

Alle studierne har brugt Cohen's Perceived stress scale (PSS)(10), som mål for opfattelse af stress. Forskellige mål for opfattelse af stress ville gøre undersøgelserne usammenlignelige.

For at vise forskelligheden i opnåelse af resultater er i tabel 1 en kort sammenligning, lettere redigeret fra Halford et al.(11) og ført frem til februar 2013 fra og med Klatt 2009. For en mere udførlig beskrivelse af studierne se bilag 2.

Tabel 1 Kort oversigt over studier fra Halford et al(11), samt nyfundne studier.

References	Year	Expo	No. cortisol	M/w	Single time point(or sum/mean of two or more time points)					Deviation (difference/slope between two or more time points)				AUC				Dexamethason suppression test		
					A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	C1	C2	C3	C4		D	
Van Eck (20)	1996	PSS10	87	87/0									0							
Van Eck (21)	1996	PSS10	87	87/0									0							
Pruessner (22)	1999	PSS	66	24/42						0										↑
Nicolson (3)	2000	PSS10	59	59/0		0			0											
Edwards (23)	2003	PSS	36	10/26						0		0				↑			0	
Schwarz (24)	2003	PSS14	75	20/55		0														
Abercrombie(25)	2004	PSS	31	0/31					0				(↑)							
Tull(26)	2005	PSS10	53	0/53									↓0							
Thorn(16)	2006	PSS14	48	8/40									0			↓				
Putterman(18)	2006	PSS14	170	0/170		0	0						0							
Gallagher-Thompson(27)	2006	PSS	45	0/45		0	0	0					0							
Wahbeh(28)	2008	PSS	15+15	11/19		(↑)														
Faraq(29)	2008	PSS	78	0/78									↓							
Lasikiewicz(30)	2008	PSS	147	68/79					0				0					0		
Simpson(31)	2008	PSS	41	23/18			0	0												
O'Connor(2)	2008	PSS10	118	0/118			↓0									↓				
Schulze(1)	2009	PSS	21	12/19						0			(↓)							
Mondelli(32)	2009	PSS10	36													0		0		
Klatt(33)	2009	PSS10	45					0												
Mikolajczak(34)	2010	PSS10	42	42/0												↓				
Turner-Cobb(35)	2010	PSS10	15															0	0	
Stalder(36)	2010	PSS14	38	10/28	0															
Bohbot(37)	2011	PSS14	41					0												
Groeneveld(38)	2012	PSS14	71					0					↑							

Abbreviations: a1, awake; a2, morning; a3, midday; a4, evening; a5, all day; b1, morning; b2, midday; b3, morning to evening; b4, laboratory test reactivity (first column)/recovery (second column); c1, morning increase/ground; c2, midday increase/ground; c3, morning to evening increase/ground; c4, laboratory test increase/ground; d, dexamethason suppression test. Arrows in parentheses denoting marginally significant findings. Findings in blue are not from the original table from Halford et al

Som det ses i tabel 1 finder 11 ud af 24(46%) studier en signifikant eller nærsignifikant association mellem PSS-score og kortisoludskillelse. Af det samlede antal analyser foretaget i studierne i alt viser 12 ud af 47(26%) analyser en signifikant eller nærsignifikant sammenhæng. 5 ud af 12(42%) viste positiv association, mens 7 af de 12(58%) viste negativ association.

For enkeltkortisolmålinger, som anvendt i dette studie finder viser kun 2 ud af 19 analyser en signifikant eller nærsignifikant association – én peger på at høj opfattet stress leder til mere kortisol, mens den anden analyse viser det modsatte.

I analyser med AUC for CAR finder 4 ud af 5(80%) signifikant association – 3 viser en negativ association mens én viser positiv association.

En oversigt over hvordan de forskellige analyser fordeler sig mht. signifikans og associationsretning ses i tabel 2.

Tabel 2, Oversigt over de forskellige analysemetoder anvendt i de inkluderede studier

Kortisolanalyse	ikke-signifikante		signifikante eller nærsignifikante				i alt
	Antal	andel	antal	andel	Positiv association	andel	
Enkelte målinger i løbet af dagen, evt. gennemsnittet af disse	17	89%	2	11%	1	50%	19
Slope beregninger	11	69%	5	31%	2	40%	16
Slope morgen-aften	7	58%	5	42%	2	40%	12
AUC beregning	7	64%	4	36%	1	25%	11
AUC som mål for CAR	1	20%	4	80%	1	25%	5
I alt	35	76%	11	24%	4	36%	46

Resultater i fed angiver at over 2/3 dele af resultaterne peger i den retning. Andelen af positiv association er i forhold til signifikante eller nærsignifikante analyser og således ikke i forhold til det samlede antal analyser.

Det lader altså til, at AUC mål for CAR har den bedste association med opfattelse af stress. Kun et studie finder ingen signifikans, og dette studie er samtidig det mindste studie blandt AUC for CAR studierne med kun 36 deltagere. Enkeltmålinger derimod – på trods af deres store antal foretaget i litteraturen, hvilket afspejles i tabellens nederste række – må siges at have en massiv overvægt mod ikke signifikante resultater. Beregning af en slope gående fra morgen til aften viser sig værende et usikkert mål i bedste fald.

Det kunne altså tyde på, at en association, hvis en sådan eksisterer, skal findes ved at kigge på AUC for CAR.

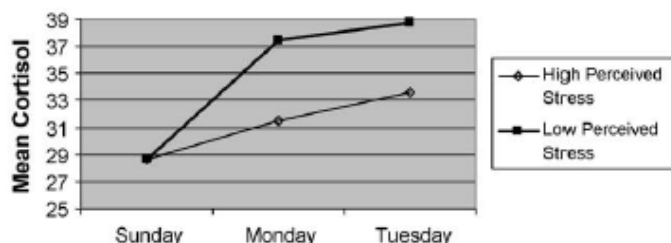
Oversigten viser desuden, at retningen på associationen ikke lader til at være konsistent, således at 36 % af alle signifikante resultater peger på en positiv association, mens 64 % peger på en negativ association. Igen lader det til, at AUC er mest konsistent, hvor der kun findes en positiv association og 3 negative associationer. Samtidig er det det mindste studie, der fandt den positive association – et studie der i øvrigt havde den omvendte association og konkluderede at folk med høj AUC for CAR rapporterede højere opfattet stress(23).

Konklusion i studiet af Halford et al, var at de fleste studier ikke fandt en signifikant sammenhæng mellem PSS-score og kortisol(11) – en konklusion som ikke ændres ved at inkludere nyere litteratur.

Generelt er der ikke mange studier med lige præcis de søgeparametre, som er sat op her. Det samlede deltagerantal i alle studier er således kun 1393 personer. Desuden har kun et fåtal af studierne inkluderet haft sammenhængen mellem opfattet stress og kortisol som det primære mål, og de fleste nævner kun kort, hvilken sammenhæng eller mangel på samme, der er blevet fundet. Det er derfor sandsynligt, at området er præget af publikationsbias, hvor evt. ikke-signifikante resultater ikke nævnes.

Blandt de nyere studier, er studiet af Mikolajczak(34) et af de mere interessante. Mikolajczak fremstiller i sin artikel fra 2010 et nyt synspunkt: At undersøge den enkelte persons fleksibilitet i AUC for CAR, i stedet for størrelsen AUC for CAR i en enkelt måling. Dette blev gjort ved at både at måle en CAR søndag og så den følgende mandag og tirsdag i 2 grupper – en med høj rapporteret PSS-score og en med lav, delt ved median split. Resultatet kan ses i figur 6

Figur 6. AUC for CAR som funktion af ugedag – fra Mikolajczak et al(34).



Det ses, at individer, der rapporterer lav opfattelse af kronisk stress, har en kraftig stigning i AUC for CAR mellem søndag og mandag($t=-3,05$, $p<0,01$), mens individer med høj opfattelse af kronisk stress ikke viser samme tilpasning ($t=-0,67$, p ikke signifikant). Undersøgelsen viste i øvrigt også

signifikant forskel grupperne i mellem på selve CAR målingen om mandagen, men ikke om søndagen ($F = 8,61, p < 0,001$).

Andre mulige sammenhænge

Mikolajczaks studie er et eksempel på, hvor forskningen indenfor opfattelse af stress bevæger sig hen for tiden. Studierne omhandlende på kortisol har givet så forskellige resultater, at man begynder at lede efter andre forklaringer end blot at se på kroppens kortisolniveau.

Et eksempel på dette er studiet af Lennartsson et al.(39) fra 2013. I dette studie blev det undersøgt om opfattelse af stress – her målt ved Stress Energy Questionnaire og ikke PSS – giver ændringer i forholdet mellem kortisol og dehydroepiandrosterone (DHEA) og dehydroepiandrosteronsulfat (DHEA-S), der er biologiske antagonist til kortisol. Studiet viste, at personer med score på skalaen, der bliver udsat for en akut stressende situation – her Trier Social Stress Test – var dårligere til at matche deres kortisolstigning med en tilsvarende stigning i DHEA-S end folk med en lav score. Dette bliver tolket som, at de er dårligere til at tilpasse sig en akut stresssituation. DHEA-S/Kortisol ratioen har tidligere i et andet studie vist en positiv korrelation med kognitive funktioner og beslutsomhed i akut stressede situationer(40). En invers sammenhæng mellem DHEA-S og opfattet stress målt ved PSS har været kendt siden 1995 (41).

Et andet studie af Cohen et al.(42) fra 2012 foreslår en model for hvordan stressorer, glucocorticoid receptor resistens (GCR) og sygdom kan hænge sammen. Rent praktisk målte de deltagernes stressorer ud fra en Life Event Score og smittede dem derefter med en af to mulige rhinoviruser og målte deres immunrespons på denne smitte. De fandt en signifikant sammenhæng mellem kortisol og leukocytal – altså immunresponsen på smitten – hos personer med lavt antal rapporterede stressorer, mens folk med højt antal rapporterede stressorer ikke havde nogen sammenhæng mellem kortisol leukocytal. Dette tolkes, som at personer med mange stressorer har en høj grad af GCR – og dermed ikke får den biologiske funktion ud af kortisol, som de burde.

Metode:

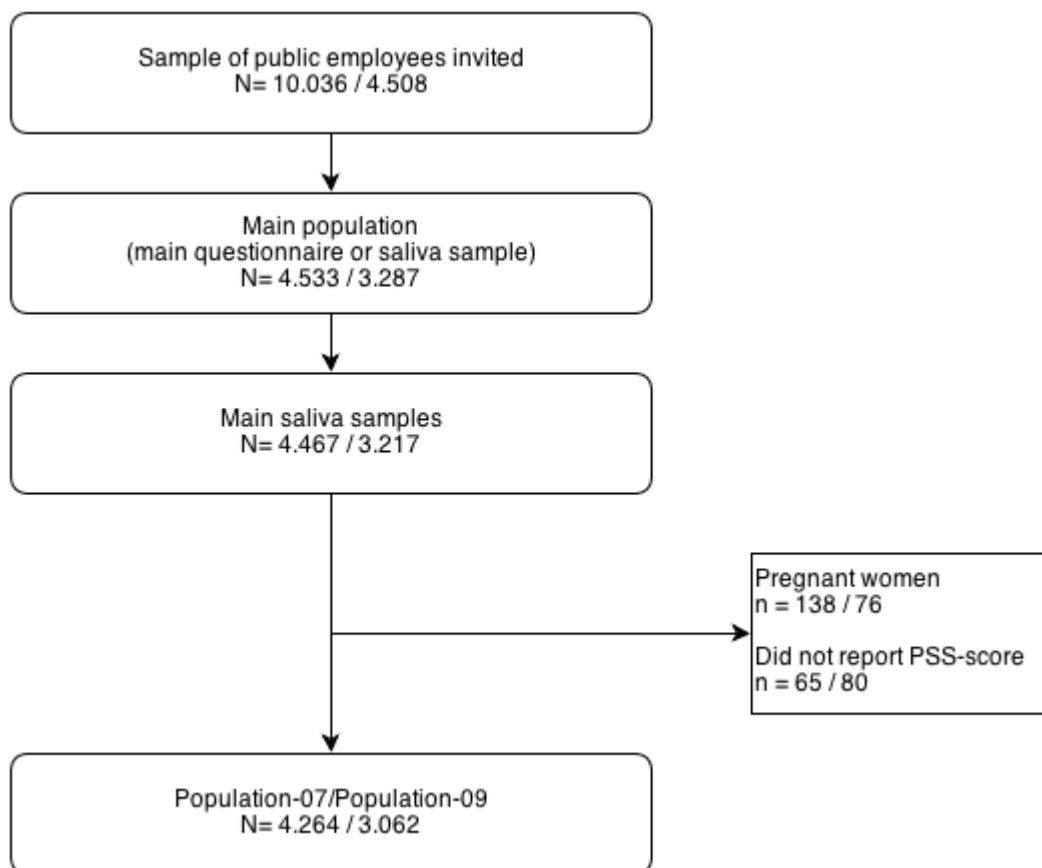
Population:

Til studiet er der anvendt data fra PRISME-kohorten. PRISME-kohorten blev oprettet i 2007, hvor 502 offentlige arbejdspladser i Århus kommune og tidligere Århus amt med i alt 10.036 ansatte blev inviteret til at deltage. Disse blev i 2009 geninviteret til opfølgning.

Formålet med kohorten var at skabe et prospektivt studie omhandlende jobrelaterede psykosociale determinanter for psykisk sygdom(43). I 2007 valgte 4.533 af de inviterede at deltage i studiet, hvoraf 4.467 afleverede spytp prøver, svarende til en svarprocent på 45 %. Tidligere analyser af data har vist, at frafaldet ikke har betydning for estimatet på associationen mellem psykisk arbejdsmiljø og psykiatriske lidelser på trods af, at deltagere og ikke-deltagere var forskellige på en flere andre områder(43).

I analyserne er alle personer, der rapporterede graviditet eller manglede at rapportere en PSS-score, sorteret fra. Dette efterlader 4264 deltagere i 2007-populationen. Et flow-diagram over eksklusionen ses nedenfor, hvor også populationen for 2009 er inkluderet:

Figur 7: flowdiagram over deltagere i 2007/2009



Dermed er populationen i 2007 på i alt 4264 deltagere, mens den i 2009 er på 3062 deltagere.

Mål for selvopfattet stress

Opfattet stress er blevet målt efter en dansk oversættelse af 4-item versionen af Percieved Stress Scale – PSS – en test der er valideret og brugt siden 1983(10, 12, 13). Den består af 4 spørgsmål omhandlende, hvor ofte på en skala fra 1-5 individet har oplevet psykologisk stress i løbet af den sidste måned, og hvor ofte individet har haft følelse af medgang i samme tidsrum(det sidste bliver betragtet som invers stress og derfor bruges den reciprokke værdi). Værdierne for de 4 spørgsmål er lagt sammen, og der er taget en gennemsnitsværdi. Hvis deltagere har svaret på under 3 spørgsmål, er de blevet sorteret fra. Hvis der er svaret på 3 spørgsmål, er der lavet en gennemsnitsværdi, og denne er derefter afrundet til nærmeste 0,25. Dette er gjort for, at kunne inkludere flere deltagere. Ved sammenligning med andre studier, skal der tages højde for at der i dette studie er taget en gennemsnitsværdi, mens der i de fleste andre er brugt den samlede score. Spørgsmålene anvendt kan ses i bilag 1.

Mål for spytkortisol

Hver deltager har taget to spytprøver – én 30 minutter efter opvågning og én kl. 20 om aftenen. Prøver blev taget med Salivette® bomuldsrør. Deltagerne blev bedt om holde bomuldsrøret i munden, indtil dette var gennemfugtet. Derefter blev prøverne opbevaret i køleskab, indtil de blev sendt til analyse på laboratorium. Prøverne blev herefter analyseret vha. RIA(44).

For at en prøve er inkluderet i studiet skal den for morgenprøvens vedkommende være taget før kl. 12, mellem 0 og 120 minutter efter rapporteret opvågningstidspunkt, og der skal være en besvarelse af spørgeskemaet, mens der for aftenprøvens vedkommende gælder, at den skal tages mellem kl. 17 og kl. 4 om natten, og der skal være svaret på spørgeskemaet. Der er beregnet et gennemsnit(mean) af en persons morgen og aften kortisol værdier, såfremt de begge var valide. Gennemsnitsværdien bliver her brugt for at få et bredere udtryk for døgnkortisolniveaet.

Data analyse

Alt dataanalyse er lavet i SAS, version 9.3. I alle analyser er kortisolværdierne blevet logtransformeret for at opnå en normalfordeling i populationen. For både 2007- og 2009- populationen blev der lavet LOESS-kurver med en smoothing parameter på 0,5 for at se en non-parametrisk sammenhæng mellem kortisol som funktion af PSS-score indenfor de givne populationer. På baggrund af et knæpunkt på LOESS-kurverne er PSS i den deskriptive del af studiet dikotomiseret som en score under 2,75 og en score på 2,75 og derover. Desuden er der beregnet odds-ratio for kovariater holdt op mod om individet befinder sig i høj eller lav PSS-score. Kovariaterne er valgt med baggrund i litteraturen(17) og omfatter alder, køn, BMI, ryger, ugentlig indtag af alkohol, fysisk aktivitet, uddannelses niveau og opvågningstid på prøvedagen.

Efterfølgende udførtes 3 regressionsanalyser vha. GLM metoden i SAS: Én for den gennemsnitlige kortisolværdi som funktion af PSS-score, én for morgenværdien som funktion af PSS-score og én for aftenværdien som funktion af PSS-score. Disse analyser er på baggrund af LOESS-kurverne gentaget for et subset af populationerne, hvor der kun er medtaget den del, der scorer 2,75 eller højere.

Der er derefter foretaget de samme analyser i en model justeret for ovenstående kovariater, som viste sig at have en effekt på PSS-score, samt indtagelse af smertestillende medicin aftenen før prøven, arbejde/fridag på prøvedagen og tiden fra opvågning til prøvetagning.

Til sidst er der foretaget en tilbagetransformering fra log-skalaen for lettere at kunne se den reelle effekt, PSS-scoren har på kortisolniveaet.

Resultater

Deskriptiv

Resultaterne i tabel 3 viser ingen signifikant sammenhæng mellem PSS-score og køn eller alkoholindtag. Alder lader til at have en effekt, hvor personer i tyverne rapporterer lavere PSS-score end personer i aldersgruppen 30-60 år. Fysisk aktivitet har betydning for PSS-score således, at personer, der dyrker meget motion, rapporterer lavere PSS-score. BMI viser, at personer, der enten er undervægtige (BMI under 18,5) eller fede (BMI over eller lig med 30), rapporterer mere opfattet stress end normalvægtige. Rygning er associeret således, at personer, der ryger, rapporterer højere PSS-score end personer, der ikke ryger. Analyser af uddannelse viser, at uddannelsesniveau og opfattelse af stress er associeret således, at deltagere med højere uddannelsesniveau rapporterer lavere PSS.

Tabel 3. Characteristics of the 4264 public employees included in the 2007-population and odds ratios for the unadjusted association with PSS (Large PSS is dichotomised at a score of 2,75 and above)

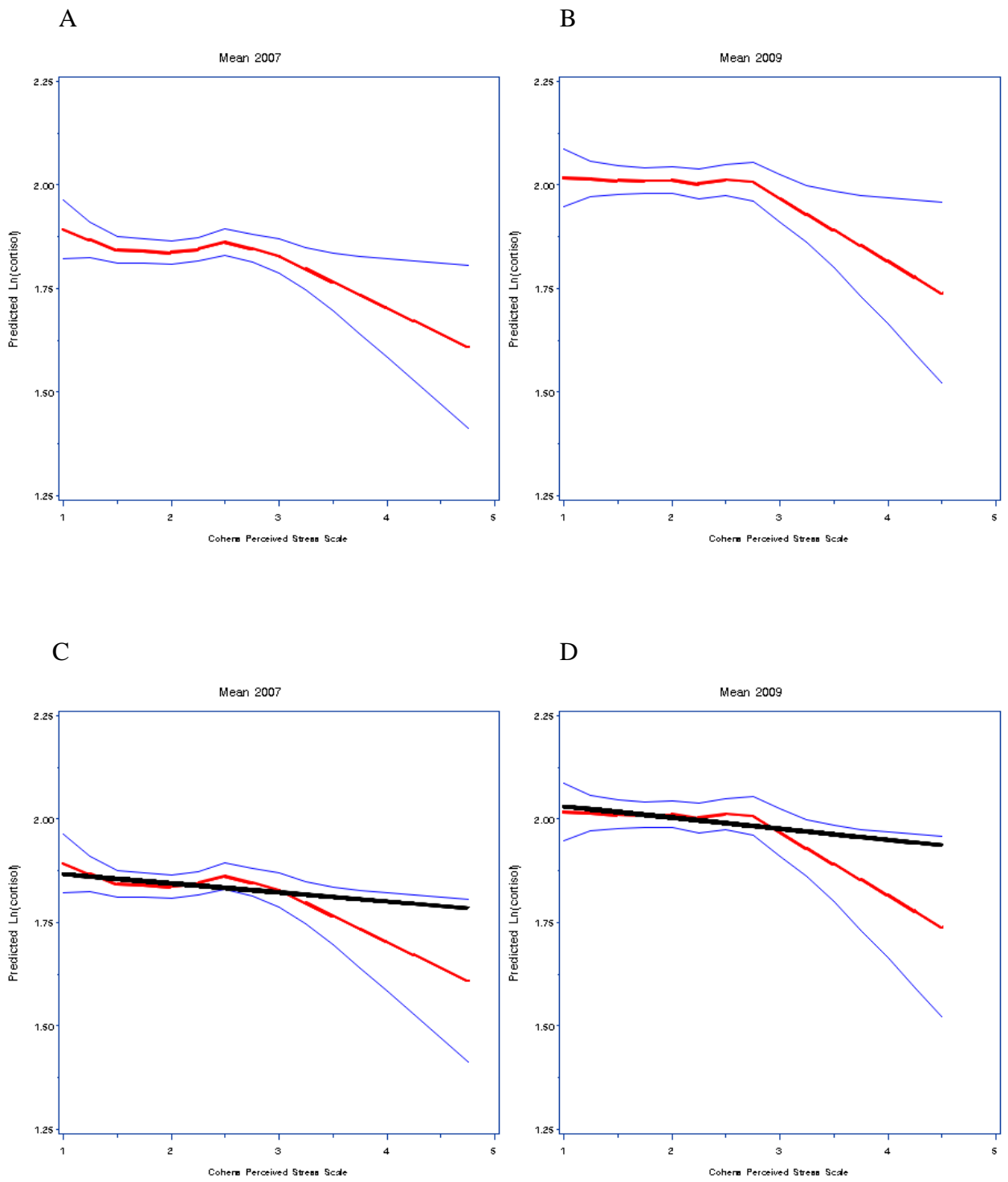
Characteristic	N	%	OR	95% CL
Gender				
Woman	3318	77.8	1.07	0.89 - 1.29
Age				
20-29	355	8.3	1	
30-39	975	22.9	1.58	1.13 - 2.22
40-49	1306	30.6	1.56	1.12 - 2.17
50-59	1429	33.5	1.63	1.18 - 2.26
60-	198	4.6	0.80	0.47 - 1.36
Physical activity				
less than 2 hours per week	535	12.5	1	
2-4 hours per week	1712	40.2	0.62	0.50 - 0.78
More than 4 hours or 2-4 hours hard training per week	1737	40.7	0.50	0.40 - 0.62
More than 4 hours hard training per week	261	6.1	0.41	0.28 - 0.61
BMI				
<18.5	120	2.8	1.77	1.18 - 2.67
18.5-24.9	2673	62.7	1	
25-29.9	1139	26.7	1.13	0.95 - 1.35
>=30	332	7.8	1.75	1.35 - 2.26
Smoking				
non-smoker	3454	81.0	1	
smoker	785	18.4	1.62	1.36 - 1.94

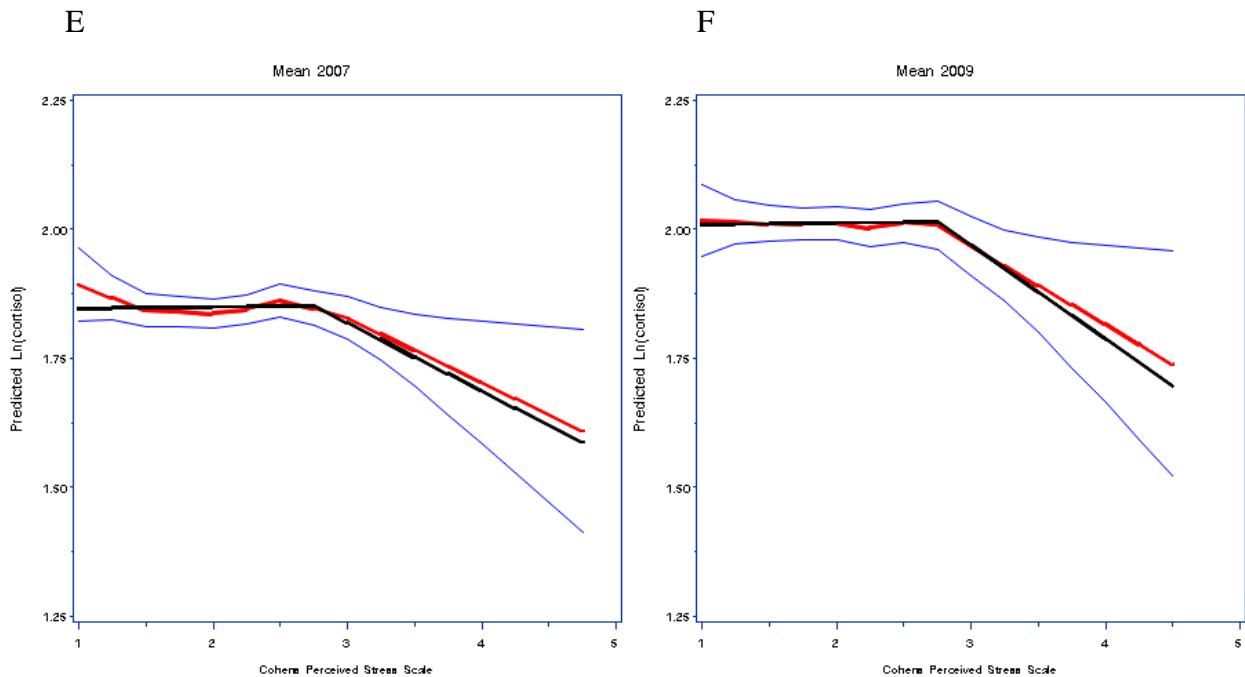
Alcohol				
less than 14 gr per week	3897	91.4		
above 14 gr per week	367	8.6	0.99	0.76 - 1.30
Professional education beyond primary or high school				
None or short training	134	3.1	1	
Vocational	348	8.2	0.94	0.60 - 1.47
Short higher (<3 years)	379	8.9	0.90	0.58 - 1.41
Medium higher (3-4 years)	2909	68.2	0.61	0.41 - 0.90
Long higher (>4years)	482	11.3	0.38	0.24 - 0.60
Awakening hour on test day				
Below the median (6.15)	2085	48.9	1	
Above the median (6.15)	2179	51.1	0.95	0.82 - 1.10

Non-parametrisk association mellem PSS og kortisol

LOESS-kurver over associationen mellem PSS og kortisolgennemsnit – for hver deres år – ses i figur 8 A-B. Det ses på figuren, at kurven har et relativt vandret udseende indtil en vis PSS score, hvorefter kurven dykker. En lineær funktion som lagt ind på figur 8 C-D ser ikke ud til at beskrive dette fald godt, mens 2 lineære funktioner – én for stykket op til en PSS score på 2,75 og en fra 2,75 og over, som vist på figur 8 E-F, ser ud til at have et bedre fit. Cutpunktet ved en PSS score på 2,75 er valgt, da det giver det bedste fit.

Figure 8. LOESS-curves showing ln to mean cortisol as a function of PSS-score. A-B the unadjusted nonparametric association and 95% confidence intervals. C-D with a linear function layered over the LOESS-curve. E-F With 2 linear functions layered over – one for a PSS-score below 2.75 and one from 2.75 and above

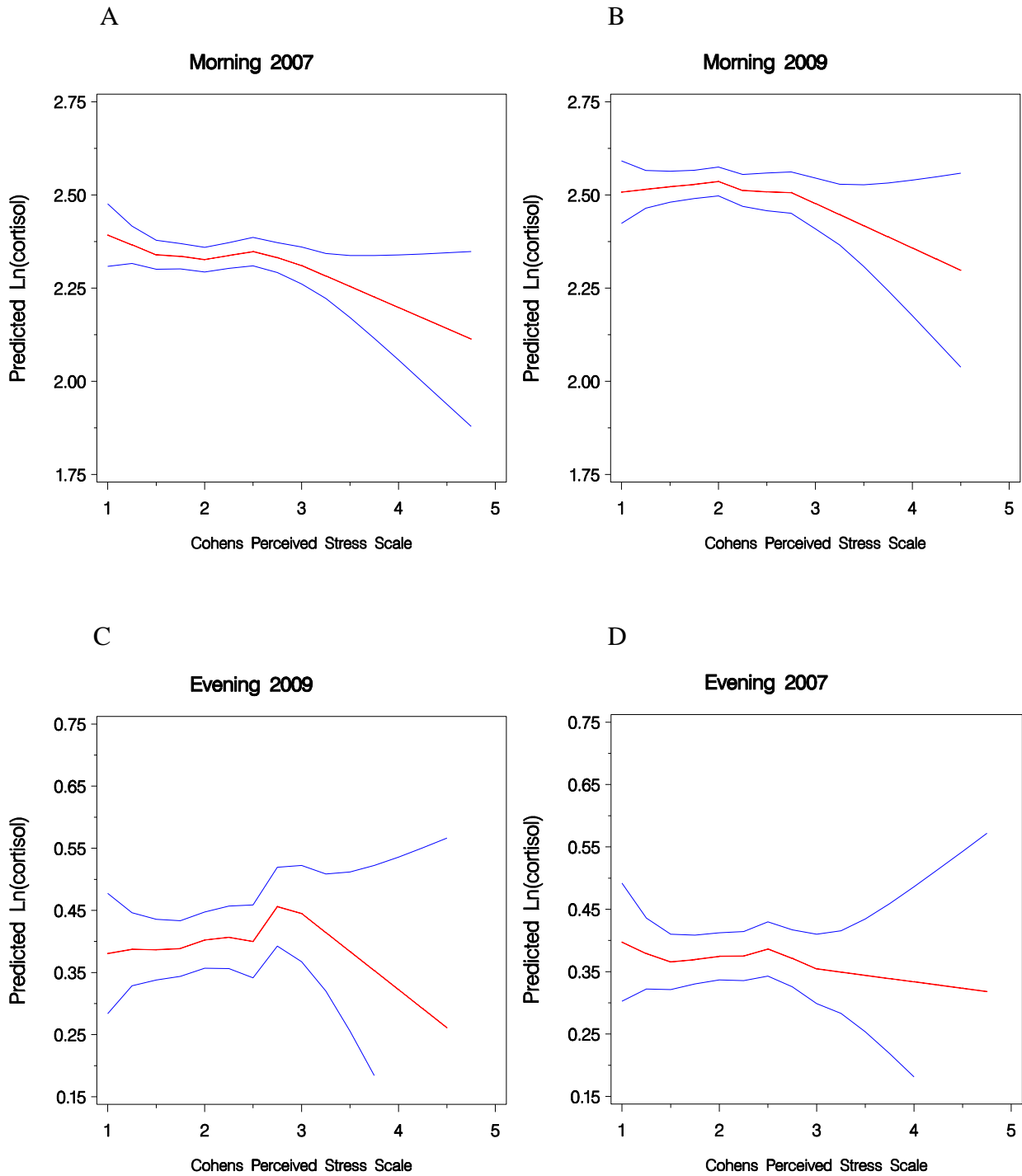




En sammenligning mellem 1- og 2-liniemodellerne, der er lagt ind over LOESS-kurverne, viste at 2-liniemodellerne ikke har et signifikant bedre fit end 1-liniemodellerne. P-værdien er for 07-populationen 0,26 og for 09-populationen 0,24. På baggrund af dette vælges 1-liniemodellen som hovedresultat.

For morgen- og aftenkortisonmålingerne ser LOESS-kurverne ud som på figur 9. På figur 9 A-B ses kurverne for den non-parametriske association mellem PSS-score og morgenkortisolmålingen, mens figur 9 C-D viser de non-parametriske association mellem PSS-score og aftenkortisolmålingen

Figur 9. LOESS-curves showing ln to cortisol as a function of PSS-score. A-B Morning cortisol 2007 and 2009 respectively. C-D Evening cortisol in 2007 and 2009 respectively.



Regressionskoefficienter for sammenhængen mellem PSS og kortisol

En oversigt over hældningskoefficienterne for den lineære sammenhæng mellem PSS-score og kortisol kan ses i tabel 4.

Der ses ingen signifikant effekt af PSS på kortisol, hvis hele populationen medtages, hverken i 2007 eller 2009.

Tabel 4. Coefficients for the linear regression for ln to cortisol as a function of PSS-score

Cortisol measurement	Crude model			Full model ^a		
	N	β	95 % CI	N	β	95 % CI
07-population						
Mean	3522	-0.021	-0.052 - 0.009	3351	-0.005	-0.036 - 0.026
Morning	3616	-0.028	-0.064 - 0.008	3436	-0.013	-0.050 - 0.023
Evening	4002	-0.008	-0.049 - 0.032	3746	0.000	-0.042 - 0.042
09-population						
Mean	2394	-0.027	-0.063 - 0.009	2262	-0.010	-0.047 - 0.028
Morning	2494	-0.024	-0.067 - 0.019	2350	-0.003	-0.048 - 0.042
Evening	2819	0.023	-0.027 - 0.073	2608	0.007	-0.047 - 0.061

^aFull model was adjusted for age, BMI, work or day off at sample day, smoking status, education, use of painkillers evening before sample day, physical activity and the time from awakening to morning saliva sample.

En tilbagetransformation af logskalaen for kortisol giver et resultat for den fulde model som i tabel 5.

Tabel 5 transformation from log scale – shows the association between cortisol and PSS-score as:

$$\text{Cortisol} = \beta^{\text{PSS}} + \alpha + \varepsilon$$

Cortisol measurement	Full model ^a		
	N	β	95 % CI
07 population			
Mean	3351	0.995	0.965 - 1.026
Morning	3436	0.987	0.952 - 1.023
Evening	3746	1.000	0.959 - 1.042
09-population			
Mean	2262	0.990	0.954 - 1.029

Morning	2350	0.997	0.953 - 1.042
Evening	2608	1.007	0.954 - 1.062

^aFull model was adjusted for gender, age, BMI, work or day off at sample day, smoking status, education, alcohol consumption, use of painkillers evening before sample day, physical activity and the time from awakening to morning saliva sample.

En lokal regression for populationen med en PSS-score på 2,75 og over (sv.t. til det andet sorte linjestykke i figur 8 E-F) viser i den ujusterede model en signifikant negativ association mellem meankortisol og PSS-score (N= 693, $\beta=-0,153$, 95%CI: -0,275 – -0,031, P=0,01 for 2007) (N= 336, $\beta=-0,228$, 95%CI: -0,389 – -0,067, P=0,01 for 2009).. Denne association ses også ved lignende analyse på morgenmålingen i 2009 (N= 354, $\beta=-0,207$, 95%CI: -0,391 – -0,022, P=0,03). I den fuldt justerede model som beskrevet i tabel 4 er der stadig en signifikant negativ hældning for kortisol mean i 2009 ($\beta=-0,181$, 95%CI: -0,357 – -0,005, p=0,03). I 2007 var denne tenderende ($\beta=-0,112$, 95%CI: -0,236 – 0,012, p= 0,08), men dog ikke signifikant. Ingen andre kortisolanalyser for denne del af populationen var signifikant i den fulde model, og subpopulationens hældning var ikke signifikant forskellig fra resten af populationen.

Tilbagetransformeret svarer denne hældning for subpopulationen i 2009 til at hvert points stigning i PSS udover 2,75 medfører et fald på 16,5 % (95%CI 0,005% – 0,30%) i mean-kortisolniveau.

Diskussion

Hypotesen for studiet var, at en oplevelse af mental stress gennem længere tid er associeret til øget HPA-akse-aktivitet. Studiets resultater understøtter ikke denne hypotese. I studiet findes ingen signifikant lineær sammenhæng mellem PSS-score og kortisolniveau, og en evt. tendens for sammenhængen er faktisk negativ, således en stigning i PSS-score medfører et fald i kortisolniveau. Som en del af data-eksplorationen blev der lavet LOESS-kurver, der ved deres udseende gav ophav til en ny hypotese: Stressopfattelse målt ved PSS har ingen påvirkning på kortisoludskillelse indtil en vis tærskelværdi, hvorefter kortisoludskillelsen falder ved yderligere stigning i PSS-score. Analyser viste, at en sådan 2 -iniemodell ikke var signifikant bedre end den originale 1-liniemodell. Faldet i kortisolniveau var heller ikke signifikant for subpopulationen over knæpunktet i forhold til sammenhængen op til knæpunktet – hverken i 2007 eller 2009. Hvad der dog gælder, er, at populationen over tærskelværdien (PSS=2,75) har signifikant aftagende mean-kortisolniveau.

Desuden fandtes en signifikant aftagende morgenkortisolværdi for populationen over tærkselværdien i 2009. Disse signifikante sammenhænge forsvinder for 2007-populationen og for morgenmålingen i 2009-populationen, når der tages højde for kovariater i den fulde model. For mean-kortisol i 2009, der forbliver signifikant efter justering for kovariater, fandtes, at der over tærskelværdien var et fald på 16,5 % i mean-kortisolniveau for hvert points stigning i PSS-score i den fulde model. En PSS-score på 2,75 ligger begge år omkring 90 percentilen for populationen, og det virker biologisk plausibelt, at kun ca. 10% af befolkningen har en så stor opfattelse af stress, at de kan forventes at have en fysisk påvirkning af det.

For at sætte dette fald på 16,5 % pr stigning i PSS-point i perspektiv angiver den danske lægehåndbog en maksimumsgrænse på normal daglig udskillelse af kortisol som værende over 10 gange højere end minimumsgrænsen(43). Det er altså ikke unormalt, at kroppen varierer meget i mean-kortisolniveau og 16,5 % fremstår i den sammenhæng som et meget moderat fald, der ikke kan tænkes at have synderlig effekt i helbredsøjemed. I værst tænkelige tilfælde kan en person stige fra en PSS-score på 2,75 til en PSS-score på 5,0, hvilket vil medføre et samlet kortisolfald på ca. 33% – et lidt større, men, grundet kortisols store variabilitet, heller ikke noget, der kan tænkes at være helbredsskadeligt. Det postuleres dog ikke, at opfattet stress ikke kan medføre sygdom – blot at det ikke virker sandsynligt virkningsmekanismen alene går gennem kortisol. Der kan eksempelvis være en tilgrundliggende determinant for både stressopfattelse og kortisoludskillelse, som evt. kunne tænkes at have helbredsmæssige konsekvenser, samt at stressopfattelse selvfølgelig kunne tænkes at have anden påvirkning af kroppen end blot gennem kortisol – eksempelvis som tidligere omtalt via DHEA-S. Det skal desuden holdes for øje, at de 33 % er et gennemsnitligt fald, og der derfor godt kan forekomme klinisk relevante fald hos enkelte individer, samt at den normale individuelle variation, godt kan være mindre end en faktor 10.

Studiets resultater stemmer godt overens med det meste øvrige litteratur på området(11). En gennemgang af litteraturen på området viste, at enkelte kortisolmålinger i løbet af dagen som brugt i dette studie, ikke har vist nogen stærk association mellem opfattet stress og kortisol. Således rapporterede kun 11% af fundne studier, sv.t. til to, en signifikant sammenhæng med dette mål for kortisol. De to studier, som finder en signifikant eller nærsignifikant sammenhæng mellem PSS og enkelte kortisolmålinger i løbet af dagen, er studiet af Wahbeh et al(28)samt studiet af O'Connor et al(2). I studiet af Wahbeh et al, er det 15 personer, der viser en association pegende mod, at forhøjet PSS giver forhøjet kortisol 30 minutter efter opvågning(P=0,10). Der er i studiet udført i alt 5 kortisolmålinger i løbet af dagen plus yderligere 5 på en kontrolgruppe, og da ingen af de andre

nævnes, er det nok ikke en urimelig antagelse at disse ikke viser nogen association. Det virker derfor let at henføre den nærsignifikante association som en tilfældighed. I studiet af O'Connor et al, er det i alt 80 personer, der viser en negativ association mellem PSS og kortisolmålinger i løbet af dagen ($P=0,02$). Der er tidligere sorteret 23 personer fra, der var mistænkt for non-adherence. Før denne frasortering var associationen mellem PSS og kortisol mindre stærk ($0,053$). Grupperne (high stress og low stress) i dette studie er rekrutteret på en speciel måde, hvor der fra starten af er reklameret efter personer, der følte sig meget stressede og personer der følte sig lidt stressede. Efterfølgende deltagerne i de 2 grupper scoret på PSS10-skalaen, og personer med en score under 14 i highstress-gruppen, blev frasorteret, mens personer med en score over 14 i lowstress-gruppen også blev sorteret fra. Dette kan give ophav til selektionsbias, der viser sig i det endelige resultat.

Svagheder i dette studie er bl.a. deltagelsesraten på 45 %. Som tidligere nævnt har forudgående analyser vist, at selvom deltagergruppen adskilte sig fra ikke-deltagergruppen hvad angår køn, alder, social klasse og sygefravær, så er der ingen grund til at tro dette burde føre til systematisk bias hvad angår associationen mellem psykosocialt arbejdsmiljø og psykisk helbred(43). Dog udelukker disse analyser ikke, at denne bias kan forekomme på andre områder – som eksempelvis i dette studie.

Der er desuden sket en uforklarlig stigning på over 10 % i gennemsnitlig kortisolniveau mellem 2007 og 2009, som gør det svært at sammenligne årene med hinanden, hvorfor denne del fra den oprindelige protokol er frafaldet.

Studiet er bygget op som to tværsnitstudier og kan derfor ikke vise noget om hvilken vej associationen mellem opfattet stress og kortisol løber. Det er i hypotesen antaget, at kortisol er afhængig af opfattet stress og ikke omvendt. Dog kan det sagtens tænkes, at HPA-aksen har betydelig indflydelse på opfattelsen af stress, og måske endda kan fungere som en stressor i sig selv. Det virker mindre sandsynligt, at udefrakommende psykiske stressorer påvirker HPA-aksen direkte. PSS-skalaen, som er brugt i dette studie, er gentagne gange blevet valideret for 10-item versionens vedkommende(12). Dette studie bruger dog 4-item versionen, som i det oprindelige studie viste god korrelation med 10-item versionen, men ikke siden har gennemgået samme validering som denne(10). Senere studier har vist, at denne version ikke når samme kvalitet, hvad angår intern overensstemmelse, målt ved cronbach's alpha, og der er en generel mangel på undersøgelser vedr. versionens test-retest pålidelighed(12).

Gennemsnitsværdien for kortisol er ment som et udtryk for det gennemsnitlige kortisol niveau gennem hele døgnet, men eftersom den kun er baseret på 2 målinger, kan det diskuteres om den reelt kan bruges som udtryk for dette. Gennemsnitsværdien gav dog et bedre fit end morgenværdien og aftenværdien for sig. Som det ses af LOESS-kurverne i figur 9 har morgenværdien et forløb, der minder mere om gennemsnitskurven end aftenværdien – noget som også afspejler sig i regressionskoefficienterne, der, dog uden at være signifikante, viser en større effekt af PSS på morgenkortisolmålinger, end tilfældet er for aftenmålingerne.

Et bedre mål for kortisol end enkeltmålinger og gennemsnit ville i denne sammenhæng ifølge litteraturen være AUC for CAR, hvor hele 80% af fundne studier rapporterede en association – overvejende en negativ association, men et enkelt studie fandt en signifikant positiv association mellem PSS-score og kortisol.

Kortisol er som tidligere nævnt påvirket af en enorm mængde faktorer(17). Kovariaterne udvalgt i dette studie er valgt på baggrund af tidligere analyser i datasættet, samt hvad der lader til at være enighed om i litteraturen(17). Det kan ikke afvises at andre faktorer kunne have været relevante at medtage i analysen.

Studiets helt klare styrke er dets størrelse, samt at det er gentaget 2 år senere. Alle andre fundne studier tilsammen har kun 1393 deltagere, mens dette studie har 4264 deltagere i 2007 samt 3062 i 2009.

Konklusion

Studiet viser ingen signifikant sammenhæng mellem en opfattelse af stress gennem længere tid og HPA-aksen. I dataeksplorationen blev gjort en interessant observation omkring en mulig tærskelværdi for PSS-score, hvilket kan give anledning til yderligere overvejelse omkring sammenhængen mellem opfattet stress og kortisol, om end denne sammenhæng må tænkes at have lille helbredsmæssig betydning.

Referencer

1. Schulze E, Laudenslager M, Coussons-Read M. An exploration of the relationship between depressive symptoms and cortisol rhythms in Colorado ranchers. *JRuralHealth*. 2009;25(1):109-13.
2. O'Connor DB, Hendrickx H, Dadd T, Elliman TD, Willis TA, Talbot D, et al. Cortisol awakening rise in middle-aged women in relation to psychological stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(10):1486-94. Epub 2009/06/13.
3. Nicolson NA, van DR. Salivary cortisol patterns in vital exhaustion. *JPsychosomRes*. 2000;49(5):335-42.
4. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*. 1936;138:32-.
5. Kristenson M, Garvin P, Lundberg U. Introduction - Why this book. In: Kristenson M, Garvin P, Lundberg U, editors. *The Role of Saliva Cortisol Measurement in Health and Disease*: Bentham Science Publishers; 2011. p. 3-16.
6. Mason J. A review of psychoendocrine research on the pituitary-adrenal cortical system. *Psychosom Med*. 1968;30(5):Suppl:576-607.
7. Ursin H. The psychology in psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*. 1998;23(6):555-70.
8. Ursin H, Eriksen HR. The cognitive activation theory of stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2004;29(5):567-92.
9. Murison R, Overmier JB. Parallelism among stress effects on ulcer, immunosuppression and analgesia: commonality of mechanisms? *Journal of physiology, Paris*. 1993;87(4):253-9. Epub 1993/01/01.
10. Cohen S, Kamarck T, Mermelstein R. A global measure of perceived stress. *JHealth SocBehav*. 1983;24(4):385-96.
11. Halford C, Jonsdottir IrH, Eek F. Perceived Stress, Psychological Resources and Salivary Cortisol. In: Kristenson M, Garvin P, Lundberg U, editors. *The Role of Saliva Cortisol Measurement in Health and Disease* 2011. p. 67-86.
12. Lee E-H. Review of the Psychometric Evidence of the Perceived Stress Scale. *Asian Nursing Research*. 2012;6(4):121-7.
13. Golden-Kreutz D, Browne M, Frierson G, Andersen B. Assessing stress in cancer patients: a second-order factor analysis model for the Perceived Stress Scale. *Assessment*. 2004;11(3):216-23.
14. Barrett EJ. The Adrenal gland. In: Boron WF, Boulpaep EL, editors. *Medical Physiology*. 2. ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2009.
15. Murphy PEP. Glucocorticoids, Overview. In: Fink G, editor. *Stress Science: Neuroendocrinology*: Academic Press; 2007. p. 150 - 62.
16. Thorn L, Hucklebridge F, Evans P, Clow A. Suspected non-adherence and weekend versus week day differences in the awakening cortisol response. *Psychoneuroendocrinology*. 2006;31(8):1009-18. Epub 2006/08/01.
17. Kudielka BM, Gierens A, Hellhammer DH, Wust S, Schlotz W. Salivary cortisol in ambulatory assessment--some dos, some don'ts, and some open questions. *Psychosom Med*. 2012;74(4):418-31. Epub 2012/05/15.
18. Putterman E, Linden W. Cognitive dietary restraint and cortisol: importance of pervasive concerns with appearance. *Appetite*. 2006;47(1):64-76. Epub 2006/04/21.
19. Edwards S, Hucklebridge F, Clow A, Evans P. Components of the diurnal cortisol cycle in relation to upper respiratory symptoms and perceived stress. *PsychosomMed*. 2003;65(2):320-7.

20. van Eck MM, Nicolson NA, Berkhof H, Sulon J. Individual differences in cortisol responses to a laboratory speech task and their relationship to responses to stressful daily events. *BiolPsychol.* 1996;43(1):69-84.
21. van Eck MM, Berkhof H, Nicolson N, Sulon J. The effects of perceived stress, traits, mood states, and stressful daily events on salivary cortisol. *PsychosomMed.* 1996;58(5):447-58.
22. Pruessner JC, Hellhammer DH, Kirschbaum C. Burnout, perceived stress, and cortisol responses to awakening. *PsychosomMed.* 1999;61(2):197-204.
23. Edwards S. Components of the Diurnal Cortisol Cycle in Relation to Upper Respiratory Symptoms and Perceived Stress. *Psychosomatic Medicine.* 2003;65(2):320-7.
24. Schwarz KA, Dunphy G. An examination of perceived stress in family caregivers of older adults with heart failure. *ExpAging Res.* 2003;29(2):221-35.
25. Abercrombie HC, Giese-Davis J, Sephton S, Epel ES, Turner-Cobb JM, Spiegel D. Flattened cortisol rhythms in metastatic breast cancer patients. *Psychoneuroendocrinology.* 2004;29(8):1082-92. Epub 2004/06/29.
26. Tull ES, Sheu YT, Butler C, Cornelious K. Relationships between perceived stress, coping behavior and cortisol secretion in women with high and low levels of internalized racism. *JNatlMedAssoc.* 2005;97(2):206-12.
27. Gallagher-Thompson D, Shurgot GR, Rider K, Gray HL, McKibbin CL, Kraemer HC, et al. Ethnicity, stress, and cortisol function in Hispanic and non-Hispanic white women: A preliminary study of family dementia caregivers and noncaregivers. *AmJGeriatrPsychiatry.* 2006;14(4):334-42.
28. Wahbeh H, Kishiyama SS, Zajdel D, Oken BS. Salivary cortisol awakening response in mild Alzheimer disease, caregivers, and noncaregivers. *Alzheimer DisAssocDisord.* 2008;22(2):181-3.
29. Farag NH, Moore WE, Lovallo WR, Mills PJ, Khandrika S, Eichner JE. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: relative contributions of perceived stress and obesity in women. *J Womens Health (Larchmt).* 2008;17(10):1647-55. Epub 2008/12/04.
30. Lasikiewicz N, Hendrickx H, Talbot D, Dye L. Exploration of basal diurnal salivary cortisol profiles in middle-aged adults: associations with sleep quality and metabolic parameters. *Psychoneuroendocrinology.* 2008;33(2):143-51. Epub 2007/12/25.
31. Simpson EE, McConville C, Rae G, O'Connor JM, Stewart-Knox BJ, Coudray C, et al. Salivary cortisol, stress and mood in healthy older adults: the Zenith study. *Biological psychology.* 2008;78(1):1-9. Epub 2008/02/05.
32. Mondelli V, Dazzan P, Hepgul N, Di Forti M, Aas M, D'Albenzio A, et al. Abnormal cortisol levels during the day and cortisol awakening response in first-episode psychosis: the role of stress and of antipsychotic treatment. *Schizophrenia research.* 2010;116(2-3):234-42. Epub 2009/09/16.
33. Klatt MD, Buckworth J, Malarkey WB. Effects of low-dose mindfulness-based stress reduction (MBSR-ld) on working adults. *Health education & behavior : the official publication of the Society for Public Health Education.* 2009;36(3):601-14. Epub 2008/05/13.
34. Mikolajczak M, Quoidbach J, Vanootighem V, Lambert F, Lahaye M, Fillee C, et al. Cortisol awakening response (CAR)'s flexibility leads to larger and more consistent associations with psychological factors than CAR magnitude. *Psychoneuroendocrinology.* 2010;35(5):752-7. Epub 2009/12/05.
35. Turner-Cobb JM, Palmer J, Aronson D, Russell L, Purnell S, Osborn M, et al. Diurnal cortisol and coping responses in close relatives of persons with acquired brain injury: a longitudinal mixed methods study. *Brain injury : [BI].* 2010;24(6):893-903. Epub 2010/05/04.

36. Stalder T, Evans P, Hucklebridge F, Clow A. Associations between the cortisol awakening response and heart rate variability. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;36(4):454-62. Epub 2010/08/25.
37. Bohbot VD, Gupta M, Banner H, Dahmani L. Caudate nucleus-dependent response strategies in a virtual navigation task are associated with lower basal cortisol and impaired episodic memory. *Neurobiology of learning and memory*. 2011;96(2):173-80. Epub 2011/05/05.
38. Groeneveld MG, Vermeer HJ, van Ijzendoorn MH, Linting M. Caregivers' cortisol levels and perceived stress in home-based and center-based childcare. *Early Childhood Research Quarterly*. 2012;27(1):166-75.
39. Lennartsson AK, Theorell T, Kushnir MM, Bergquist J, Jonsdottir IH. Perceived stress at work is associated with attenuated DHEA-S response during acute psychosocial stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2013. Epub 2013/02/23.
40. Morgan Cr, Southwick S, Hazlett G, Rasmusson A, Hoyt G, Zimolo Z, et al. Relationships among plasma dehydroepiandrosterone sulfate and cortisol levels, symptoms of dissociation, and objective performance in humans exposed to acute stress. *Arch Gen Psychiatry*. 2004;61(8):819-25.
41. Labbate LA, Fava M, Oleshansky M, Zoltec J, Litfman A, Harig P. Physical Fitness and Perceived Stress. *Psychosomatics*. 1995;36(6):555-60.
42. Cohen S, Janicki-Deverts D, Doyle WJ, Miller GE, Frank E, Rabin BS, et al. Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(16):5995-9. Epub 2012/04/05.
43. Kortisol. 2011 [updated 29.03.2011; cited 2013 10.07]; Available from: <https://www.sundhed.dk/sundhedsfaglig/laegehaandbogen/undersogelser-og-proever/klinisk-biokemi/blodproever/kortisol/>.
44. Hansen AM, Thomsen JF, Kaergaard A, Kolstad HA, Kaerlev L, Mors O, et al. Salivary cortisol and sleep problems among civil servants. *Psychoneuroendocrinology*. 2012;37(7):1086-95. Epub 2012/01/03.

Bilag

Bilag 1.

Spørgsmål for PSS i prismestudiet:

I løbet af de sidste 4 uger, hvor ofte ?	
har du følt dig uden indflydelse på væsentlige ting i dit liv?	1 = Aldrig 2 = Næsten aldrig 3 = Engang imellem 4 = Ret ofte 5 = Meget ofte
har du haft tillid til dine egne evner til at klare dine personlige problemer?	1 = Aldrig 2 = Næsten aldrig 3 = Engang imellem 4 = Ret ofte 5 = Meget ofte
har du oplevet medgang	1 = Aldrig 2 = Næsten aldrig 3 = Engang imellem 4 = Ret ofte 5 = Meget ofte
har du følt, at vanskeligheder hobede sig op, så du ikke kunne overkomme dem?	1 = Aldrig 2 = Næsten aldrig 3 = Engang imellem 4 = Ret ofte 5 = Meget ofte

Bilag 2

Tabel over litteratur fra Halford et al.(1), ført op til februar 2013 fra og med Klatt 2009.

References	References Outcome	Study design/group characteristics	Sampling	Statistical approach for cortisol measure	Statistical analysis, cortisol in relation to outcome	Results	Discussion
Van Eck 1996(2)	PSS10 Upper (≥ 16 , HS) vs lower (≤ 10 , LS) tertile of PSS10 compared	Design: C-S/Exp No.:87 (42 HS, 45 LS) M/W: 87/0 Age: 42.1 years (27-57 years) Group: Male white-collar workers Excl: Serious chronic illness, endocrine disorder, or medications known to affect cortisol levels ($n=316$). 92 recruited, 5 excluded due to missing data	Days: 1 (exp) Samples per day: 4 (5) Times for sampling: Exp: (T1) upon arrival, (T2) after the 10 min preparation, (T3) after the 5-min presentation, and (T4) after 15-min relaxation. For 49 subjects a fifth saliva sample (T5) was taken 50 min after the first assessment Setting: Response to exp speech test (SIST)	Measurement(s): b4. Repeated measures MANOVA with interaction c4. AUC response to speech task, baseline=T1 Cortisol data: Fifth root transformation (cortisol 0.2)	Repeated measures MANOVA; time/group/time \times group interaction Confounders: Baseline cortisol was included as covariate	No difference in response to speech test between high and low stress groups	Individual differences in current distress (especially anticipator distress) may be more important determinants of cortisol secretion than perceived stress level, which is a measure of more chronic distress
Van Eck 1996(3)	PSS10 Upper and lower tertile (<10 or >16) of PSS10 compared	Design: C-S No.: 87 M/W: 87/0 Age: 42.1 years (27-57 years) Group: Male white-collar workers; 316 completed questionnaire. $n=87$ (41+46) subjects were recruited Excl: History of serious chronic illness, endocrine disorder, medications known to affect cortisol, treatment (past or current) for mental health problem	Days: 5 Samples per day: 10 Times for sampling: semi-random intervals of approx. 90 min, between 08:00 h and 22:00 h	Measurement(s): b3. Slope from thirddegree polynomial fitted curve Cortisol data: Five extreme cortisol values (>1200 ng/dl) were deleted before analysis	Multilevel model/hierarchical linear model with nesting levels: measurement level and person level Matched for age, marital status, household composition. Adjustment for alcohol, coffee, food intake, smoking, physical exertion, trait anger, psychosomatic symptoms, life events, chronic difficult, positive affect	The effect of perceived stress on cortisol slope was not significant. PSS by time of day interaction term was also non-significant	
Pruessner 1999(4)	PSS14 High vs low stress according to median split in	Design: No.: 66 M/W: 24/42 Age: 43.6 years (SD 9.5) Group: Teachers	Days: 2+1 dexamethasone 0.5 mg Samples per day: 4 Times for sampling: awakening and +15,	Measurement(s): b1. Increase after awakening d. Dexamethasone	High vs low stress groups entered in ANOVAs. Three-way (group by day by time) within-	High levels of perceived stress were associated with stronger increase of cortisol levels after awakening	We suggest that a key factor for differentiation between

	PSS	Excl: Medication except OC	30, and 60 min		subject ANOVAs with repeated measurements on two factors (day by time) Confounders: Tested: OC, alcohol, total hours of sleep, time of awakening, and self-report of health status (acute stress) sex, age, height, and body weight	day after dexamethasone. No associations during days without dexamethasone	burnout scale and PSS is the chronicity and exhaustion. The PSS asks for the ability to cope with the current stress load, and does not cover feelings of exhaustion. However, the larger increases of cortisol levels after dexamethasone seen in teachers who reported high levels of stress extends the recent findings to suggest a decreased feedback sensitivity in these subjects
Nicolson 2000(5)	PSS10	Design: C-S No.: (29+30)=59 M/W: 59/0 Age: 51.1 (4.5)/52.2 (5.1) years Group: VE subjects + controls Excl: smokers, several diseases P rate: selected from 577/1600 (36.1%)	Days:2 Samples per day: 2/6 Times for sampling: Day 1: 21:30 h and 22:35 h Day 2: 06:55 h, 07:15 h, 11:00 h, 16:00 h, 17:40 h and 19:00 h Setting: Day 1 SIST speech test, however analyses of cortisol-PSS did not include SIST response sample	Measurement(s): a5. All 7 samples (2 days) except second day 2 sample a2. Day 2 Cortisol data: Logtransformed	Multiple linear regression analysis Confounders: Introduced in model: VE, perceived stress, sleep quality, and current fatigue. (BMI, alcohol, coffee, and number of recent life events were unrelated to hormonal measures in preliminary analyses, hence not included in analyses)	PSS did not predict mean level of all measures or morning cortisol levels	Not discussed (not primary aim)
Edwards 2003(6)	PSS	Design: C-S No.: 36 (34 included in analyses) M/W: 10/26 Age: 34 years (range 23-	Days: 2 Samples per day: 8 Times for sampling: awakening (0), +15, 30, and 45 min + 4	Measurement(s): b1. Mean increase (2-4)-1) b3. Slope 3-12 h post awakening	t-test, Pearson correlation, chi squared analyses undertaken to check that effect sizes	High morning AUC group showed higher PSS than low AUC group. No associations between cortisol and	Not primary aim. The effect (AUC-PSS) was not apparent for

		52 years) Group: Healthy students Excl: Psychiatric, neuroendocrine, eating disorder, medication that may have affected cortisol concentrations	samples collected at 3-h intervals through the day	c1. Morning (1-4) c3. 12-h excluding morning peak (1, 5-8) Median split of AUC/DAUC and mean increase Cortisol data: Square root transformed. Data +2 SD were excluded. Participants whose "difference between days" scores were +1 SD above the mean difference were excluded from further analyses	were not sensitive to inclusion or exclusion of males, smokers, OC takers. No such sensitivity was found, thus results reported for total group	DAUC (AUC during 12-h), mean increase or slope	groupings based on DAUC, suggesting the possible importance of absolute waking period values of cortisol for identifying individual differences in stress experience. Note that similar slope statistics, like any summary measure, can be the result of very different profiles
Schwarz 2003(7)	PSS14	Design: No.: 75 M/W: 20/55 Age: 63 (15.3) years Group: Caregivers of family members with heart failure and noncaregivers Incl: English-speaking, no hospice client or cognitive impairment	Days:1 Samples per day: 1 Times for sampling: Mid-morning Setting: Caregivers and non-caregivers	Measurement(s): a2. Cortisol data: Continuous or categorical (5 categories)	Correlation	No correlation between PSS and cortisol	PSS may not reflect current stressful events. One's ability to adjust to chronic stress is affected by its appraisal, and with adjustment to chronic stress, cortisol secretion no longer increases. Individuals who are socially supported may appraise stress as less threatening than those who are unsupported. Limitations: only one sample
Abercrombie 2004(8)	PSS	Design: C-S No.: 31 M/W: 0/31 Age: 56 years (SD 13) Group: Healthy controls	Days: 3 Samples per day: 4 Times for sampling: waking, 12:00 h, 17:00	Measurement(s): a5. All 3x4 samples; 4x4?? b3. Diurnal slope Cortisol data: Sample	Correlation cortisol-PSS	A tendency ($r=0.32$, $p=0.07$) of significant, positive, relationship between slope and PSS. No significant	These findings suggest that the cortisol diurnal slope may have

		(from case-control study of breast cancer) Excl: Incl: Age >30 years, not pregnant, no psychopathology, not treated with systemic corticosteroids, no prior history of cancer P rate: 9 excluded because of unwillingness	h, and 21:00 h	time points >4 SD from the mean time for the respective time point were excluded. Because all raw values were in the physiological range (0.01-2.54 µg/dl) no data were excluded as outliers. Log-transformed cortisol data		correlations with mean cortisol	important but different correlates in healthy women versus those with breast cancer. Among patients, no correlations were found between cortisol and PSS among patients
Tull 2005(9)	PSS10	Design: C-S No.: 53 M/W: 0/53 Age: 36.9 (9.2)/38.3(9.3) years Group: African-Caribbean women with high or low levels of INR Excl: Diabetes Incl: 25-60 years P rate: Recruited from 244/317 (77%)	Days: 1 Samples per day: 2 Times for sampling: 08:00 h, 22.30 h	Measurement(s): b3. Morning-evening	Spearman correlation. Partial correlations adjusted for: age + education, and coping (BDC)	Zero order $R_s = -0.32$, $p = 0.022$ (higher stress = flatter curve). Stratified analyses (high vs low level of INR) showed sign only for women with high INR. Partial correlation also significant	Only discussed difference among women with high or low INR. Metabolic abnormalities develop over time with continued exposure to an environment that affects cortisol secretion. It is likely that a high level of INR over an extended period of time is needed for the significant relationships among PSS and cortisol to occur
Thorn 2006(10)	PSS14	Design: C-S No.: 48 (2 dropouts) M/W: 8/40 Age: 20.5 years (SD 3.9) (range 18-36 years) Group: Psychology students Excl: Medications, acute or chronic illness	Days: 4 (2 work days, 2 weekend days) Samples per day: 4 Times for sampling: awakening, +15, 30, 45 min	Measurement(s): b1. Mean increase (morning) c1. Cortisol data: 4 day mean of each measure. Square root transformed	Correlation. Multiple regression Confounders: Awakening time, state stress? (not described in detail)	PSS and mean cortisol AUC correlated inversely ($r = -0.382$, $p = 0.011$). PSS significant independent predictor of cortisol AUC in multiple regression analyses (negative sign). Mean increase did not correlate with PSS scores	Not primary aim. Negative correlation (as opposed to positive) depending on more females? Previous studies have shown negative associations among women and results for women and men may differ. The unequal number of

							men/women did not allow for stratified analyses. Supplementary analyses excluding non-responders (suspected nonadherence) showed similar effect sizes
Putterman 2006(11)	PSS14	Design: C-S No.: 170 M/W: 0/170 Age: 20.4 (3.2) years Group: Undergraduate students Excl: Medication that may affect cortisol, night shift	Days:1 Samples per day:2 Times for sampling: 30 min post awakening, +6-8 h Setting: Undergraduate students examined concerning dietary restraint and stress	Measurement(s): a2. a3. +6-8 h b3. Cortisol data: >+6 SD from mean excluded	Correlation	No significant correlation between cortisol and PSS	Not primary aim. Given that the PSS assesses stress levels over the previous month, while the cortisol sampling may reflect changes in HPA activation over the last half hour or so, the PSS may tap stress more generically, and may not be sensitive to the more subtle, insidious demands associated with cognitive dietary restraint.
Gallagher-Thompson 2006(12)	PSS14	Design: C-S No.: 45 M/W: 0/45 Age: 40-70 years Group: Caregivers and non-caregivers Incl: At least high school education P rate: Selected (see inclusion) from $n=83$	Days: 3 Samples per day: 3 Times for sampling: 08:00 h, 17:00 h, 21:00 h	Measurement(s): a2. a3. a4. b3. Slope Cortisol data: Logtransformed	Regression	PSS did not predict log cortisol values at any time point, or the slope over day	Not primary aim, association between PSS and cortisol not discussed Limitations: Small sample, no information about overall health status, lifestyle factors, etc
Wahbeh 2008(13)	PSS	Design: C-S No.: 15+15 M/W: Age: Group: Caregivers for Alzheimer disease	Days: Samples per day: 5 Times for sampling: <5 min post awakening, +30 min, before lunch, 1 h after	Measurement(s): a2. Only +30 min values presented Cortisol data:	Correlations	At 30 min after waking time, trend for significant, positive, relationship between PSS and cortisol among caregivers; $r = 0.44$, $p =$	The PSS examines perceptions of stress rather than actual stress events

		patients and non-caregivers Excl: Non-caregivers, medication known to affect central nervous system function, significant psychiatric disease, insulin-dependent diabetes, uncontrolled hypertension, and other significant medical illnesses. Four caregivers excluded due to diabetes	lunch, 23:00 h			0.10	
Faraq 2008(14)	PSS	Design: C-S No.: 78 M/W: 0/78 Age: 46 years (range 24-72 years) Group: Employees at primary school P rate: From larger study sample ($n=202$)	Days: 1 Samples per day: 7 Times for sampling: Wakeup, wakeup + 40 min, 11:00 h, 14:00 h, 18:00 h, 21:00 h, and bedtime	Measurement(s): b3. Morning peak (awakening + 40) - mean evening (21:00 h and bedtime) Cortisol data: Log-transformed	Linear regression Confounders: BMI, waist circumference, age, SES included in model, medication use and comorbidities (as present vs absent)	Perceived stress predicted impairment of normal diurnal cortisol rhythm, seen in a reduced morning to evening cortisol difference in the sample as a whole. Stress predicted approximately 11% of the variability in diurnal cortisol variation	Chronic stress, with its characteristic repeated and prolonged cortisol peaks, causes a rigid cortisol secretion pattern with reduced daily variation. Thus the peak nadir difference in cortisol levels is smaller in individuals exposed to high levels of chronic stress. The resultant loss of the magnitude of the peak nadir variation is seen as a degraded signal and an indicator of HPA axis dysfunction
Lasikiewicz 2008(15)	PSS10	Design: C-S No.: 147 M/W: 68/79 Age: 46.2±7.18 years Group: Healthy adult volunteers Excl: Prescribed	Days: 1 ($n = 64$) or 3 ($n = 83$) days Samples per day: 8 Times for sampling: 0, +15, 30 and 45 min and at +3, 6, 9 and 12	Measurement(s): a5. Mean of measures over the day from sample 3 (45 min post awakening) b3. Slope from sample 3 (45 min post awakening)	K-means cluster to extract profiles. ANOVA for PSS between clusters. Linear regression Confounders: Age, gender included in model	No sign associations between PSS and cortisol	Participants were not selected on the basis of their perceived stress score and as a

		medication, smokers P rate: 180 recruited, 33 failed	h post awakening	c3. Cortisol data: Logtransformed			result, the sample were not suffering extreme stress levels compared with those of previous studies
Simpson 2008(16)	PSS	Design: C-S No.: 41 M/W: 23/18 Age: 61.8 years (SD 4.8) (range 55-69 years) Group: Recruited from community organizations serving older adults in Northern Ireland Excl: Smokers (>10/d), medication that might affect cortisol or mood, BMI >35, physical or mental health problems, depression or dementia P rate: 50 asked to participate, 3 declined, 6 did not leave sufficient number of samples	Days: 7 consecutive days Samples per day: 2 Times for sampling: 02:30 h and 22.30 h	Measurement(s): a3. a4. Cortisol data: 10 logtransformed. Cortisol normal reference ranges was taken as between 4 and 28 nmol/L and extreme cortisol concentrations were assumed to be those > 44 nmol/L	Pearson's bivariate correlations Confounders: See exclusion criteria (none excluded)	There was no association between salivary cortisol levels and perceived stress	Results from analysis PSS-cortisol mentioned only in abstract
O'Connor 2008(17)	PSS10. High (PSS >14) or low (PSS <14) stress, were compared	Design: C-S No.: 118 M/W: 0/118 Age: 49.4 (5.8) years Group: HS (n = 70) vs LS (n = 48) stress Excl: Significant current or past medical history; hormonal disorders; steroid-based medication or recent users of recreational drugs, psychiatric history	Days: 2 Samples per day: 8 Times for sampling: awakening, + 15, 30, and 45 min, and 3, 6, 9 and 12 h post awakening	Measurement(s): a3. 3, 6, 9 and 12 h c1. Cortisol data: Logtransformed, mean of 2 days for each sampling time. Suspected nonadherence. No increase in cortisol between awakening and +15 or 30 min, on any of the days (12 LS, 17 HS)	Linear regression Confounders: Age, waist/hip ratio and educational attainment included as covariates. Menopause status did not differ between groups	Significant group difference. AURC measure ($p = 0.023$); HS secreted lower levels of cortisol compared with LS (largely dependent on +30 min sampling). Indication of a main effect for the cortisol diurnal mean ($p = 0.053$), HS group tended to secrete less cortisol throughout the day. When suspected non-adherent excluded, effect sign ($p = 0.02$)	Psychological stress may influence aspects of HPA axis regulation leading to a reduction in the release of cortisol throughout the day. These alterations may be determined by improved sensitivity to the negative feedback of glucocorticoids or by a reduction in the release of key hormones and releasing factors

							such as corticotrophin releasing factor from the hypothalamus. Limitations: HS and LS groups recruited separately, may have resulted in samples from populations that may differ in unknown way
Schulze 2009(18)	PSS	Design: C-S No.: 21 M/W: 12/9 Age: 53 years (SD 14.6) Group: Colorado ranchers P rate: 105 invited	Days: 9 (3 days per 2 week period), 3x2 weeks (representing high, medium, and low stress) Samples per day: 3 Times for sampling: Awakening, +30 min, before retiring	Measurement(s): b1. b3. Daytime cortisol decline	Correlation, Bonferroni adjustment	No significant associations. Marginal significant effect of smaller daytime cortisol decline and higher PSS scores ($r = -0.37, p = 0.053$)	Not primary aim, and no discussion about this. General discussion: the small sample size, low response rate. most of the participants lived in one town
Mondelli 2009(19)	PSS10	Design: C-S No.: 36 M/W: 26/10 Age: 27.3 years (SD 0.8) Group: Healthy controls	Days: 1 Samples per day: 5 Times for sampling: Awakening, +15, 30 and 60 min, 12:00 h, 20:00 h	Measurement(s): c1. c3.	Correlation Pearson's r	No significant correlations were found between perceived stress and cortisol levels, either diurnal or in the awakening response	
Klatt(20)	PSS10	Design: C-S/exp No.: 45 Age: 43.41 (SD 2.17) for exp, 46.50 (SD 1.89) Group: university employees Incl. 18<age<60, BMI<30, excersize<30min/day, Alchohol<2/day, caffeine<6/day, not pregnant or nursing,	Days: 2 Samples per day: 3 Times for sampling: at awakening(approx 7:00 am), at 1:00 pm, at 10:00 pm	Measurements: "daily saliva cortisol averages"		No significant correlation between baseline stress and cortisol	Cortisol levels can be affected by diet and physical activity, which is difficult to control in a study.

		Not yoga practitioners, No recent or chronic disease requiring medication.					
Mikolajczak(21)	PSS10 dichotomized to above and below the mean	Design: C-S No: 42 Age: 38 (SD 6.29) Group: Full Time employees of companies around the University of Liège. Incl: Male, 30<age<50, healthy, non-smokers	Days: 3 consecutive(Sunday Monday, Tuesday) Samples pr day: 5 Times for sampling: 0, 15, 30, 45, 60 min after awakening	Measurements: AUCground and AUCincrease during CAR	MANOVA Covariates: Waking hours, Confounders: age, BMI, marital status, number of children, sleep quality, wake up time.	High stress leads to lower CAR(P<0.001). Low stress leads to higher Δ CAR _{WE-WD} (P<0.01)– not significant for high stress individuals	Perhaps CAR flexibility is a better emotional predictor than the CAR itself.
Turner-Cobb(22)	PSS10	Design:C-S No:15(9) Age: Group: Close relatives of brain-injury patients Incl:	Days:4 (2 · 2 consecutive days) Samples pr day:4 Times for sampling: Awakening, noon 6 pm, 9 pm	Measurements: AUCi all day and AUCg all day		Not significant	
Stalder(23)	PSS14	Design: C-S No:38 M/W: 10/28 Age: Group: Incl:	Days:2 Samples pr day:1 Times for sampling: Awakening	Measurements: 2 day awakening mean		Not significant r=0.05 (P=0.78)	
Bohbot(24)	PSS14	Design: C-S No:41 Age: Group: volunteers Incl: Healthy, no psychiatric or neurological disorder.	Days: 2 days Samples pr day: 5 Times for sampling: 0 and 30 minutes after awakening and 11 am, 4 pm and 9 pm	Measurements: Average cortisol		Not significant r=0.065(p=0.685)	
Groeneveld(25)	PSS14 dicotomized with median split	Design: C-S No:71 Age: Group: Child	Days: 2(one work and one non work) Samples pr day: 4 Times for sampling:	Measurements: 1) cortisol levels on the four time points and 2) RDC		Significant positive correlation on workdays for RDC (r=0.30, P<0.05)	

		Caregivers Incl:	Awakening, 11 am, 3 pm and around 6 pm	$\frac{\Delta\text{Cortisol}_{11\text{am}-3\text{pm}}}{\text{Cortisol}_{11\text{am}}}$			
--	--	---------------------	---	--	--	--	--

Blå ramme viser at litteraturen ikke var medtaget i den oprindelige tabel.

1. Halford C, Jonsdottir IrH, Eek F. Perceived Stress, Psychological Resources and Salivary Cortisol. In: Kristenson M, Garvin P, Lundberg U, editors. *The Role of Saliva Cortisol Measurement in Health and Disease* 2011. p. 67-86.
2. van Eck MM, Nicolson NA, Berkhof H, Sulon J. Individual differences in cortisol responses to a laboratory speech task and their relationship to responses to stressful daily events. *BiolPsychol.* 1996;43(1):69-84.
3. van Eck MM, Berkhof H, Nicolson N, Sulon J. The effects of perceived stress, traits, mood states, and stressful daily events on salivary cortisol. *PsychosomMed.* 1996;58(5):447-58.
4. Pruessner JC, Hellhammer DH, Kirschbaum C. Burnout, perceived stress, and cortisol responses to awakening. *PsychosomMed.* 1999;61(2):197-204.
5. Nicolson NA, van DR. Salivary cortisol patterns in vital exhaustion. *JPsychosomRes.* 2000;49(5):335-42.
6. Edwards S, Hucklebridge F, Clow A, Evans P. Components of the diurnal cortisol cycle in relation to upper respiratory symptoms and perceived stress. *PsychosomMed.* 2003;65(2):320-7.
7. Schwarz KA, Dunphy G. An examination of perceived stress in family caregivers of older adults with heart failure. *ExpAging Res.* 2003;29(2):221-35.
8. Abercrombie HC, Giese-Davis J, Sephton S, Epel ES, Turner-Cobb JM, Spiegel D. Flattened cortisol rhythms in metastatic breast cancer patients. *Psychoneuroendocrinology.* 2004;29(8):1082-92. Epub 2004/06/29.
9. Tull ES, Sheu YT, Butler C, Cornelious K. Relationships between perceived stress, coping behavior and cortisol secretion in women with high and low levels of internalized racism. *JNatlMedAssoc.* 2005;97(2):206-12.
10. Thorn L, Hucklebridge F, Evans P, Clow A. Suspected non-adherence and weekend versus week day differences in the awakening cortisol response. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31(8):1009-18. Epub 2006/08/01.
11. Putterman E, Linden W. Cognitive dietary restraint and cortisol: importance of pervasive concerns with appearance. *Appetite.* 2006;47(1):64-76. Epub 2006/04/21.
12. Gallagher-Thompson D, Shurgot GR, Rider K, Gray HL, McKibbin CL, Kraemer HC, et al. Ethnicity, stress, and cortisol function in Hispanic and non-Hispanic white women: A preliminary study of family dementia caregivers and noncaregivers. *AmJGeriatrPsychiatry.* 2006;14(4):334-42.
13. Wahbeh H, Kishiyama SS, Zajdel D, Oken BS. Salivary cortisol awakening response in mild Alzheimer disease, caregivers, and noncaregivers. *Alzheimer DisAssocDisord.* 2008;22(2):181-3.
14. Farag NH, Moore WE, Lovallo WR, Mills PJ, Khandrika S, Eichner JE. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: relative contributions of perceived stress and obesity in women. *J Womens Health (Larchmt).* 2008;17(10):1647-55. Epub 2008/12/04.
15. Lasikiewicz N, Hendrickx H, Talbot D, Dye L. Exploration of basal diurnal salivary cortisol profiles in middle-aged adults: associations with sleep quality and metabolic parameters. *Psychoneuroendocrinology.* 2008;33(2):143-51. Epub 2007/12/25.

16. Simpson EE, McConville C, Rae G, O'Connor JM, Stewart-Knox BJ, Coudray C, et al. Salivary cortisol, stress and mood in healthy older adults: the Zenith study. *Biological psychology*. 2008;78(1):1-9. Epub 2008/02/05.
17. O'Connor DB, Hendrickx H, Dadd T, Elliman TD, Willis TA, Talbot D, et al. Cortisol awakening rise in middle-aged women in relation to psychological stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(10):1486-94. Epub 2009/06/13.
18. Schulze E, Laudenslager M, Coussons-Read M. An exploration of the relationship between depressive symptoms and cortisol rhythms in Colorado ranchers. *JRuralHealth*. 2009;25(1):109-13.
19. Mondelli V, Dazzan P, Hepgul N, Di Forti M, Aas M, D'Albenzio A, et al. Abnormal cortisol levels during the day and cortisol awakening response in first-episode psychosis: the role of stress and of antipsychotic treatment. *Schizophrenia research*. 2010;116(2-3):234-42. Epub 2009/09/16.
20. Klatt MD, Buckworth J, Malarkey WB. Effects of low-dose mindfulness-based stress reduction (MBSR-ld) on working adults. *Health education & behavior : the official publication of the Society for Public Health Education*. 2009;36(3):601-14. Epub 2008/05/13.
21. Mikolajczak M, Quoidbach J, Vanootighem V, Lambert F, Lahaye M, Fillee C, et al. Cortisol awakening response (CAR)'s flexibility leads to larger and more consistent associations with psychological factors than CAR magnitude. *Psychoneuroendocrinology*. 2010;35(5):752-7. Epub 2009/12/05.
22. Turner-Cobb JM, Palmer J, Aronson D, Russell L, Purnell S, Osborn M, et al. Diurnal cortisol and coping responses in close relatives of persons with acquired brain injury: a longitudinal mixed methods study. *Brain injury : [BI]*. 2010;24(6):893-903. Epub 2010/05/04.
23. Stalder T, Evans P, Hucklebridge F, Clow A. Associations between the cortisol awakening response and heart rate variability. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;36(4):454-62. Epub 2010/08/25.
24. Bohbot VD, Gupta M, Banner H, Dahmani L. Caudate nucleus-dependent response strategies in a virtual navigation task are associated with lower basal cortisol and impaired episodic memory. *Neurobiology of learning and memory*. 2011;96(2):173-80. Epub 2011/05/05.
25. Groeneveld MG, Vermeer HJ, van Ijzendoorn MH, Linting M. Caregivers' cortisol levels and perceived stress in home-based and center-based childcare. *Early Childhood Research Quarterly*. 2012;27(1):166-75.