

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV

Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Martin. Reincke

**Untersuchung der zirkadianen Rhythmik des Cortisols im Alter anhand
der populationsbasierten Studien KORA-Age I & II**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Laurenz Pflüger

aus

München

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Martin. Reincke

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Till Roennberg
Prof. Dr. Eva Grill

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Martin Bidlingmaier

Dekan: Prof. Dr. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 07.02.2019

Für meinen Vater

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Das Hormon Cortisol.....	1
1.1.1 Syntheseschritte.....	1
1.1.2 Regelkreis der Cortisolbildung.....	2
1.1.3 Wirkungsweisen des Cortisols.....	3
1.1.4 Die zirkadiane Rhythmik der Cortisolexpression.....	4
1.1.5 Die Pathologie des Cushing Syndroms.....	4
1.1.5.1 Definition.....	4
1.1.5.2 Epidemiologie.....	5
1.1.5.3 Klinik.....	6
1.1.5.4 Diagnostik.....	7
1.1.5.4.1 Cortisolbestimmung im 24 Stunden Sammelurin.....	8
1.1.5.4.2 Bestimmung von Cortisol im Mitternachtsspeichel.....	9
1.1.5.4.3 Dexamethasonhemmttest 1mg/12h.....	9
1.1.5.4.4 Dexamethasonhemmttest 2mg/24h.....	10
1.2 KORA-Age Studie.....	10
1.2.1 "Successful Aging"	10
1.2.2 Intention der KORA-Age Studie.....	12
1.2.3 Cortisol als Biomarker gesunden Lebens.....	12
1.3 Fragestellungen der Doktorarbeit.....	13
2 Material und Methoden.....	15
2.1 KORA-Age Studie I & II.....	15
2.1.1 Förderung, Finanzierung und teilnehmende Wissenschaftler.....	15
2.1.2 Studienteilnehmer und Studienphasen.....	15
2.1.3 Schriftliche Befragung zum Gesundheitsstatus.....	17
2.1.4 Telefoninterview zum Gesundheitsstatus.....	17
2.1.5 Untersuchung der Subgruppe aus der KORA-Age-Kohorte.....	18
2.1.6 Qualitätssicherung und Pilotstudie.....	19
2.2 Gewinnung der Speichelproben in KORA-Age I & II.....	20
2.3 Labormethodik.....	23
2.3.1 Bestimmung von Cortisol im Speichel.....	23
2.3.1.1 Testprinzip des kompetitiven Immunoassays.....	23
2.3.1.2 Messdurchführung im LIA.....	23
2.3.2 Bestimmung von Cortisol im Serum.....	24

2.3.2.1 Testprinzip des Chemilumineszenz-Immunoassays.....	24
2.3.2.2 Messdurchführung im LIAISON.....	24
2.3.3 Bearbeitung der zur Verfügung gestellten Probandendaten.....	25
2.3.4 Statistik.....	27
3 Ergebnisse.....	28
3.1 Korrelation des Cortisols zwischen der Cortisolbestimmung im Serum und der im Speichel in KORA-Age I.....	28
3.2 Vollständigkeit und Messung der Speichelproben in KORA-Age I	31
3.3 Vollständigkeit und Messung der Speichelproben in KORA-Age II.....	30
3.4 Vollständigkeit und Auswertung der Begleitscheine in KORA-Age I.....	31
3.5 Vollständigkeit und Auswertung der Begleitscheine in KORA-Age II.....	34
3.6 Beschreibung des Probandenkollektivs mit erfolgter Speichelmessung.....	36
3.7 Messergebnisse der Speichelproben „Abends“ in KORA-Age I & II.....	38
3.8 Formulierung von Ausschlusskriterien.....	39
3.8.1 Ungewöhnlich hohe Messergebnisse für das abendliche Cortisol.....	39
3.8.2 Cortisonbehandlung.....	40
3.8.3 Unmittelbares Rauchen vor der Probeabnahme.....	41
3.9 Messergebnisse der Speichelproben „Abends“ in KORA-Age I & II nach Anwendung der Ausschlusskriterien.....	42
3.10 Das Tagesprofil in KORA-Age I & II.....	44
3.11 Cortisol „Abends“ – ein longitudinaler Vergleich zwischen KORA-Age I und II.....	46
3.12 Einfluss der Abnahmezeit auf das Cortisol in der Abendmessung.....	49
3.13 Einfluss biometrischer Variablen auf das Cortisol in der Abendmessung.....	52
3.13.1 Geschlecht.....	52
3.13.2 BMI.....	52
3.13.3 Alter.....	55
3.14 Einfluss des Probandenalters auf Cortisol in der ersten Morgenmessung.....	58
3.15 Einfluss von Lebensgewohnheiten auf den Cortisolspiegel abends.....	58
3.15.1 Rauchen.....	58
3.15.2 Alkoholkonsum.....	60
3.15.3 Stress.....	62
3.15.4 Belastendes Ereignis.....	62
3.16 Einfluss von Krankheitsmerkmalen auf den Cortisolspiegel.....	64
3.16.1 Diabetes.....	64

3.16.2 Karzinom.....	66
3.16.3 Frailty.....	68
3.17 Überprüfung des Einflusses der Variablen in der multivariaten Analyse.....	72
4 Diskussion.....	78
4.1 Eignung des Cortisolspeicheltests im ambulanten Bereich.....	78
4.2 Die Veränderung des Cortisolspiegels im Alter.....	79
4.3 Cortisol und Geschlecht.....	81
4.4 Cortisol und BMI.....	81
4.5 Cortisol und Rauchen.....	82
4.6 Cortisol und Alkohol.....	83
4.7 Cortisol und Stress.....	83
4.8 Cortisol und Diabetes.....	84
4.9 Cortisol und Frailty.....	84
5 Zusammenfassung.....	86
6 Literaturverzeichnis.....	89
7 Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme.....	96
8 Abbildungsverzeichnis.....	97
9 Tabellenverzeichnis.....	99
10 Anhang.....	101
11.Danksagung.....	108
12 Veröffentlichungen.....	109
13.Lebenslauf.....	110

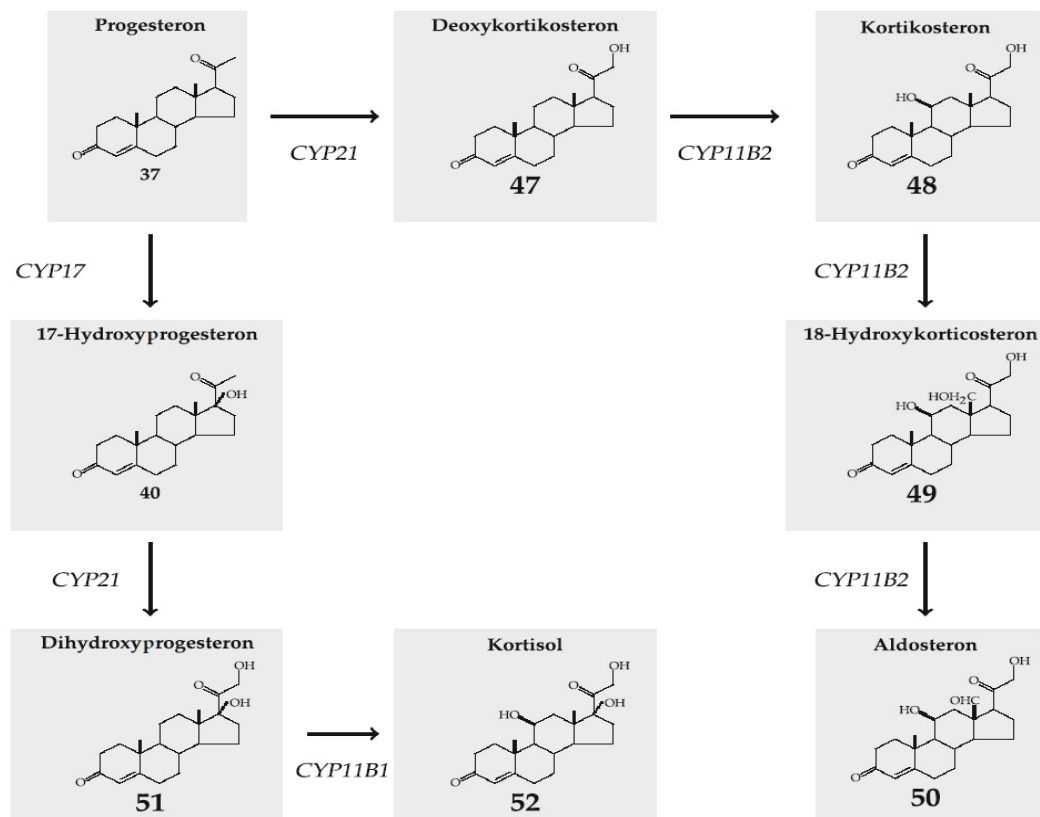
1 Einleitung

1.1 Das Hormon Cortisol

1.1.1 Syntheseschritte

Cortisol gehört als Steroidhormon der Klasse der Glukokortikoide an und wird in der mittleren der drei Schichten der Nebennierenrinde, der Zona Fasciculata, gebildet. Die Cortisolsynthese nimmt als gemeinsame Vorstufe aller Steroidhormone ihren Ausgangspunkt in dem Gelbkörperhormon Progesteron (Chrousos, 1995). Über die Oxidationsschritte der Enzyme CYP 17 und CYP 21 wird das Progesteron zu Dihydroxyprogesteron bzw. Desoxycortisol umgewandelt (Kleine and Rossmannith, 2014). An der inneren Mitochondrienmembran findet schließlich über CYP11-B1 die Umwandlung zum Cortisol statt (siehe Abb.), das über Diffusion die Zelle verlässt. 90% des zirkulierenden Cortisols im Blut sind an das Kortikosteroid bindende Globulin CBG gebunden (Seralini et al., 1990).

Abbildung 1. Bildung der Kortikoide (Kleine et Rossmannith, 2014)



1.1.2 Regelkreis der Cortisolbildung

Die Bildung des Cortisols wird über die hypothalamisch-hypophysäre-adrenale Achse (HPA) gesteuert. Der Hypothalamus regt durch das Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) in der Hypophyse die Bildung von adrenocorticotropem Hormon (ACTH) im Hypophysenvorderlappen an, wobei auch Arginin-Vasopressin (AVP) einen synergistischen Effekt auf die Stimulierung der Hypophyse hat (Lilly and Gann, 1992). Das freigesetzte ACTH wiederum stimuliert die Nebennierenrinde zur Synthese von Cortisol. Glukokortikoide kontrollieren ihre eigene Synthese, indem das gebildete Cortisol selbst wiederum eine hemmende Wirkung (Feedback-Inhibition) auf die CRH-Sekretion aus dem Hypothalamus und die ACTH-Sekretion aus der Hypophyse hat (Jurueña et al., 2004). Ein Ansteigen des Cortisols vermindert somit die Sekretion von CRH und ACTH. Fällt dagegen der Cortisolspiegel ab, wird physiologischerweise mehr CRH und ACTH freigesetzt. Das Cortisol übt seine inhibitorische Wirkung über zwei unterschiedliche intrazelluläre Kortikosteroid-Rezeptor-Subtypen, den Mineralokortikoidrezeptor (MR) und den Glukokortikoidrezeptor (GR) aus (de Kloet et al., 1998). Die Mineralokortikoidrezeptoren befinden sich in hoher Konzentration im Hippocampus und Hypothalamus, während die Glukokortikoidrezeptoren weiter gestreut in Hippocampus, Amygdala, Hypothalamus und katecholaminergen Zellkörpern des Hirnstamms verteilt sind (Fuxe et al., 1985). Es gibt sowohl eine schnelle Feedback-Hemmung, die proportional zum Anstieg der Cortisolkonzentration wirkt und die Amplitude einer Cortisol-Stressantwort limitiert, als auch einen verzögerten Feedback-Mechanismus, der bei äußerer Kortikosteroidzuführung zum Tragen kommt und bei hohen Dosen eine Cortisol-suppression über Wochen hervorrufen kann (Keller-Wood and Dallman, 1984). Der Hauptstimulus für die Aktivierung der HPA-Achse stellt Stress dar, sowohl langanhaltender, psychischer Stress als auch akuter und körperlicher Stress (Jurueña, 2013).

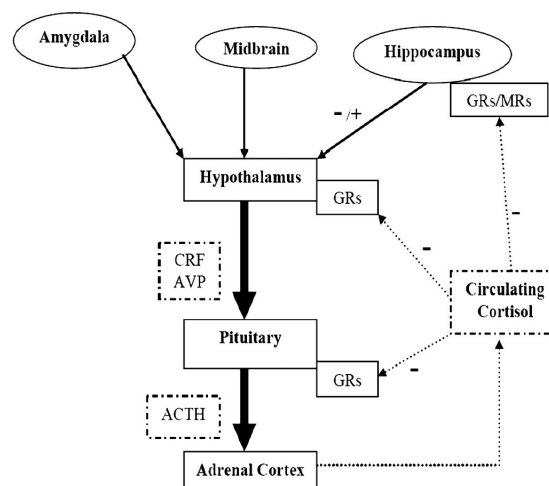


Abbildung 2. Regelkreis der Cortisolsekretion (Jurueña et al., 2004)

1.1.3 Wirkungsweisen des Cortisols

Anders als Peptidhormone, die über Zellmembranrezeptoren wirken, diffundieren Steroidhormone durch die Zellmembran und binden an intrazytoplasmatische Rezeptoren (Jurueña, 2013). Durch die Ligandenbindung wird über die Verknüpfung mit HREs (hormone response elements) im Zellkern die Expression bestimmter Gene hervorgerufen (ebd.).

Wie der Name Glukokortikoid bereits verrät, besteht ein Haupteffekt des Cortisols darin, im Kohlenhydratstoffwechsel die Glukoneogenese anzuregen. Vermittelt über Glukokortikoidrezeptoren wird in der Zielzelle vermehrt Glukose aus Aminosäuren und Intermediärprodukten (Laktat, Pyruvat, Glycin) gebildet (Gomez-Sanchez, 2014). Dieser katabole Schritt der vermehrten Bereitstellung von Glukose kann in pathophysiologischer Funktionslage zu Muskelatrophie und Osteoporose führen (Minetto et al., 2011). Da die glukokortikoide Wirkung der Wirkung des Insulins entgegensteht, birgt sie darin auch das Risiko einer diabetischen Stoffwechsellage. Auf den Lipidstoffwechsel wirkt das Cortisol im Sinne einer Fettmobilisation aus der Peripherie hin zu Leber und Körperstamm. Insgesamt wird der Fettabbau gefördert, sodass es zur Hyperlipidämie kommen kann. Blutzellbildung und Funktionen des Immunsystems werden ebenfalls durch Cortisol beeinflusst. Seine immunsuppressive und antiallergische Wirkung besteht in der Verminderung des lymphatischen Gewebes, einer Reduktion der eosinophilen Granulozyten sowie der Lymphozyten und einer Unterdrückung der B- und T-Lymphozytenaktivität. Dagegen wird die Erythrozyten- und Thrombozytenproduktion stimuliert, was das Thromboserisiko erhöhen kann. Der entzündungs-, exsudations- und proliferationshemmende Effekt auf Bindegewebe, Epithelien und Mesenchym, erklärt die antiphlogistische Wirkung, wie sie in der topischen Cortisontherapie genutzt wird, wobei eine gleichzeitige Verzögerung der Wundheilung und eine gewisse ulzerogenen Wirkung abzuwägen sind. Durch eine über die Hemmung der Expression intestinaler Kalziumkanäle TRPV6 verminderte Kalziumresorption im Darm und eine vermehrte Kalziumausscheidung in der Niere entsteht eine Hypokalzämie, was die Bildung neuen Knochens hemmt und damit eine Osteoporose bereits in jungen Jahren bedingen kann (Arampatzis et al., 2013). Die Neigung zu Osteoporose wird zusätzlich durch die glukokortikoide Hemmung der Osteoblasten und die Aktivierung der Osteoklasten und der damit einhergehenden Kalziummobilisation aus dem Knochen verstärkt (ebd.). Außerdem wirkt Cortisol zentral aufs Gehirn, wo es Befindlichkeit, Wahrnehmungsfähigkeit und Schlafverhalten beeinflusst.

1.1.4 Die zirkadiane Rhythmik der Cortisolexpression

Das adrenokortikotrope Hormon ACTH unterliegt einem charakteristischen täglichen Sekretionsrhythmus, der den Cortisolspiegel in den frühen Morgenstunden – zwischen 6 und 8 Uhr – stark ansteigen, über den Tag hinweg langsam abfallen und gegen Mitternacht seinen niedrigsten Punkt erreichen lässt (Jurueña, 2013). Der morgendliche Peak erfährt 30 Minuten nach dem Aufstehen einen abermaligen Anstieg (Cortisol Awakening Response) um bis zu durchschnittlich 50% (ebd.). Es wird vermutet, dass die biologische Uhr in den suprachiasmatischen Nuclei des Hypothalamus sitzt und daher das CRH und AVP ebenfalls pulsatil ausgeschüttet werden, was sich aber aufgrund eines zu niedrigen CRH-Plasmaspiegels nicht zuverlässig messen lässt (Ur and Grossman, 1992).

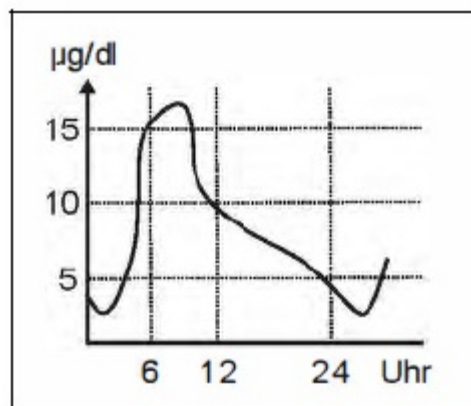


Abbildung 3. Tagesrhythmus der Cortisolkonzentration im Blut (Herold, 2012)

1.1.5 Die Pathologie des Cushing Syndroms

1.1.5.1 Definition

Geht die tägliche physiologische Schwankungsbreite der Cortisolausschüttung im Sinne eines messbaren Hypercortisolismus verloren, spricht man vom Cushing Syndrom, welches durch eine Vielzahl an klinischen Zeichen und Symptomen gekennzeichnet ist (Newell-Price et al., 2008). Der Hypercortisolismus kann entweder – im Rahmen einer Langzeitbehandlung mit Glukokortikosteroiden bzw. ACTH – exogener oder in selteneren Fällen endogener Natur sein (Elamin et al., 2008). Der endogene Cortisolexzess wiederum kann entweder durch eine erhöhte ACTH-Sekretion bedingt sein (Cizza et al., 1996). In diesem Fall spricht man von der ACTH abhängigen Form, die man wiederum in den zentralen Typ, den klassischen Morbus Cushing – hervorgerufen durch ein Mikroadenom des Hypophysenvorderlappens – und die ektope (paraneoplastische) ACTH-Sekretion unterteilt. Oder es liegt eine ACTH unabhängige, erhöhte Cortisolausschüttung vor. In diesem Fall spricht man vom adrenalen Cushing Syndrom, hervorgerufen durch Cortisol produzierende Tumore der Nebennierenrinde (Nieman and Ilias, 2005).

1.1.5.2 Epidemiologie

Das exogen durch die Therapie mit Glukokortikoiden herbeigeführte Cushing Syndrom ist ein im Klinikalltag allgemein präsent Problem (Cizza et al., 1996). Aufgrund der starken antiphlogistischen, immunsuppressiven Wirkung finden Glukokortikoide ein breites Anwendungsgebiet, sei es in der Rheumatologie, bei chronischen Erkrankungen (z.B. CED), als Begleit-Immunsuppressionstherapie in der Transplantationsmedizin, bei Autoimmunerkrankungen, allergischen Erkrankungen (z.B. Asthma bronchiale), Leukämien oder auch in der Pädiatrie (z. B. Lungenreifinduktion bei Feten). Die Orientierung an der sog. Cushing-Schwelle (7,5 mg/d Prednison) stellt dabei für den behandelnden Arzt einen wichtigen Marker in der Nutzen-Risiko-Kalkulation der Steroidbehandlung dar.

Demgegenüber stellt der endogene Cushing eine Rarität dar. Die jährliche Inzidenz liegt bei 2-3/Millionen Einwohner, von denen 0,6/Millionen durch ein gutartiges Nebennierenrindendadenom bedingt sind (Charlotte Steffensen, 2010). Von der Cushing Erkrankung sind vor allem Frauen betroffen. Das Verhältnis von Mann zu Frau liegt etwa bei 3-8:1 (Zilio et al, 2014). Die Mortalitätsrate wird bis auf das Vierfache der Allgemeinbevölkerung geschätzt (Extabe and Vazquez, 1994). Da immer mehr Studien beschreiben, dass auch häufige Krankheiten wie z.B. der Diabetes mellitus Typ 2, die Depression oder das polyzystische Ovarialsyndrom mit einem Hypercortisolismus einhergehen können, ist in Zukunft ein allgemein geschärftes Bewusstsein gegenüber Cushing zu erwarten, was bewirken wird, dass weniger Cushing-Fälle unentdeckt bleiben bzw. die Diagnose in früheren Stadien erfolgt (ebd.).

1.1.5.3 Klinik

Die Symptome des Morbus Cushing sind aufgrund der breiten glukokortikoiden Wirkung auf Fettstoff-, Kohlenhydrat-, Eiweißstoffwechsel, Knochenmark und Hämatopoese, ZNS, Immunsystem, sowie mineralokortikoider und androgener Wirkung entsprechend weit gefächert (Zilio et al., 2014), was das Cushing Syndrom so eindeutig wie vielfältig macht. Aus der Zusammenschau vieler Symptome (Syndrom) ergibt sich ein Erscheinungsbild, das bereits allein per visu an die Erkrankung denken lässt. Dazu gehören Merkmale wie das durch einen erhöhten Fettstoffwechsel bedingte Vollmondgesicht, der „Stiernacken“, supraklavikuläre Fettpolster, die Stammfettsucht, ein proximaler Muskelschwund durch Myopathie, sowie ein allgemeiner Hautzustand, der von Atrophie, schlechter Wundheilung, Akne, Hämatomen, Ekchymosen, den sogenannten Striae rubrae im Bereich von Schulter, Brust, Unterbauch und der Glutealregion geprägt ist (Trahan and Ahemd, 1989). Ein weiteres äußerlich erkennbares Cushing-Indiz stellt

die Virilisierung der Frau dar, die gewöhnlicherweise nur beim adrenalen Karzinom, welches androgene Vorläufer produziert, auftritt: männlicher Behaarungstyp (Hirsutismus) an Kinn, Oberlippe, Brust, Schamregion, Oberschenkel, männliche Körperproportionen sowie eine tiefe Stimm Lage (Shibli-Rahhal et al., 2006). Die Hyperpigmentierung ist ein spezielles Phänomen der ACTH-abhängigen Form, da das ACTH die Melanozyten-Rezeptoren mitstimuliert (Mountjoy, 1994). Das Cushing-Syndrom präsentiert sich jedoch weitaus umfangreicher als bloß in der charakteristischen äußeren Erscheinung. Der Cortisolüberschuss ruft Krankheitsmerkmale hervor, die für sich genommen nicht Cushing spezifisch sind, sondern sich mit häufigen Volkskrankheiten überdecken (Shibli-Rahhal et al., 2006). Dazu zählen Übergewicht, Diabetes, Hypertonie und Osteoporose (Arampatzis et al., 2013). Nicht außer Acht zu lassen ist die psychische Komponente. Patienten können unter Hypercortisolismus gravierend emotionale, kognitive Symptome entwickeln, von Stimmungs- und Konzentrationsschwankungen bis hin zu Depression und Manie (Shibli-Rahhal et al., 2006). Tritt die Krankheit im ganzen Umfang auf, ergibt sich ein sehr spezifisches Krankheitsbild, dagegen bezogen auf einzelne Symptome wird in der Regel nicht als erstes an diese Krankheit gedacht. Die Tabelle aus den Cushing-Guidelines gibt eine Übersicht der Symptomatik, unterschieden zwischen speziell für Cushing typische Erscheinungen und Überschneidungen mit anderen allgemeinen Krankheiten (Nieman et al, 2008).

Symptoms	Signs	Overlapping conditions
<i>Features that best discriminate Cushing's syndrome; most do not have a high sensitivity</i>		
	Easy bruising	
	Facial plethora	
	Proximal myopathy (or proximal muscle weakness)	
	Striae (especially if reddish purple and > 1 cm wide)	
	In children, weight gain with decreasing growth velocity	
<i>Cushing's syndrome features in the general population that are common and/or less discriminatory</i>		
Depression	Dorsocervical fat pad ("buffalo hump")	Hypertension ^b
Fatigue	Facial fullness	Incidental adrenal mass
Weight gain	Obesity	Vertebral osteoporosis ^b
Back pain	Supraclavicular fullness	Polycystic ovary syndrome
Changes in appetite	Thin skin ^b	Type 2 diabetes ^b
Decreased concentration	Peripheral edema	Hypokalemia
Decreased libido	Acne	Kidney stones
Impaired memory (especially short term)	Hirsutism or female balding	Unusual infections
Insomnia	Poor skin healing	
Irritability		
Menstrual abnormalities		
In children, slow growth	In children, abnormal genital virilization	
	In children, short stature	
	In children, pseudoprecocious puberty or delayed puberty	

Abbildung 4. Übersicht über Symptome und Krankheitsmerkmale des Cushing-Syndroms (Nieman et al, 2008)

1.1.5.4 Diagnostik

Eine große Schwierigkeit in der Cushing-Diagnostik besteht darin, dass hohes Alter und Übergewicht häufig mit einer Vielzahl von Symptomen und Komorbiditäten einhergehen, die zugleich Symptome des Cushing Syndroms sind, wie etwa Bluthochdruck, Hyperglykämie, und Osteoporose (Mohamed et al, 2008). Daher bedarf es diagnostischer Tests, die in der Lage und

empfindlich genug sind, zwischen Patienten mit und ohne Hypercortisolismus zu unterscheiden (Raff and Findling, 2003).

Noch vor der eigentlichen Cushing Diagnostik sollte ein exogener Cushing ausgeschlossen werden, indem die aktuelle und vergangene Medikation des Patienten auf eine eventuelle Steroidtherapie überprüft wird. Zielgruppe eines Screenings sind erstens Menschen mit für ihr Alter untypischen Beschwerden wie z. B. früher Osteoporose und Bluthochdruck, zweitens Patienten, die mehrere und in zunehmendem Maße Symptome wie sie in Kap. 1.1.5.3 aufgeführt sind, zeigen, besonders die, die Cushing diskriminativ sind: Myopathie, Vollmondgesicht, Striae rubrae, leichte Verwundbarkeit und Atrophie der Haut, drittens speziell in der Pädiatrie Kinder mit abfallendem Perzentilen-Wachstum bei erhöhter Gewichtszunahme und viertens bei zufällig gefundenen Tumoren der Nebenniere – der sogenannten Inzidentalome – (Nieman et al., 2008).

Für den ersten Screening-Schritt bieten sich folgende Tests an, um zu ermitteln, ob ein pathologischer Hypercortisolismus vorliegt (Shibli-Rahhal et al., 2006):

- Cortisolbestimmung im 24 Stunden Sammelurin
- Cortisol im Mitternachtsspeichel
- Dexamethasonhemmttest 1 mg/24h
- Dexamethasonhemmttest 2 mg/48 h

Bei Patienten mit einem anormalen Screeningtest sollte im zweiten diagnostischen Schritt nach der Herkunft des Hypercortisolismus differenziert werden: Hypothalamisch-hypophysär, adrenal oder ektop (Nieman and Ilias, 2005).

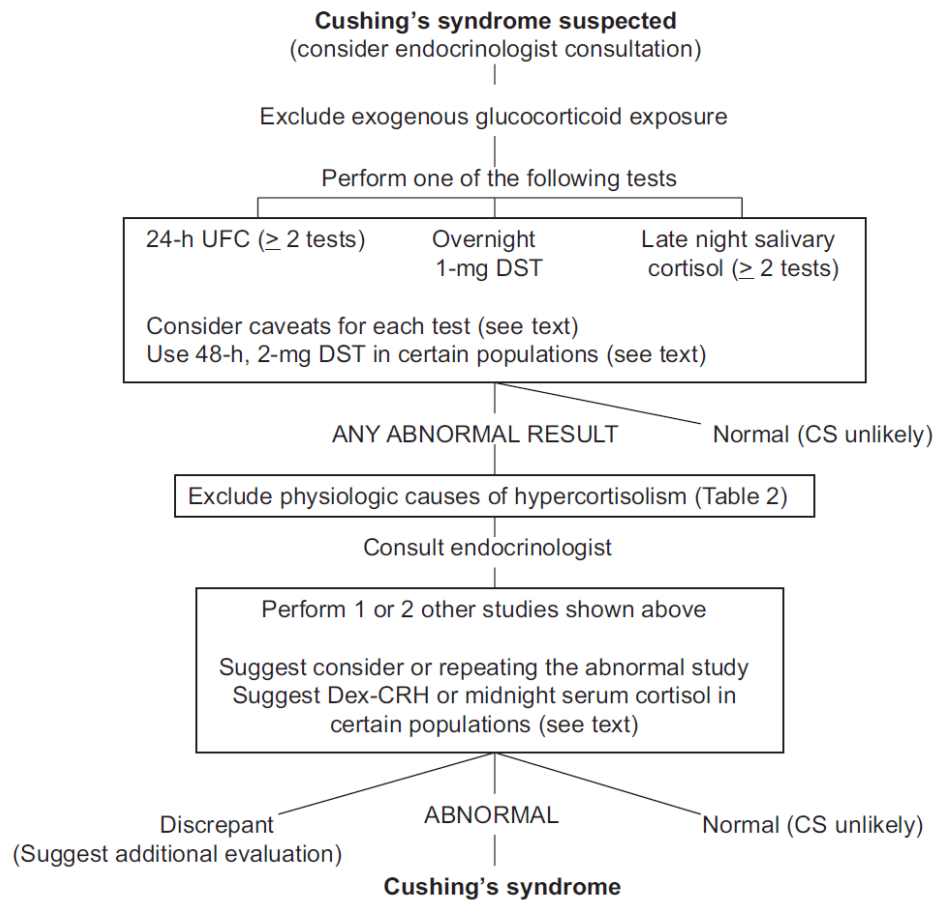


Abbildung 5. Algorithmus der Cushing-Diagnostik (Nieman and Ilias, 2005)

1.1.5.4.1 Cortisolbestimmung im 24 Stunden Sammelurin

Seit den 70er Jahren findet der UFC (Urinary Free Cortisol) Test Anwendung, bei dem die Cortisolkonzentration im Sammelurin über 24 h gemessen wird. Eine Stärke der Testmethode besteht darin, dass nur der freie und nicht der CBG (Cortisol Binding Globulin) gebundene Teil des Hormons gemessen wird und somit der Test unbeeinflusst von medikamentös zugeführten Hormonen, die die CBG-Konzentration verändern, bleibt. Zum Beispiel Frauen, die Östrogene als Kontrazeptiva oder in der Menopause einnehmen, haben erhöhte CBG-Konzentrationen und somit hohe Cortisolkonzentrationen im Serum, im Urin hingegen normale. Im Unterschied dazu hat der Cushingpatient verhältnismäßig mehr freies Kortisol, also auch im Urin erhöhte Werte. Männliche Cushingpatienten scheinen höhere UFC-Werte zu haben, was mit einer vermehrten Hypokaliämie einhergeht (Zilio et al., 2014). Die Sensitivität und Spezifität des Tests liegt zwischen 95% und 100% (Shibli-Rahhal et al., 2006).

1.1.5.4.2 Bestimmung von Cortisol im Mitternachtsspeichel

Der Cortisolnachweis im Speichel wird in zunehmendem Maße in der Routine-Diagnostik den anderen Cortisolmessverfahren im Blut oder 24-h-Urin vorgezogen, da die Cortisolgewinnung nicht invasiv, schmerzfrei und für den Patienten einfach anzuwenden ist. Speichelproben können auch zu jeder Tageszeit vom Patienten selbst abgenommen werden (Baid et al., 2007). Wegen der leichten Handhabbarkeit wird der Test auch in anderen Gebieten, wie der Psychologie, der Sportmedizin und der Pädiatrie angewandt (Westermann et al., 2004). Um ein individuelles Tagesprofil zu erstellen, sind mehrere Probenentnahmen notwendig. Da nur die nicht Protein gebundene Fraktion des Steroidhormons aus der Blutzirkulation in den Speichel übertritt, wird im Speichel entsprechend nur die aktive Form des Hormons gemessen (Nieman et al., 2008). Die Messungen mittels Antikörperbasierter Immunoassays können von einer Kreuzreaktion mit Cortisolmetaboliten oder synthetischen Glukokortikoiden betroffen sein (ebd.). Die Sensitivität und Spezifität des Speicheltests beläuft sich auf 92-100% bzw. 93-100% für die Cushing Diagnostik (Papanicolaou et al., 2002). Ein spezielles Problem der Speichelmessmethode besteht darin, dass die Speicheldrüsen 11-HSD2 (11 Hydroxysteroiddehydrogenase Typ 2) ausschütten, die das biologisch aktive Cortisol in inaktives Cortison umwandelt (Smith et al., 1996). Außerdem ist es theoretisch denkbar, dass der Genuss von Lakritze oder Kautabak, die beide die 11-HSD2-Inhibitor-Glycyrrhizinsäure enthalten, zu falsch erhöhten Cortisolwerten führt. Auch unter Rauchern wurden durchschnittlich höhere Cortisolmesswerte gemessen (Badrack, 2007). Da die Messung von einem Tiefpunkt des Cortisols am späten Abend ausgeht, könnte sie für Nacht-Schichtarbeiter, oder solche mit ungewöhnlicher Schlafenszeit unpassend sein, bzw. die Abnahmezeit sollte dann an die Schlafenszeit angepasst werden (Raff et al., 1998). Zwar wird berichtet, dass geringes bis mäßiges Zahnfleischbluten als Folge starken Zähneputzens keinen Effekt auf die Cortisolmessung habe, jedoch bleibt weiterhin unbekannt, wie stark sich orale Entzündungen und Verletzungen auf die Cortisolmessungen auswirken (Kivlighan et al., 2004). Zudem können Steroide aus Lotionen oder Zahngels falsch positive Ergebnisse bedingen (Nieman et al., 2008). Stress kann kurz vor der Speichelsammlung das Cortisol auf physiologische Weise erhöhen, weshalb die Messung unter Ruhebedingungen stattfinden sollte (Raff et al., 1998).

1.1.5.4.3 Dexamethasonhemmtest 1mg/12h

Bei gesunden Probanden führt die Zuführung einer über dem physiologischen Bereich liegenden Dosis an Glukokortikoiden zu einer ACTH- und Cortisolsuppression. Beim endogenen Cushing Syndrom hingegen bleibt die Suppression aus, wenn eine niedrige Dosis synthetisches Dexamethason gegeben wird (Newell-Price J, 2008). Gewöhnlich wird zwischen 23:00 und

24:00 Uhr 1 mg Dexamethason gegeben und der Cortisolspiegel wird am folgenden Morgen zwischen 8:00 und 9:00 Uhr gemessen. Als Cutoff-Wert wird eine am RIA gemessene Cortisol-serumsuppression von 3,6 bis 7,2 g/dl verwendet (Cronin et al. 1990). Eine häufig zitierte normale Antwort des Serumcortisols liegt unter 5 g/dl. Manche Patienten zeigen, obwohl sie unter Cushing leiden, als Antwort auf die Dexamethasongabe dennoch eine Supprimierbarkeit, so dass bis zu 15 % der Patienten als falsch negativ klassifiziert werden (Findling et al., 2004). Um die Sensitivität zu erhöhen, wird deshalb laut Guidelines (Nieman et al., 2008) empfohlen einen niedrigeren Cutoff von weniger als 1,8 g/dl zu verwenden, um eine Sensitivität von 95% zu erreichen.

1.1.5.4.4 Dexamethasonhemmttest 2mg/24h

Der Dexamethasonhemmttest 2mg/24h soll spezifischer sein als der Dexamethasonhemmttest 1mg/12h und sich besonders für die Fälle eignen, in denen es zu einer Überreaktion der HPA-Achse ohne vorliegenden Cushing – wie es bei bestimmten psychiatrischen Erkrankungen (wie etwa der Depression oder der Angststörung), Adipositas, Alkoholismus und Diabetes mellitus der Fall sein kann – kommt (Nieman et al., 2008). Es wird empfohlen vor dem Test mindestens zwei Wochen lang kein Alkohol zu trinken, um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden (Khan et al., 1984). Bei einem Cutoff-Wert von 1,8 g/dl liegt die Sensitivität des Tests bei über 95% (Kennedy et al., 1984). In 0,5 mg Dosen wird Dexamethason über 48 h hinweg in einem 6 h Intervall gegeben, angefangen am Tag 1 um 9 Uhr, 15, 21 und 3 Uhr des zweiten Tages. Schließlich wird das Cortisol im Serum 6 h nach der letzten Dexamethasondosis, um 9 Uhr, gemessen (Nieman et al., 2008).

1.2 KORA-Age Studie

1.2.1 “Successful Aging”

Der demografische Wandel unserer Gesellschaft bringt es mit sich, dass die Populationsgruppe der 65-Jährigen und älter die am stärksten wachsende Bevölkerungsschicht darstellt (Epel, 2009). Das Erreichen eines immer höheren Alters ist allerdings auch mit mehr Risiken für den Verfall der körperlichen sowie der geistigen Konstitution verbunden. Der Mensch droht im hohen Alter gebrechlich zu werden und in seinen kognitiven Fähigkeiten nachzulassen. Hinzu kommt das Risiko im Alter sozial isoliert und unter eingeschränkten Lebensbedingungen leben zu müssen. Nichtsdestotrotz sind die Unterschiede im Alterungsprozess offensichtlich. Viele bleiben auch im Alter gesund, führen ein aktives und glückliches Leben. In ihrem Fall kann man

von „Successful Aging“, erfolgreichem Altern, sprechen. Bisher gibt es keine einheitliche Definition, was alles unter diesen Begriff des erfolgreichen Alterns genau zu fassen ist. Unklarheit besteht darin, ob es lediglich die Abwesenheit von Krankheitsleiden bedeutet oder ob es zusätzliche positive Bestimmungen gibt, die erfüllt sein müssen. Wie umstritten die Definitionsfrage ist, zeigt exemplarisch eine im Jahr 2006 erschienene Literaturrecherche, die von 28 Studien mit 29 unterschiedlichen Definitionen zu „Successful Aging“ berichtet (Depp et al., 2006). Für die im Folgenden vorgestellte KORA-Age Studie hat man sich einer Definition angenähert, die mehrere Aspekte zusammenführt:

1. Biomedizinisch: die Abwesenheit von Multimorbidität
2. Psycho-kognitiv: die Abwesenheit von Depression und Angst, kognitive Leistungsfähigkeit, QoL (Quality of Life) und Resilienz
3. Persönliche Selbsteinschätzung: Das Gefühl von Wohlbefinden und selbst wahrgenommener Gesundheit
4. Die Kombination aus 1-3 als Optimalzustand

Welche Faktoren zu einem gesunden Altern beitragen, welche Prädiktoren evaluiert werden können, ob es geschlechtsspezifische Unterschiede gibt, welche Rolle Lebensgewohnheiten und -umstände etc. spielen, bildet ein weites Feld in der epidemiologischen Forschung mit nach wie vor offenen Fragen.

In der psychobiologischen Forschung hat man bereits positive Effekte des Wohlbefindens auf die Gesundheit untersucht (Pressman et al., 2005). So konnte eine prospektive Studie aus dem Jahr 2001 einen positiven Zusammenhang zwischen einer optimistischen Grundhaltung und einer verminderten Rate kardiovaskulärer Ereignisse ermitteln (Kubzansky et al., 2001). Umgekehrt war in der EPESE-Studie, einer populationsbasierten Studie mit 4162 über 65-jährigen Teilnehmern in North Carolina, die Prävalenz von Schlaganfällen unter den Probanden, die unter starken depressiven Symptomen litten, höher gegenüber denen ohne (Ostir et al., 2001).

Für die Evidenz langfristiger Prädiktoren erfolgreichen Alterns fehlt es insgesamt jedoch noch an breiten Populationsstudien. Lediglich zwei wichtige psychosoziale Prädiktoren gelten als weitgehend gesichert: ein hoher Bildungsstand und ein ausgeprägtes Familienumfeld haben eine protektive Wirkung im Alter gesund zu bleiben (Vaillant and Mukamal, 2001).

1.2.2 Intention der KORA-Age Studie

Um ein tieferes Verständnis für relevante Determinanten erfolgreichen Alterns zu gewinnen, hat ein Konsortium aus Medizinern, Epidemiologen, Statistikern, Informatikern, Biologen, Pharmazeuten, Ökonomen, Psychologen und Sozialwissenschaftlern das KORA-Age Projekt gegrün-

det. Schwerpunkte der Studie wurden in den Bereichen der kardiovaskulären und mentalen Gesundheit sowie der Lungenfunktion als Indikator des biologischen Alters gesetzt. In diesem Forschungsverbund wird den folgenden übergeordneten Fragestellungen nachgegangen (Peters et al., 2011):

1. Bestimmung der Prävalenz von Multimorbidität, Funktionsfähigkeit und erfolgreichem Altern bei über 65-Jährigen in einer großen Kohorte aus einer Bevölkerungsstichprobe der Region Augsburg.
2. Bestimmung der Rolle von Risikofaktorprofilen bei Eintritt in die Kohorte für Multimorbidität, Mortalität und erfolgreiches Altern.
3. Identifizierung von Faktoren, die mit Multimorbidität und erfolgreichem Altern assoziiert sind.
4. Medizinische und ökonomische Evaluation eines Interventionsangebots für ältere Patienten mit akutem Herzinfarkt.

1.2.3 Cortisol als Biomarker gesunden Lebens

Neben der Ermittlung und Evaluierung psychosozialer Verhaltens-Faktoren, der Untersuchung kognitiver Fähigkeiten im Alter und präventiver Maßnahmen zur Demenzvorbeugung, liegt ein Schwerpunkt der KORA-Age Studie auf der Erforschung hormoneller Biomarker erfolgreichen Alterns. Das „hormonelle Profil“ ist möglicherweise eng mit erfolgreichem Altern verknüpft. Mehrere Hormone wie Cortisol, DHEAS, IGF-1, Oxytocin und Melatonin wurden in der Studie bestimmt, da eine altersbedingte Ab- oder Zunahme Einfluss auf den Erhalt kognitiver und körperlicher Fähigkeiten haben kann. Eine Schlüsselrolle hierbei kommt der Regulation der HPAA (hypothalamisch-hypophysäre-adrenale Achse) zu. Langanhaltender Stress kann eine Deregulierung der HPA-Achse bedingen und zu erhöhten Cortisolspiegeln führen. In mehreren Studien wurden bereits im Speichel erhöhte Cortisolspiegel in Korrelation zu Alterskrankheiten wie Depression, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes und Osteoporose, Demenz und Gebrechlichkeit gesetzt. Auch in dieser Studie konnte jüngst gezeigt werden, dass erhöhte Cortisol-Abendwerte und verminderte Cortisol-Morgenwerte mit der sogenannten Frailty – einem Index für Gebrechlichkeit – signifikant korrelieren (Johar et al., 2014).

1.3 Fragestellungen dieser Doktorarbeit

Die Messung von Cortisol im Speichel gewinnt für epidemiologische Studien zunehmend an Bedeutung. Daher ist es von großem Interesse, mehr über seine Validität und potenzielle Einflussfaktoren zu erfahren. Die groß angelegte Bevölkerungsquerschnittsstudie KORA-Age mit Probanden ab einem Alter von 65 Jahren erlaubt es, folgenden Fragen nachzugehen:

1. Die Bestimmung von Cortisol im Speichel ist zwar einerseits einfacher zu handhaben als die Blutabnahme mit anschließender Cortisolmessung im Serum, andererseits gibt es immer noch Bedenken, dass diese ungenauer sei, da das Cortisol nur in geringerer Konzentration im Speichel vorhanden ist und zusätzliche Störfaktoren die Vergleichbarkeit von Cortisol im Blut und Speichel beeinflussen könnten. Im Kontext einer bevölkerungsbasierten Studie könnten hier potentiell auch bislang unbekannte Störfaktoren eine Rolle spielen. Daher soll in dieser Arbeit vorab anhand von zeitgleich abgenommenen Blut- und Speichelproben der Probanden ein unmittelbarer Vergleich vorgenommen werden, um eine Aussage über die Validität des Speicheltests in populationsbasierten Studien treffen zu können.

2. Eine weitere Fragestellung besteht darin, wie sich die Speichelprobengewinnung hinsichtlich ihrer logistischen Durchführung bewährt. Nachdem die Probanden instruiert wurden, war die Probensammlung selbstständig von den Probanden zu Hause durchzuführen. Wegen der zirkadianen Rhythmik des Cortisols kommt es entscheidend auf die Einhaltung der Probeabnahmezeiten an und ebenso darauf, wie zuverlässig die Probanden diese dokumentieren. Haben sie sich also an die Informationen aus dem Begleitschein gehalten, die darin gestellten Fragen beantwortet, und wie gut hat damit das Studiendesign als Ganzes funktioniert?

3. Soll sich Cortisol als Biomarker in der Erforschung erfolgreichen Alterns bewähren, dann ist der Frage nachzugehen, inwiefern das Altern an sich die zirkadiane Rhythmik beeinflusst. So wurden etwa im Jahr 1997 in einer kleinen Studie mit 22 männlichen und 11 weiblichen Probanden zwischen 23 und 81 Jahren bei den älteren Probanden (> 50 Jahre) in dem abendlichen Messintervall von 20:00 Uhr bis 1:30 Uhr ein signifikant höherer Cortisolplasmaspiegel gegenüber den jüngeren (< 50 Jahre) gemessen, was als eine Erhöhung der basalen Aktivität und als Rückgang der täglichen Amplituden des HPA-Systems gedeutet wurde (Deuschle et al., 1997). Ein Ziel der vorliegenden Arbeit soll darin bestehen zu untersuchen, ob sich dieser Trend auch in einer breiten, im Querschnitt und longitudinal durchgeführten populationsbasierten Studie zeigen lässt. Die Hypothese lautet, dass in zunehmendem Alter die Schwankungsbreite von niedrigen Abendwerten zu hohen Morgenwerten tendenziell abnimmt. Demnach wären im höheren Alter höhere Abendwerte

und niedrigere Morgenwerte zu erwarten. Die relativ groß angelegte Probandenzahl erlaubt es außerdem zu ermitteln, ob es geschlechts- und BMI-spezifische Unterschiede gibt.

4. Des Weiteren gilt es zu überprüfen, ob und inwiefern sich in der Studienpopulation Lebensgewohnheiten – wie Rauchen und Alkoholkonsum, Schlafverhalten, belastende Ereignisse, unmittelbarer Stress – und Krankheitsmerkmale – wie Entzündungszeichen, Depression, Diabetes, Krebserkrankungen, Frailty (Index für Gebrechlichkeit) und Übergewicht – in einem verändertem Speichelcortisol widerspiegeln.

5. Über die epidemiologischen Fragestellungen hinaus soll der klinischen Frage nachgegangen werden, ob eine systematische Veränderung der Cortisolspiegel zwischen unterschiedlichen Altersgruppen für die Cushingdiagnostik relevant ist. Für den zum Zeitpunkt der Studie im Endokrinologischen Labor der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV eingesetzten Cortisolassay gibt das Einsenderhandbuch einen altersunabhängigen Cutoff-Wert von 1,5 ng/ml für die 23 Uhr Speichelcortisolprobe an. Je nach Studienergebnis ließe sich über eine altersadaptierte Anpassung des klinischen Cutoffs diskutieren.

2 Material und Methoden

2.1 KORA-Age Studie I & II

2.1.1 Förderung, Finanzierung und teilnehmende Wissenschaftler

Das Forschungsprojekt KORA (Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg) wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) als Teil des Programms „Gesundheit im Alter“ in zwei Etappen (KORA-Age I: 03.2007–02.2011 und KORA-Age II: 03.2011–02.2014) gefördert. Initiierung und Finanzierung der Studien erfolgte durch das Helmholtz Zentrum München, das unter der Förderung des BMBF sowie des Freistaats Bayern steht. Die Ethikkommission der Bayerischen Landesärztekammer gab ihre Zustimmung zu den KORA-Age-

Studien (Peters et al., 2011). Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die leitenden Wissenschaftler sowie ihre jeweiligen Forschungsschwerpunkte:

KORA-Age-Kohorte	
Prävalenz und Determinanten der Multimorbidität und Mortalität bei älteren Menschen in der populationsbasierten MONICA/KORA-Kohorte	A. Döring, Helmholtz Zentrum München PD Dr. B. Thorand, Helmholtz Zentrum München PD Dr. C. Meisinger, KORA-Herzinfarktregister Augsburg
Seelische Gesundheit im Alter: Prävalenz, Kovariablen und begleitende neuroendokrine, kardiovaskuläre sowie inflammatorische Faktoren erfolgreichen Alterns	Prof. Dr. K.-H. Ladwig, Helmholtz Zentrum München Dr. H. Bickel, Klinikum rechts der Isar (TUM) Prof. Dr. A. Kurz, Klinikum rechts der Isar (TUM) Prof. Dr. D. Huber, Klinikum rechts der Isar (TUM) und Klinikum Harlaching Dr. M. Bidlingmaier, Medizinische Klinik – Innenstadt (LMU)
Messgrößen der Lungenfunktion als Indikatoren des biologischen Alters und unabhängige Risikofaktoren der Multimorbidität einschließlich kardiovaskulärer und mentaler Gesundheit	Prof. Dr. R.M. Huber, Medizinische Klinik – Innenstadt (LMU) Dr. A. Bergner, Medizinische Klinik – Innenstadt (LMU) Prof. Dr. D. Nowak, Medizinische Klinik – Innenstadt (LMU) PD Dr. R.A. Jörres, Medizinische Klinik – Innenstadt (LMU) Dr. S. Karrasch, Medizinische Klinik – Innenstadt (LMU) Prof. Dr. J. Behr, Klinikum Bergmannsheil, Ruhr-Universität Bochum Prof. Dr. H. Schulz, Helmholtz Zentrum München
Assoziierte Partner, die sich mit eigener Finanzierung am KORA-Age-Verbund beteiligten	
Herzfunktion bei älteren Menschen	Prof. Dr. S. Käbb, Medizinisches Klinikum Großhadern (LMU) S. Perz, Helmholtz Zentrum München
Körperliche Aktivität	Prof. Dr. A. Horsch, Klinikum rechts der Isar (TUM) Prof. Dr. K. Kuhn, Klinikum rechts der Isar (TUM)
Funktionsfähigkeit und Behinderung im Alter	Prof. Dr. E. Grill, LMU München
Naturheilverfahren	Dr. Dr. W. Weidenhammer, Klinikum rechts der Isar (TUM)
KORA-Age-Gesamtkoordination	
Koordination, Datenmanagement und Feldarbeit für KORA-Age	Prof. Dr. A. Peters, Helmholtz Zentrum München Prof. Dr. H.-E. Wichmann, Helmholtz Zentrum München Prof. Dr. R. Holle, Helmholtz Zentrum München PD Dr. C. Meisinger, KORA-Herzinfarktregister Augsburg

Abbildung 6a. Übersicht über die leitenden Wissenschaftler der KORA-Age Teilprojekte (Peters et al., 2011)

2.1.2 Studienteilnehmer und Studienphasen

Die Probanden der KORA-Age-Studie stammen aus dem Einzugsgebiet der Stadt Augsburg sowie den zwei angrenzenden Landkreisen Augsburg und Aichach-Friedberg. Für die Teilnahme an der Studie kamen Einwohner in Frage, die im Jahr 1943 oder früher geboren wurden. Dazu wurden Stichproben aus den Einwohnermeldeämtern gezogen, nach Stadt- und Landbevölkerung, sowie Geschlecht und Altersgruppen in 10 Jahresabständen stratifiziert. In die Studie eingeschlossen wurden nur Personen mit deutscher Staatsangehörigkeit und erstem Wohnsitz in dem definierten Einzugsgebiet. Die für das KORA-Projekt kooperierenden Institute – das Helmholtz Zentrum München, die Ludwig-Maximilians-Universität, die Technische Universität München und das Klinikum Augsburg – erarbeiteten standardisierte Befragungskataloge und ein Untersuchungsprogramm, um die über 65-jährigen Studienteilnehmer bezüglich ihres Gesundheitszustands sowie ihrer Lebensumstände zu charakterisieren. Dabei durchlief jede Studie folgende Abschnitte (Peters et al., 2011):

1. Alle lebenden Studienteilnehmer wurden per Post angeschrieben, um Fragen bezüglich ihrer Gesundheit zu beantworten.

2. Im Abstand von 4 Wochen wurde versucht, die Probanden telefonisch zu erreichen, um Fragen zu seelischer und körperlicher Verfassung zu vervollständigen.
3. Von den befragten Studienteilnehmern wurde eine nach Alter und Geschlecht gleichmäßig verteilte Gruppe eingeladen, sich im Studienzentrum in Augsburg in Hinblick auf Erkrankungen, Einschränkungen von Körperfunktionen und seelischer Gesundheit untersuchen zu lassen.
4. Ein Teil der Untersuchten wurde gebeten, die Ludwig-Maximilians-Universität in München für eine weitergehende Lungenfunktionsüberprüfung aufzusuchen.

Die beschriebenen Untersuchungsetappen wurden einmal zwischen 2008 und 2011 als KORA-AGE I und als Follow-Up im Abstand von 3 Jahren zwischen 2011 und 2014 als KORA-Age II durchgeführt (siehe Abbildung 7 und 8).

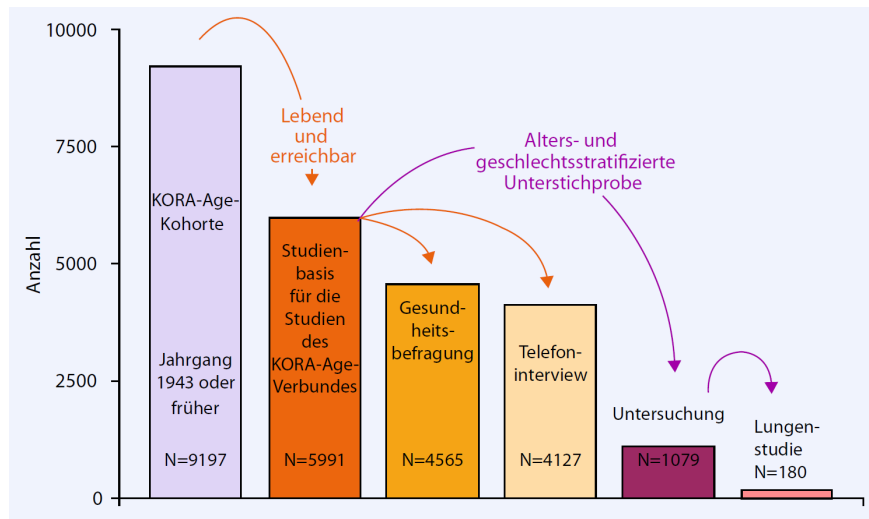


Abbildung 6b. Untersuchungsablauf in der KORA-Age Studie (Peters et al., 2011)

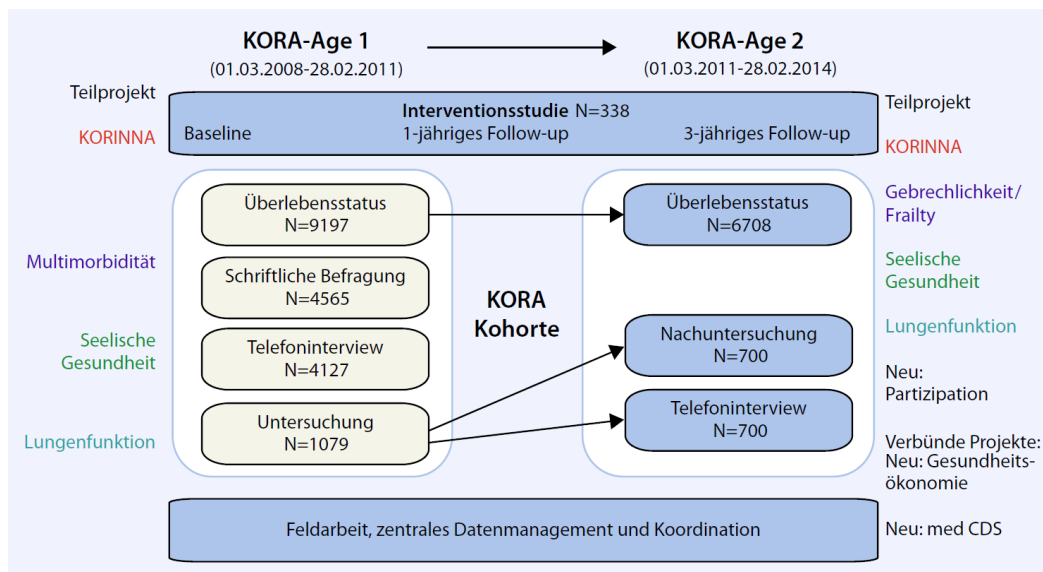


Abbildung 6c. Überblick über die KORA-Age Studie in der ersten und zweiten Förderphase (Peters et al., 2011)

2.1.3 Schriftliche Befragung zum Gesundheitsstatus

Den Probanden wurde im ersten Schritt ein Fragebogen zugeschickt, um den allgemeinen Gesundheitsstatus zu ermitteln. Gefragt wurde nach dem Auftreten von Hypertonie, Herzinfarkt, Schlaganfall, Diabetes, Frakturen, Krebs- und Lungenerkrankungen. Des Weiteren wurde nach Rauchgewohnheiten, allgemeinem Wohlbefinden (Bech, 2004), Lebensqualität (Hunger et al., 2011) und Medikamenteneinnahme gefragt. Für den Fall, dass die Probanden schriftlich nicht antworteten, wurde versucht sie telefonisch zu kontaktieren, um die Fragen zu beantworten. Zu 76,2% der kontaktierten Teilnehmer konnten Informationen zu ihrer Gesundheit eingeholt werden. Von diesen antworteten 3833 Teilnehmer (84%) schriftlich, während 732 Teilnehmer (16%) im Telefongespräch den Fragebogen beantworteten (Peters et al., 2011).

2.1.4 Telefoninterview zum Gesundheitsstatus

Im Abstand von vier Wochen nach der schriftlichen Befragung wurden die Teilnehmer gebeten sich für ein Telefoninterview zur Verfügung zu stellen. Die Interviews wurden von zertifizierten Interviewer/innen geführt. Im Telefoninterview wurden unter anderem die Angaben aus dem schriftlichen Fragebogen nochmals überprüft. In folgender Tabelle sind die im Telefongespräch ermittelten Fragen aufgeführt. 68,9% der zuvor schriftlich Kontaktierten nahmen am Telefoninterview teil. Um eine Qualitätssicherung zu garantieren, wurden die Telefonate aufgezeichnet und anschließend ausgewertet, um Interviewer/innen bei Bedarf nachzuschulen (Perna et al., 2012).

Parameter	Inhalt	Instrumente	Proxy-Interview
Soziodemographie und Sozioökonomie	Geschlecht, Geburtsdatum, Familienstand, Haushaltsgröße, Haushaltseinkommen	Kurzform der Demographischen Standards der Deutschen Gesellschaft für Epidemiologie [14, 49]	Ja
Inanspruchnahme medizinischer Leistungen	Inanspruchnahme von Allgemein-/Fachärzten (letzte 3 Monate), Krankenhausaufenthalt (letzte 12 Monate), Pflegeversicherung	Übernommen aus KORA-Studie [24, 36]	Ja
Multimorbidität	19 häufige Erkrankungen	Fragebogenversion des Charlson-Comorbidity-Index [12]	Ja
Chronisch obstruktive Lungenerkrankungen (COPD)	Rauchverhalten; Passivrauchen; Arzt diagnose Asthma, chronische Bronchitis, Emphysem, Heuschnupfen	Symptome und Risikofaktoren für eine COPD gemäß den Standards der WHO [44, 56]	Ja
Zahngesundheit	Schwierigkeiten beim Kauen, Schmerzen im Mundbereich	Oral-Health-Impact-Profile-Fragebogen [1]	Nein
Augenerkrankungen	Katarakt, Glaukom, weitere Augenerkrankungen	Übersetzung der NHANES-Fragen [51]	Ja
Schlafgewohnheiten	Schlafdauer, Schlafqualität	Übernommen aus KORA-Studie [24, 36]	Ja
Restless-legs-Syndrom	1-Item-Screeningfrage	Screening auf Restless-legs-Syndrom [17]	Nein
Depressive Stimmung	Selbst eingeschätzte depressive Symptome	Deutsche Kurzform der GDS-15 [59])	Nein
Ernährung	Gewichtsveränderungen, Auslassen von Mahlzeiten, Schluckbeschwerden, Verzehr von Obst und Gemüse, Flüssigkeitsaufnahme	Deutsche Kurzform des SCREEN-II-Fragebogens [31]	Ja
Gleichgewicht/Stürze	Stürze und Gleichgewichtsstörungen	Übersetzung der NHANES-Fragen [51]	Ja
Alltagstätigkeiten	Behinderung und Einschränkungen bei Alltagstätigkeiten	HAQ-DI [9, 10, 11]	Ja
Körperliche Aktivität	Sportliche Aktivitäten im Sommer und Winter, Spazierengehen	Übernommen aus MONICA [37]	Ja
Alkoholkonsum	Konsum (letzte 12 Monate); bei aktuellen Konsumenten: Häufigkeit; bei Abstinenten: Begründung für Abstinenz	Übernommen aus Bundesgesundheits survey 1998 [38]	Ja
Resilienz	Psychische Widerstandsfähigkeit	Deutsche Kurzform der RS-11 [46, 52]	Nein
Generalisierte Angststörungen	Angst und Beunruhigung	Deutsche Kurzform der GAD-7 [47]	Nein
Gedächtnisbeeinträchtigungen	2 Fragen zur subjektiven Gedächtnisbeeinträchtigung	Fragen aus der Feldstudie im Rahmen des Kompetenznetzes Demenzen [26]	Nein
Kognitiver Status	Screening von kognitiven Beeinträchtigungen: Orientierung, Gedächtnis, Rechenfähigkeit, Sprach- und Abstraktionsvermögen	Deutsche Form des Telephone Interview for Cognitive Status [13, 42]	Nein, AD8-Interview [18]
Parkinson	Parkinson-Symptome wie Zittern oder Gleichgewichtsstörungen	Instrument im Rahmen des Kompetenznetzes Parkinson entwickelt [23]	Ja
Essenzieller Tremor	Zittern und ähnliche Symptome in der Familie	Fragebogen zur Diagnose des essenziellen Tremors [35]	Ja

Abbildung 6d. Instrumente des Telefoninterviews (Peters et al., 2011)

2.1.5 Untersuchung der Subgruppe aus der KORA-Age Kohorte

Aus denjenigen, die zuvor am Telefoninterview teilgenommen hatten, wurde in möglichst gleichmäßiger Geschlechtsverteilung und in fünf Altersgruppen mit je ca. 100 Personen gestaffelt eine Kohorte für die Teilnahme am medizinischen Untersuchungsprogramm bestimmt (Peters et al., 2011). Die in der Befragung und Untersuchung angewandten Variablen sind der Abbildung Nr. 6e zu entnehmen. Während der Untersuchung wurden Blutproben von den Teilnehmern genommen, aus denen Basislaborparameter bestimmt wurden.

Parameter	Inhalt	Instrumente	Proxy-Interview
Beschwerdeliste	Symptomatische Belastungen in der letzten Woche	SCL-90-R-Subskala Somatisierung [8, 22]	Nein
Schwerhörigkeit/Hörgerät	Probleme beim Hören und Verwendung eines Hörgeräts	Übernommen aus SHARE [7]	Ja
Inanspruchnahme medizinischer Hilfen	Anzahl der Konsultationen von Fachärzten (letzte 3 Monate); Anzahl der Zahnarztbesuche (letzte 12 Monate); Krebscreening (letzte 2 Jahre)	Modifizierte Fragen aus der KORA-Studie [24, 36] und SHARE [43]	Ja
Naturheilverfahren	Verwendung von Naturheilverfahren im letzten Jahr und vor 25 Jahren	Härtel et al. [21]	Nein
Frauenfragen	Wechseljahre; operative Eingriffe an Eierstöcken und Gebärmutter sowie Durchführung einer Hormontherapie	KORA-Studie [24, 36]	Ja
Arthrose	Symptome der Arthrose und Schmerzen	Übersetzung der NHANES-Fragen [51]	Ja
Stress und Lebenszufriedenheit	Selbst wahrgenommener Stress und allgemeine Lebenszufriedenheit	Kurzform der Life Event Scale [17] und Satisfaction with Life Scale [15]	Nein
Einsamkeit	Erfahrung von Einsamkeit	Deutsche Version der UCLA Loneliness Scale [45]	Nein
Spirale für den essenziellen Tremor	Aufgabe, eine Spirale zu zeichnen	Fragebogen zur Diagnose des essenziellen Tremors [35]	Nein
Soziales Netzwerk	Familienstand; familiäre, freundschaftliche und kommunale Netzwerke	Social Network Index [6, 57]	Nein
Bindungsstile	Einschätzung des Bindungsstils zur bedeutendsten Bezugsperson	BBE [2, 3]	Nein
Körperliche Aktivität	Körperliche Aktivität aus 4 Bereichen: Beruf, Haus-/Gartenarbeit, sitzende Tätigkeiten und Freizeit	PASE [53, 54].	Nein
Alkoholkonsum	Die Einnahme von Bier, Wein und Spirituosen am letzten Wochenende und letzten Werktag	Recall-Methode, übernommen aus KORA-Studie [16]	Ja

Abbildung 6e. Instrumente des Untersuchungsinterviews (Peters et al., 2011)

Bereich	Parameter	Gerät/Methode
Medikamenteneinnahme	Einnahme von Fertigarzneimitteln in den letzten 7 Tagen (Menge, Frequenz, PZN, ATC-Code)	IDOM-Eingabesoftware [40]
Blutabnahme	Blutabnahme im Sitzen, nicht nüchtern; Serum, Plasma, Vollblut; Lagerung tiefgefrorener Materialien	
Speichel	Kortisol; 3 Proben: 1. spät am Abend, 2. morgens vor dem Aufstehen, 3. 30 min nach dem Aufstehen	Salivette® für Probenentnahme, IBL Cortisol LIA Kit Insert
Blutdruckmessung	Systolische und diastolische Werte, Pulsfrequenz	HEM 705CP-II, Omron Corp.
Lungenfunktionsparameter	Fluss-Volumen-Kurve (FVC, FEV ₁ , PEF, MEF75, MEF50, MEF25; [39]); IOS [55]; FeNO [4]	Jaeger MasterScope PC, CareFusion (Fluss-Volumen-Kurve, IOS) NIOX Flex, Aerocrine (FeNO)
Anthropometrie	Körpergröße, -gewicht; Taillen-, Hüft-, Oberarm- und Wadenumfang; BMI, WHR	Plattformwaage SECA 635; Messlatte SECA 242; Maßband SECA 201
Bioimpedanzanalyse	Körperfettanteil (%), Fettfreie Masse (kg), Körperfett (kg)	BIA 2000-S, DATA-INPUT GmbH
Knöchel-Arm-Index	Messung beidseits	Mini Doppler, Modell Nr. D900, HNE Healthcare Blutdruckmessgeräte, Welch Allyn
Greifkraftmessung	3 Messungen an dominanter Hand (kg)	JAMAR, Saehan Corp.
Ganganalyse	Laufzeit (s), Kadenz (Schritte·min ⁻¹), Schrittlänge, Schrittdauer, Geschwindigkeit (cm·s ⁻¹)	Gangmatte GAITRite Platinum 6 m (4,8 m Messbereich), CIR Systems, Inc.
Ultraschall der Ferse	Schallgeschwindigkeit, Breitbandultraschallabschwächung, Steifigkeitsindex	Achilles Insight, GE Healthcare
Elektrokardiogramm	12-Kanal-Ruhe-EKG (10 s)	AMEDTEC ECGpro/PC-basierte automatische Analyse mit dem HES-Programm sowie visuelle Analyse nach klinisch-kardiologischen Kriterien

Abbildung 6f. Instrumente der Untersuchung (Peters et al., 2011)

2.1.6 Qualitätssicherung und Pilotstudie

Das Datenmanagement und die Qualitätssicherung wurden in einem eigenen Teilprojekt zusammengeschlossen (Peters et al., 2011). Dieses Teilprojekt befasste sich mit der Koordinierung der Studienabschnitte, der Qualitätsüberprüfung und der epidemiologischen Methodik der Studie. Das Team des KORA-Studienzentrums Augsburg war für die Durchführung der Be-

fragungen, des Untersuchungsprogramms zuständig, während das Helmholtz Zentrum München die Fragebogeninstrumente etablierte und das Zentrum des Datenmanagements bildete. Im Rahmen der Maßnahmen zur Qualitätssicherung wurde ein externes Gremium einberufen. Zu den Instrumenten der KORA-Age-Kohorte wurden Studienmanuals erarbeitet. Vor Studienbeginn wurde eine Testphase an Studienteilnehmern in vergleichbarem Alter durchlaufen. In der Pilotstudie beantworteten 198 Studienteilnehmer den schriftlichen Fragebogen, 51 nahmen an einem Telefoninterview teil und 53 durchliefen das Untersuchungsschema. Zur Qualitätssicherung wurden die Gespräche mit Einverständnis der Probanden aufgezeichnet. Die erhobenen Probandendaten und Aufnahmen wurden in einem wöchentlichen Rhythmus an das Helmholtz Zentrum München zur Vollständigkeits- und Plausibilitätsüberprüfung übermittelt (ebd.).

2.2 Gewinnung der Speichelproben in KORA-Age I & II

Für die Cortisolmessung im Speichel wurden im Endokrinologischen Labor der Medizinischen Klinik – Innenstadt AG Bidlingmaier die Testkits für die Probanden zusammengestellt und an das Studienzentrum in Augsburg geschickt, von wo aus sie anschließend an die Probanden verteilt wurden. Ein Testkit enthielt drei Salivetten für die ambulante Selbstmessung zu Hause sowie eine zusätzliche Salivette, an der der Proband unter Anleitung im Studienzentrum lernte, wie der Test korrekterweise durchzuführen ist. Den hygienischen Vorschriften gemäß waren die Salivetten in einer Plastiktüte und diese wiederum in eine Versandbox vom Hersteller Sars- tedt für Probenmaterial (auch T-Box genannt) verpackt. Letztere wurde im Vorhinein frankiert und an das Endokrinologische Labor der Medizinischen Innenstadt AG Bidlingmaier adressiert, sodass der Proband nach der Speicheltestdurchführung lediglich die T-Box in den nächsten Briefkasten zu werfen brauchte. Auf diese Weise sollte dafür gesorgt sein, dass die Proben mit einer möglichst geringen zeitlichen Verzögerung in das endokrinologische Labor ankamen. Folgende Ausschlusskriterien für die Speichelmessung wurden im Vorfeld definiert:

1. Der Proband versteht nicht, wie er den Test zu Hause durchführen soll.
2. Der Proband leidet an schweren Schluckbeschwerden oder neurologischen Defiziten.
3. Der Proband leidet unter Demenz.
4. Der Proband ist bettlägerig.

Die Testsalivette (siehe Abb. 7a) ist so konstruiert, dass der Proband die Watterolle aus dem Röhrchen nehmen kann ohne sie mit der Hand berühren zu müssen. Das Testkit besteht aus einem äußeren Röhrchen mit Schraubverschluss und einem inneren Einhängegefäß. Nachdem

der Proband die Watterolle für ca. 2 Minuten im Mund – entweder unter der Zunge oder leicht kauend – gehabt hat, wird diese – ohne sie zu berühren – direkt in das Einhängegefäß ausgespuckt. Das innere Einhängegefäß wird anschließend mit einem Stopfen verschlossen. Erst im Labor wird das Einhängegefäß vom dem Röhrchen getrennt.



Abbildung 7a. Bestandteile einer Salivette

Die erste Probe, die sogenannte „Demosalivette“, wurde bereits während des Untersuchungstermins im Studienzentrum unmittelbar vor der Blutabnahme abgegeben. Die drei für den ambulanten Test zuhause bestimmten Salivetten wurden mit „Abends“ auf einem roten und mit „Morgens 1“ und „Morgens 2“ auf je einem gelben Aufkleber markiert. Die Proben sollten unter möglichst normalen Alltagsbedingungen abgenommen werden: als erstes die „Abends“-Probe am späten Abend unter Ruhebedingungen, am darauffolgenden Morgen eine Morgenmessung („Morgens 1“) unmittelbar nach dem Aufwachen und noch vor dem Aufstehen und eine weitere („Morgens 2“) im Abstand von 30 Minuten. Zur Protokollierung des Speichelabgabedatums sowie der Zeiten erhielten die Probanden einen Begleitschein, der zusammen mit den Proben zurück an das endokrinologische Labor geschickt wurde. In diesem sollten die Probanden auch vermerken, ob sie sich an die Anweisung hielten, 30 min vorher nichts zu essen bzw. zu trinken, nicht zu rauchen und sich auch nicht die Zähne zu putzen. Weitere Fragen des Begleitscheins (siehe Anhang) waren, ob der Proband innerhalb der Stunde vor der Abendmessung Zeitdruck oder Anspannung („Stress“) verspürte, ob die erste Morgenmessung vor dem Aufstehen genommen wurde, ob der Proband in der Nacht schlecht schlief und ob er „viel zu

früh“ wach wurde. Nach erfolgter Speichelsammlung sollten die Studienteilnehmer die Proben im Kühlschrank aufbewahren und noch am gleichen Tag mit der mitgelieferten Versandbox zurückschicken. Im endokrinologischen Labor wurden die Proben bei -20° bis zur Messung gelagert, die Begleitscheine gesammelt und deren Inhalt in eine Excel-Tabelle übertragen.



Abbildung 7b. Salivetten der ambulanten Speichelgewinnung



Abbildung 7c. Versandbox der ambulanten Speichelproben

2.3 Labormethodik

2.3.1 Bestimmung von Cortisol im Speichel

2.3.1.1 Testprinzip des kompetitiven Immunoassays

Der kompetitive Immunoassay ist ein Messverfahren, das auf der Konkurrenz zwischen dem Analyten aus der Probe und einem markierten Analogon um die Bindung an beschränkt vorhandenen Antikörpern beruht (Thomas, 2000). Eine definierte Menge an einem Marker gekop-

peltes Analogon (markiertes Antigen, auch Tracer genannt) wird der Probe des Probanden oder Patienten zugegeben, in der sich eine unbekannte, zu bestimmende Menge Antigene befindet. Beide Anteile konkurrieren um die Bindungsstelle einer definierten Menge Antikörper, die sich im für diese Arbeit verwendeten Test auf Mikrotiterplatten befinden. Die Antikörper sollten dabei die gleich starke Affinität zu den markierten wie zu den unmarkierten Antigenen haben. Nach abgeschlossener Inkubation – der Zeit, in der sich die Antigen-Antikörper-Komplexe bilden – wird durch Waschen das freie Antigen von an Antikörper gebundenen Antigenen entfernt. Anschließend wird – je nach verwendetem Marker – eine Reaktion ausgelöst, die den gebundenen Tracer in ein messbares Signal übersetzt. Im Falle des in dieser Arbeit verwendeten Lumineszenz-Immunoassays (LIA) wird durch ein an einen Tracer gekoppeltes Enzym nach Zugabe einer Substratlösung Lumineszenz bestimmter Intensität emittiert, die von einem Luminometer gemessen wird und als Maß der quantitativen Hormonbestimmung dient. Die Signalarstärke steht beim kompetitiven Assay indirekt proportional zu der Menge unmarkierter Antigene und somit zu der zu messenden Hormonkonzentration. Je mehr zur Lumineszenzanregung fähige, markierte Antigene also mit Antikörpern einen Komplex bilden, desto heller wird das Signal und desto geringer ist die Konzentration der gesuchten Substanz aus der Probe (ebd.).

2.3.1.2 Messdurchführung im LIA

Zur Vorbereitung des Testkits werden je 50 µL der Standards, der Kontrollen und der zu messenden Proben sowie anschließend 100 µL Enzymkonjugat in die Wells der Mikrotiterplatte pipettiert (IBL Arbeitsanleitung, Version 2009). Die Platte wird mit Folie luftdicht abgedeckt und für 2 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°) auf einem Orbitalschüttler (500 U/min) inkubiert. Nach erfolgter Inkubation wird die Folie entfernt, die Inkubationslösung verworfen und die Platte 4-mal mit je 250 µL verdünntem Waschpuffer gewaschen. Die Platte sollte auf Papierstreifen ausgeklopft werden, um verbleibende Flüssigkeit zu entfernen. Daraufhin wird in der zu messenden Reihenfolge in jedes Well 50 µL einer Substratlösungs-Mischung (Chemilumineszenz Reagenz), die sich aus einem Luminol Verstärker und einer Peroxidlösung im Verhältnis eins zu eins zusammensetzt, pipettiert. Nach 10 Minuten Wartezeit wird schließlich die Lumineszenz als relative Lumineszenzeinheiten (RLU) mittels eines Luminometers gemessen. Mittels aller Werte der Standards wird eine Standardkurve berechnet, sodass die Konzentrationen der Proben von der Standardkurve abgelesen werden können (ebd.).

2.3.2 Bestimmung von Cortisol im Serum

2.3.2.1 Testprinzip des Chemilumineszenz Immunoassays

Die quantitative Cortisolbestimmung mittels des LIAISON-Tests (DiaSorin, Version 2009) ist ein voll automatisierter Lumineszenzimmunoassay. Im speziellen Fall der Cortisolmessung verläuft der automatisierte Assay analog zu dem oben beschriebenen manuellen Assay: Ein Cortisol-Enzym-Konjugat bedeckt die magnetische Komponente und bildet die solide Phase (analog zum Boden der Mikrotiterplatte im manuellen Assay), während ein monoklonaler Antikörper, der als Tracer fungiert, an ein Isoluminol-Derivat gebunden ist. Während der Inkubation konkurriert das Cortisol der Probe mit dem Cortisol-Enzym-Konjugat um die Bindungsstelle der Antikörper. Nach erfolgter Inkubation wird das ungebundene Material durch Waschung entfernt. Anschließend werden die Starterreagenzien hinzugefügt und eine Chemilumineszenz-Reaktion wird ausgelöst. Das dadurch erzeugte Lichtsignal steht umgekehrt proportional zum Cortisolgehalt der Serumproben.

2.3.2.2 Messdurchführung im LIAISON

Ein Reagenz-Integral, das für 100 Messungen geeignet ist, setzt sich zusammen aus der Magnetpartikelsuspension (2,3 ml) – Magnetpartikel, die mit Cortisol-Enzym-Konjugat beschichtet sind –, einer Tracerlösung (7 ml) – mit einem Luminolderivat markierte monoklonale Anti-Cortisol-Antikörper –, einem niedrigem (1 ml) und einem hohen (1 ml) Kalibrator und 23 ml Assay-Puffer (DiaSorin Arbeitsanleitung, 2011). Bevor die Versiegelung des Reagenz-Integrals entfernt wird, wird es horizontal geschwenkt. Daraufhin wird das Zahnradchen am Magnetpartikelkompartiment in beide Richtungen gedreht, bis eine Braunfärbung der Suspension erkennbar wird, wodurch die Resuspension der Magnetpartikel angezeigt wird. Das Reagenzintegral wird in dem Reagenzbereich des Gerätes platziert und vor dem Start der Messung für 30 min stehen gelassen. In dieser Zeit werden die Magnetpartikel automatisch bewegt und homogen suspendiert. Der LIAISON-Analyser vollführt automatisch die Pipettierschritte des Assays in folgender Reihenfolge: Zugabe von 50 µL Probe, Kalibrator bzw. Kontrolle, 180 µL Pufferlösung, 50 µL Tracersubstanz, 20 µL Pufferlösung und 20 µL Magnetpartikelsuspension. Nach 10-minütiger Inkubation, gefolgt von einem Waschgang, wird nach automatischer Substratzugabe 3 Sekunden lang gemessen. Für jede Probe wird vom Analyser die Cortisol-Konzentration mittels einer Kalibrationskurve berechnet (ebd.).

2.3.3 Bearbeitung der zur Verfügung gestellten Probandendaten

Im Rahmen der Projektvereinbarung (siehe Anhang 2) standen aus dem Gesamtdatensatz der KORA-Age-Studie die speziell für die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit relevanten Variablen in Form einer Excel-Tabelle zur Verfügung. Die Aufbereitung der Daten und die Datenbankverwaltung erfolgten mit Microsoft Excel und Microsoft Access 2000 (9.0.2812). Folgende nachträgliche Änderungen bzw. Ergänzungen wurden vorgenommen:

- In dem Original-Datensatz waren die Speichel-Cortisolmesswerte aus KORA-Age I in ng/ml auf 3 Stellen nach dem Komma angegeben, was weder der Messgenauigkeit, noch der im klinischen Alltag üblichen Verwendung entspricht. Daher wurden die Messwerte auf eine Kommastelle genau gerundet. Außerdem wurden alle Werte in KORA-Age I und II, die kleiner waren als 0,3 ng/ml auf 0,3 ng/ml gesetzt, da dies der untersten Messgrenze des Assays entspricht.

Verwendeter Befehlscode in Excel (CG entspricht der Spalte der ursprünglichen Messergebnisse): =WENN(CG2="";"";WENN(CG2<0,3;0,3;RUNDEN(CG2; 1)))

- Anhand der protokollierten Abnahmezeiten der abendlichen Speichel-Probengewinnung wurde folgende zeitliche Kategorisierung eingefügt:

Tabelle 1. Zeitintervalle der abendlich abgenommenen Proben

Gruppe A	vor 20:00 Uhr
Gruppe B	20:01-21:00 Uhr
Gruppe C	21:01-22:00 Uhr
Gruppe D	22:01-23:00 Uhr
Gruppe E	23:01-23:59 Uhr
Gruppe F	Nach Mitternacht

Dafür wurde folgende Kodierung in Excel (DD entspricht der Spalte der Abnahmezeiten) verwendet:

=WENN(DD2="";"";WENN(DD<ZEIT(2;0;0);"F";WENN(DD<=ZEIT(19;59;1);"A";WENN(DD<=ZEIT(21;0;0);"B";WENN(DD<=ZEIT(22;0;0);"C";WENN(DD<=ZEIT(23;0;1);"D";WENN(DD<=ZEIT(23;59;0);"E";))))))

- Die Probanden wurden gemäß folgendem Schema in vier Altersstufen eingeteilt:

Tabelle 2a. Altersstufen in KORA-Age I

Gruppe A	65-70
----------	-------

Gruppe B	71-75
Gruppe C	76-80
Gruppe D	81-90

Verwendete Kodierung in Excel (C entspricht der Spalte des erfassten Probandenalters):

=WENN(C<71;"A";WENN(C>80;"D";WENN(C>75;"C";WENN(C>70;"B")))))

Tabelle 2b. Altersstufen in KORA-Age II

Gruppe A	68-72
Gruppe B	73-77
Gruppe C	78-82
Gruppe D	83-92

Verwendete Kodierung in Excel (EB entspricht der Spalte des erfassten Probandenalters):

=WENN(EB<73;"A";WENN(EB>82;"D";WENN(EB>77;"C";WENN(EB>72;"B")))))

2.3.4 Statistik

Die Daten wurden mit dem Programmen IBM SPSS Statistics 22 und Graph Pad Prism 5 for Windows (Version 5.03) statistisch ausgewertet. Bei metrischen Variablen wurden der Mittelwert mit Standardabweichung (SD) und Standardfehler, der Median sowie Maximum und Minimum berechnet.

Die Programme Microsoft Excel und Graph Pad Prism 5 for Windows dienten der graphischen Darstellung von Diagrammen oder Boxplots. Im Boxplot sind die Lage des Medians, das untere (25%) und obere Quartil (75%) sowie die Extreme der Messwerte kenntlich gemacht.

Zur Darstellung der Korrelation zwischen der Cortisolmessung im Speichel und im Serum wurde ein Streudiagramm mit Regressionsgerade erstellt. Die Untersuchung auf einen linearen Zusammenhang zwischen den beiden metrischen Variablen wurde mit dem Korrelationskoeffizienten nach Spearman durchgeführt.

Zum Vergleich der Mittelwerte von Cortisol „Abends“ in KORA-Age I und II wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für nicht-parametrische Daten zweier gepaarter Stichproben herangezogen.

Da die Messwerte zum Cortisol nicht normalverteilt sind, wurden die statistischen Analysen mittels nicht-parametrischer Tests durchgeführt. Für die statistische Überprüfung signifikanter Unterschiede zweier Gruppen kam der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test zur Anwendung. Lagen mehr als zwei zu vergleichende Gruppen vor, so wurde der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Die Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests werden durch Angabe der Prüfgröße U, der Anzahl der Patienten in beiden Stichproben und der Irrtumswahrscheinlichkeit p dargestellt.

Zur statistischen Überprüfung signifikanter Einflüsse unter Berücksichtigung mehrerer Variablen diente die Varianzanalyse, eine Methode zur Überprüfung der Nullhypothese mehrerer gleicher Gruppenmittelwerte in der Grundgesamtheit. Die Varianzanalyse wurde ohne Gewichtung gerechnet.

Das angewandte Signifikanzniveau liegt für einen signifikanten Zusammenhang bei $p < 0,05$ und für einen hochsignifikanten Zusammenhang bei $p < 0,01$.

3 Ergebnisse

3.1 Korrelation des Cortisols zwischen der Cortisolbestimmung im Serum und der im Speichel in KORA-Age I

Von den im Studienzentrum Augsburg abgegebenen Speichelproben wurden 577 Salivetten an das Endokrinologische Labor AG Bidlingmaier der Poliklinik IV (der medizinischen Klinik Innenstadt der LMU) zurückgeschickt. Zwischen dem 23.06.2010 und dem 10.09.2010 konnten davon im Labor 567 Proben im LIA gemessen werden, während bei 10 Proben mangels Speichelmengen keine Messergebnisse erzielt werden konnten.

Wie bereits beschrieben, wurde den Probanden unmittelbar nach der Speichelgewinnung im Rahmen der körperlichen Untersuchung Blut abgenommen (siehe Kap. 2.1.5). Aus den 1046 genommenen Blutproben, in denen im LIAISON-Test im Endokrinologischen Labor der Serumcortisolspiegel gemessen wurde, wurden die Messergebnisse denen der Salivetten zugeordnet. Damit ließ sich in einem Kollektiv von 567 Probanden ein Vergleich zwischen der Cortisolmessung im Speichel zu der im Serum vornehmen.

Die Untersuchung hinsichtlich einer Korrelation brachte folgendes Ergebnis (siehe Abb.). Nach Spearman korrelieren die Speichelmessungen mit den Serumergebnissen mit einer Steigung von 0,02165 zu 0,02618 bei einem Regressionskoeffizienten $r = 0,7169$ (Konfidenzintervall 95%: 0,6730 zu 0,7557; Signifikanz $p < 0,0001$). Damit liegt der Anteil des im Speichel gemessenen Cortisols zwischen 2,2% und 2,6% des Serumcortisols. Der Speicheltest erwies sich damit als sehr valide gegenüber der Serummessung.

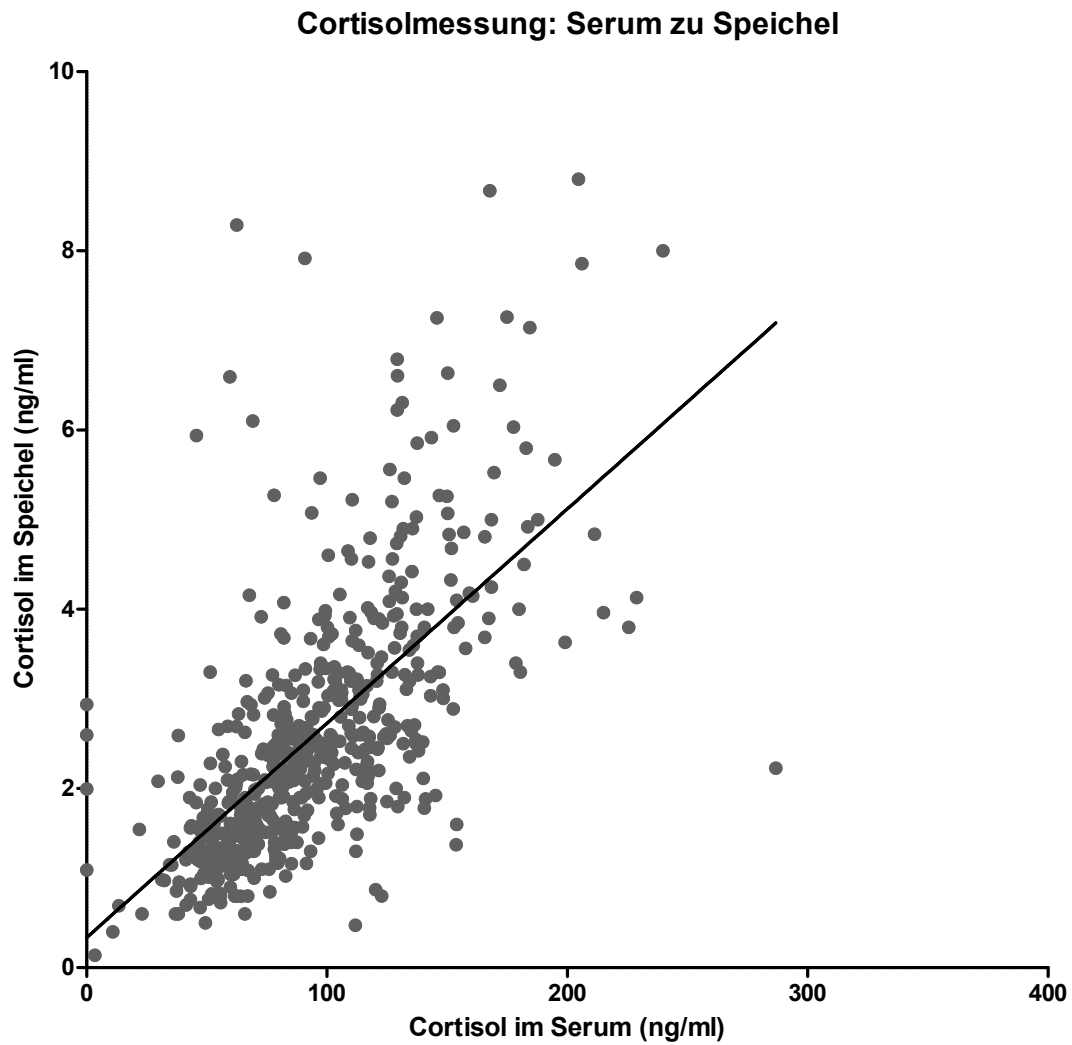


Abbildung 8. Korrelation der Cortisolbestimmung im Serum zu der im Speichel

Tabelle 3. Lineare Regressionsanalyse – Cortisol im Serum zu Cortisol im Speichel

Anzahl	N=567
Slope	0,02391 +/- 0,001157
Y-Schnittstelle	0,3365 +/- 0,1168
X-Schnittstelle	-14,07
1/slope	41,82
Konfidenzintervall 95%	0,6730 – 0,7557
Spearman r	0,7169
P-Value	< 0,0001

3.2 Vollständigkeit und Messung der Speichelproben in KORA-Age I

In der KORA-Age-I-Studie wurden zwischen dem 20.03.2009 und dem 25.11.2009 insgesamt von 820 ausgegebenen 808 Versandboxen an das Endokrinologische Labor zurückgeschickt. Von den 808 Boxen enthielten 804 alle Röhrchen, während in 2 die Röhrchen der Abend- und in einer die der Morgenmessungen fehlten. In einer Box fehlten alle 3 Röhrchen. Somit lagen in der Summe 2416 Proben vor. Die Proben wurden optisch auf Verfärbungen kontrolliert, wobei keine größeren Kontaminationen erkannt werden konnten. Die Messung der Salivetten erfolgte zwischen dem 23.06.2010 und dem 10.09.2010 im LIA. Bei 16 Proben in den „Abends“- , 21 in den „Morgens 1“- und den „Morgens 2“-Röhrchen war zu wenig Speichel oder kein Speichel für die Messung vorhanden.

Tabelle 4a. Anzahl der Messergebnisse aus 808 zurückerhaltenen Testkits in KORA-Age I

„Abends“	792 (98,0%)
„Morgens 1“	788 (97,5%)
„Morgens 2“	788 (97,5%)

3.3 Vollständigkeit und Messung der Speichelproben in KORA-Age II

In der KORA-Age-II- Studie gingen zwischen dem 16.2.2012 und dem 19.7.2012 von den im Studienzentrum verteilten 690 Testkits 675 Testkits im Endokrinologischen Labor ein. Damit lag die Rücklaufquote bei 97,8%. Vom 14.12.2012 bis zum 31.01.2013 wurden die Proben im LIA gemessen. Wegen zu wenig oder nicht vorhandenem Speichel konnten in fünf „Abends“- Röhrchen, 13 „Morgens 1“- und 15 „Morgens 2“-Salivetten keine Messergebnisse erzielt werden.

Tabelle 4b. Anzahl der Messergebnisse aus 675 zurückerhaltenen Testkits in KORA-Age II

„Abends“	670 (99,0%)
„Morgens 1“	662 (98,0%)
„Morgens 2“	660 (97,8%)

3.4 Vollständigkeit und Auswertung der Begleitscheine in KORA-Age I

In zwölf der 808 Boxen fehlten die Begleitscheine. Von den vorgefundenen Begleitscheinen waren 29 entweder gar nicht oder unvollständig ausgefüllt. In 26 Fällen fehlten die Zeitangaben der Abend-, in 20 Fällen der ersten Morgen- und in 27 Fällen der zweiten Morgenmessung. In neun Abnahmeprotokollen wurde eine Uhrzeit für „Morgens 1“ angegeben, die nach der Messzeit für „Morgens 2“ lag. Bei sieben Probanden waren die angegebenen Zeiten der beiden Morgenproben identisch. In acht Fällen lag der Zeitabstand zwischen der 1. und 2. Messung unterhalb der vorgeschlagenen 30 Minuten. 687 Probanden hielten die 30 Minuten-Pause zwischen der ersten und der zweiten Morgenmessung +/- fünf Minuten ein. Bei 52 Probanden lag der zeitliche Abstand über den 30 Min (von 37 Minuten bis maximal drei Stunden und 17 Minuten).

Acht Probanden hielten sich nicht an die Anweisung, eine halbe Stunde vor der Abendmessung nichts zu essen bzw. zu trinken. Vier Probanden rauchten unmittelbar vor der Abendmessung und zehn putzten sich kurz zuvor die Zähne. 36 Probanden verspürten innerhalb einer Stunde vor der Abnahme Zeitdruck oder Stress und 25 gaben an, erst nach dem Aufstehen ihre Speichelprobe abgegeben zu haben. 139 Probanden schliefen laut Begleitschein schlecht und 187 beantworteten die Frage, ob sie „viel zu früh“ wach geworden sind, mit „ja“. Sechs Teilnehmer hielten sich nicht daran, vor der zweiten Messung nichts zu essen oder zu trinken, zwei rauchten unmittelbar vor der Messung und acht putzten sich vorher die Zähne.

Tabelle 5a. Auswertung der Begleitscheine aus KORA-Age I

Zurückerhaltene Begleitscheine	N=793	Angaben in
--------------------------------	--------------	------------

		Prozent
nicht oder unvollständig ausgefüllt	29	3,7%
Fehlende Zeitangabe für „Abends“	26	3,3%
Fehlende Zeitangabe „Morgens 1“	20	2,6%
Fehlende Zeitangabe „Morgens 2“	27	3,4%
„Morgens 1“ zu „Morgens 2“ < 30 Min	8	1,0%
„Morgens 1“ zu „Morgens 2“ = 30 Min +/- 5 Min	687	86,6%
„Morgens 1“ zu „Morgens 2“ > 30 Min	52	6,6%
Vor der Abendmessung getrunken oder gegessen	8	1,0%
Vor der Abendmessung geraucht	4	5,0%
Vor der Abendmessung Zähne geputzt	10	1,3%
Stress vor der Abendmessung	36	4,5%
„Morgens 1“ erst nach dem Aufstehen	25	3,1%
Schlecht geschlafen	139	17,5%
„viel zu früh wach geworden“	187	23,6%
Vor „Morgens 2“ gegessen oder getrunken	6	7,6%
Vor „Morgens 2“ geraucht	2	2,5%
Vor „Morgens 2“ Zähne geputzt	8	1,0%
Alle Anweisungen korrekt befolgt	702	88,5%

Laut den Begleitscheinen lag der Zeitraum der Speichelsammlung zwischen dem 28.01.2009 und 02.11.2009. 758 Probanden protokollierten für die Abendmessung einen genauen Zeitpunkt. Die Zeitspanne reichte von 16:50 – 1:20 Uhr, wobei lediglich 35 Probanden vor 20:00 Uhr ihre Probe abgaben und 31 nach Mitternacht. Die meisten Probanden (81,5%) speichelten zwischen 21:00 Uhr und 24 Uhr (siehe Tabelle). Für die erste Morgenmessung lagen 723 Angaben vor. Der Zeitraum erstreckte sich von 1:38 Uhr bis 10:00 Uhr mit dem höchsten Anteil (90,5%) zwischen 5:00 und 8:00 Uhr. Für die zweite Morgenmessung gab es 719 Angaben, die von 3:30 bis 12:00 Uhr reichen. Hier lagen die meisten Messungen (92,8%) zwischen 6:00 und 9:00 Uhr.

Tabelle 5b. Protokollierte Zeitangaben für Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Zeitintervalle	Häufigkeit (N=758)
----------------	--------------------

16:20 – < 20:00 Uhr	35
20:00 - < 21:00 Uhr	76
21:00 - < 22:00 Uhr	231
22:00 - < 23:00 Uhr	266
23:00 - < 23:59 Uhr	121
00:00 – 01:20 Uhr	31

Tabelle 5c. Protokollierte Zeitangaben für Cortisol „Morgens 1“ in KORA-Age I

Zeitintervalle	Häufigkeit (N=723)
01:38 – < 05:00 Uhr	28
05:00 - < 06:00 Uhr	144
06:00 - < 07:00 Uhr	292
07:00 - < 08:00 Uhr	218
08:00 - < 09:00 Uhr	59
00:00 – 10:35 Uhr	14

Tabelle 5d. Protokollierte Zeitangaben für Cortisol „Morgens 2“ in KORA-Age I

Zeitintervalle	Häufigkeit (N=719)
03:30 – < 05:00 Uhr	15
05:00 - < 06:00 Uhr	59
06:00 - < 07:00 Uhr	252
07:00 - < 08:00 Uhr	302
08:00 - < 09:00 Uhr	113
09:00 – 12:00 Uhr	28

3.5 Vollständigkeit und Auswertung der Begleitscheine in KORA-Age II

Von den 675 Versandboxen in KORA-Age II enthielten 664 einen Begleitschein. Die Begleitscheine wiesen in 116 Fällen Auffälligkeiten auf. In den meisten Fällen handelte es sich um einfache, korrigierbare Schreibfehler, die zum Beispiel darin bestanden, statt „23:00 Uhr“ für die

Zeit der „Abends“-Abnahme „11:00“ zu schreiben. Bei acht Probanden waren zusätzlich handschriftlich Anmerkungen hinzugefügt (z.B. „4:30 langer Lärm in der Nachbarwohnung“ oder „Watte mit der Hand berührt“). In drei Fällen waren die Zeitangaben der beiden Morgenmessungen identisch; in weiteren drei Fällen lag die Messung „Morgens 1“ irrtümlicherweise nach der Messung „Morgens 2“.

Tabelle 6a. Auswertung der Begleitscheine aus KORA-Age II

Vorhandene Begleitscheine	N=664	Angaben in Prozent
nicht oder unvollständig ausgefüllt	24	3,6%
Fehlende Zeitangabe Abendmessung	6	0,9%
Fehlende Zeitangabe M1	8	1,2%
Fehlende Zeitangabe M2	16	24,0%
„Morgens 1“ zu „Morgens 2“ < 30 Min	7	1,0%
„Morgens 1“ zu „Morgens 2“ = 30 Min +/- 5 Min	588	88,6%
„Morgens 1“ zu „Morgens 2“ > 30 Min	47	7,0%
Vor der Abendmessung getrunken oder gegessen	7	1,0%
Vor der Abendmessung geraucht	2	3,0%
Vor der Abendmessung Zähne geputzt	4	6,0%
Stress vor der Abendmessung	41	6,2%
„Morgens 1“ erst nach dem Aufstehen	23	3,5%
Schlecht geschlafen	144	21,7%
„viel zu früh wach geworden“	213	32,0%
Vor „Morgens 2“ gegessen oder getrunken	7	1,0%
Vor „Morgens 2“ geraucht	5	0,8%
Vor „Morgens 2“ Zähne geputzt	6	0,9%
Alle Anweisungen korrekt befolgt	611	92,0%

Gemäß den Abnahmeprotokollen lag der Zeitraum der Speichelabgabe zwischen dem 06.02.2012 – 18.07.2012. Wie in KORA-Age I gaben die meisten Studienteilnehmer ihre Speichelprobe abends zwischen 21:00 Uhr und Mitternacht (83%), und morgens (M1: 89,5% und M2: 83,7%) zwischen 5:00 und 8:00 Uhr bzw. 6:00 und 9:00 Uhr ab.

Tabelle 6b. Protokolierte Zeitangaben für Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Zeitintervalle	Häufigkeit (N=646)
17:00 – < 20:00 Uhr	28
20:00 - < 21:00 Uhr	56
21:00 - < 22:00 Uhr	169
22:00 - < 23:00 Uhr	254
23:00 - < 00:00 Uhr	113
00:00 – 01:35 Uhr	26

Tabelle 6c. Protokolierte Zeitangaben für Cortisol „Morgens 1“ in KORA-Age II

Zeitintervalle	Häufigkeit (N=649)
00:10 – < 05:00 Uhr	33
05:00 - < 06:00 Uhr	129
06:00 - < 07:00 Uhr	263
07:00 - < 08:00 Uhr	189
08:00 - < 09:00 Uhr	34
09:00 – 10:17 Uhr	9

Tabelle 6d. Protokolierte Zeitangaben für Cortisol „Morgens 2“ in KORA-Age II

Zeitintervalle	Häufigkeit (N=649)
00:40 – < 05:00 Uhr	11
05:00 - < 06:00 Uhr	73
06:00 - < 07:00 Uhr	186
07:00 - < 08:00 Uhr	272
08:00 - < 09:00 Uhr	85
09:00 – 10:47 Uhr	22

3.6 Beschreibung des Probandenkollektivs mit erfolgter

Speichelmessung

Die Zahl derer, die an KORA-Age I teilnahmen und zu denen ein abendliches Cortisolmessergebnis aus dem Speichel vorliegt, beträgt 791. Die Probanden waren durchschnittlich $75,1 \pm 6,3$ (Bereich: 65-90) Jahre alt und hatten einen BMI von $28,5 \pm 4,4$ (Bereich: 18,3-49,9). Die Geschlechtsverteilung männlich zu weiblich lag bei 403 zu 388. In der Folgestudie KORA-Age II konnten 670 Probanden ermittelt werden, zu denen mindestens eine ambulante Speichelmessung vorliegt. Von diesen hatten 585 Probanden bereits an der KORA-Age I Studie inklusive ambulantem Speicheltest teilgenommen, sodass bei ihnen eine longitudinale Betrachtung über die Zeitspanne von ca. 3 Jahren möglich war. Das Durchschnittsalter der KORA-Age II Probanden ($n = 670$) betrug $77,4$ Jahre $\pm 6,0$ (Bereich: 68-92) und der BMI lag durchschnittlich bei $28,13 \pm 4,2$ (Bereich: 18,0-50,9). Der Anteil männlicher Probanden lag in dieser Studie bei 355 gegenüber 315 weiblichen Probanden. Die folgende Tabelle gibt einen differenzierten Überblick über weitere aus dem Studienarchiv des Helmholtz Zentrums eingeholte relevante Informationen zu dem Probandenkollektiv in KORA-Age I und KORA-Age II.

Tabelle 7. Beschreibung des Probandenkollektivs in KORA-Age I & II

	KORA-Age I		KORA-Age II	
Geschlecht	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich
N	404	388	355	315
Biometrische Daten	Mittelwert u. SD	Mittelwert u. SD	Mittelwert u. SD	Mittelwert u. SD
Alter (J)	75,2 ± 6,3	75,1 ± 6,3	77,5 ± 6,0	77,2 ± 6,0
BMI	28,5 ± 3,9	28,5 ± 4,8	28,4 ± 3,9	28,5 ± 4,7
Lebensstil	Anzahl (Prozent)	Anzahl (Prozent)	Anzahl (Prozent)	Anzahl (Prozent)
Regelmäßige/Gelegenheits-Raucher	20 (5,0%)	15 (3,9%)	12 (3,4%)	10 (3,2%)
Täglicher Alkoholkonsum	183 (45,3%)	69 (17,8%)	150 (42,3%)	40 (12,7%)
Belastendem Ereignis im letzten Jahr (z.B. Krankheit, Tod oder schwere Krankheit eines Angehörigen, belastende Konflikte in der Familie, Ehescheidung, Trennung, finanzielle Probleme)	107 (26,6%)	135 (34,8%)	110 (31,0%)	122 (34,4%)
Schlafverhalten				
Oft vorkommende Einschlafprobleme	49 (12,2%)	85 (21,9%)	35 (9,9%)	69 (21,9%)
Oft vorkommende Durchschlafprobleme	174 (43,2%)	185 (47,7%)	133 (37,5%)	113 (31,8%)
Oft vorkommende Tagesmüdigkeit aufgrund von Schlafproblemen	31 (7,7%)	36 (9,3%)	25 (7,0%)	29 (8,2%)
Krankheiten				
Depression	5 (1,2%)	7 (1,8%)	2 (0,6%)	7 (2,0%)
Diabetes	76 (18,9%)	65 (16,8%)	60 (16,9%)	45 (14,3%)
Hypertonie	250 (61,9%)	242 (62,4%)	203 (57,2%)	195 (61,9%)
Krebs	66 (16,4%)	41 (10,6%)	43 (12,1%)	20 (6,3%)
Erkrankung am Herzen	114 (28,3%)	110 (28,4%)	114 (32,1%)	73 (23,2%)
Erkrankung an der Leber	10 (2,5%)	10 (2,6%)	13 (3,7%)	5 (1,6%)
Erkrankung an der Niere	15 (3,7%)	15 (3,9%)	27 (7,6%)	11 (3,5%)
Apoplex	31 (7,7%)	18 (4,6%)	34 (9,6%)	23 (7,3%)
Frail	11 (2,7%)	14 (3,6%)	4 (1,1%)	9 (2,9%)
Prefrail	141 (35%)	128 (33%)	100 (28,2%)	102 (32,4%)
Multimorbidität (≥ 2 Krankheiten)	244 (60,5%)	249 (64,2%)	247 (69,6%)	228 (72,4%)
Medikamente				
Kortikosteroide	22 (5,5%)	14 (3,6%)	28 (7,9%)	28 (8,9%)
Antidepressiva	14 (3,5%)	29 (7,4%)	16 (4,5%)	30 (9,5%)
Betablocker	159 (39,5%)	152 (39,2%)	132 (37,1%)	134 (42,5%)
Antidiabetika	60 (14,9%)	50 (12,9%)	48 (13,5%)	36 (11,4%)

3.7 Messergebnisse der Speichelproben „Abends“ in KORA-Age I & II

Die Messergebnisse aus KORA-Age I und II für die Abendmessung verteilen sich folgendermaßen (siehe Histogramm). Die Werte reichen in KORA-Age I von der untersten Assaymessgrenze von 0,3 ng/ml bis 200 ng/ml, in KORA-Age II von 0,3 ng/ml bis 34,4 ng/ml. Alle Messergebnisse, die größer als 4 ng/ml ausfielen, sind im Histogramm der Übersicht halber unter „>4“ zusammengefasst.

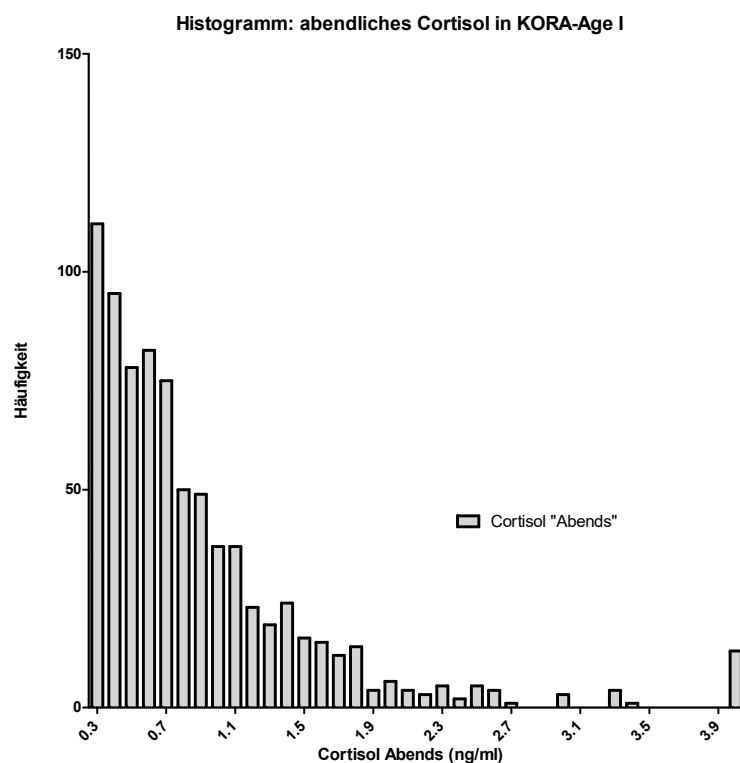


Abbildung 9a. Häufigkeitsverteilung der abendlichen Cortisolmessung in KORA-Age I

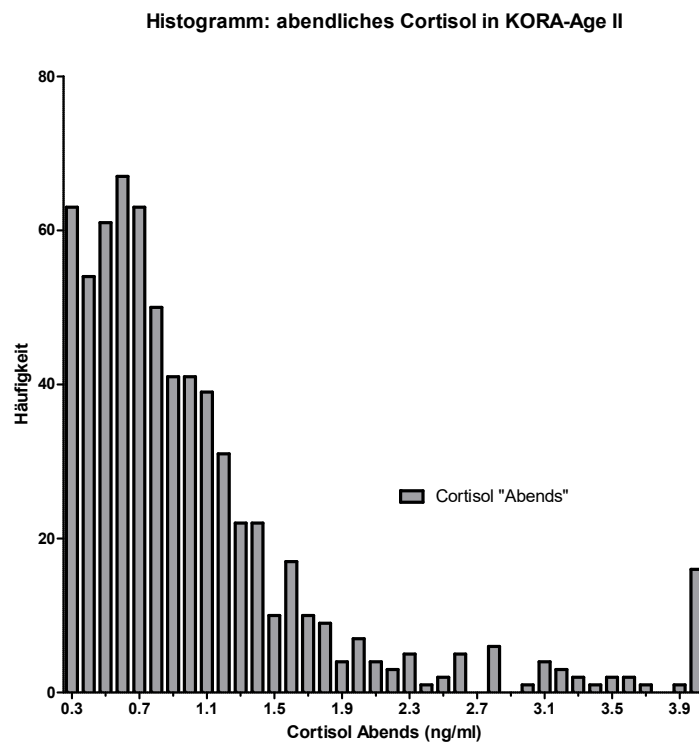


Abbildung 9b. Häufigkeitsverteilung der abendlichen Cortisolmessung in KORA-Age II

3.8 Formulierung von Ausschlusskriterien

3.8.1 Ungewöhnlich hohe Messergebnisse für das abendliche Cortisol

Bei der Betrachtung äußerst hoher Cortisolwerte in der Abendmessung, stach ein Proband mit einem abendlichen Cortisol von 200 ng/ml hervor, während die beiden Morgenwerte mit 9,7 und 8,8 ng/ml nicht auffällig waren. Der Proband war 74 Jahre alt, hatte einen BMI von 25,4, litt unter Hypertonie und leichter Depression. Er gab an ca. 30g Alkohol pro Tag zu trinken, nicht zu rauchen und keine Medikamente einzunehmen. Leber- und Nierenwerte lagen in der Norm. Laut Begleitschein hatte der Proband zum Zeitpunkt der Probenabnahme keinen Stress. Da das Messergebnis im Labor nochmals bestätigt wurde, ein Messfehler also auszuschließen ist, liegt die Vermutung nahe, dass es sich möglicherweise um eine nicht erkannte Blutkontamination der Speichelprobe handelt, die den Extremwert erklären würde. Ein entsprechender Blutnachweis blieb jedoch aus. Von den weiteren Analysen wurde dieser Proband ausgenommen.

Der am zweit höchsten gemessene Abendwert (Cortisol: 24 ng/ml) stammte von einer 81-jährigen Patientin, mit einem BMI von 25,4. Die Patientin gab an, leicht depressiv zu sein (4 von 10 auf der Depressionsskala), einen Schlaganfall erlitten zu haben und einen erhöhten Blutdruck zu haben, der mit Betablockern behandelt wurde. Die Cortisolmesswerte für „Morgens 1“ und „Morgens 2“ lagen bei 4,6 und 6,4 ng/ml. Da die Patientin im Begleitschein als Abendmesszeitpunkt „10:30“ Uhr angegeben hatte, wurde sie aus weiteren Analysen ausgeschlossen.

In KORA-Age II fanden sich unter den Extremen ebenfalls zwei Messungen, bei denen die Frage offenblieb, ob ihr hoher Cortisolwert nicht schlichtweg mit einer verkehrten Abnahmezeit zusammenhing. Ein Proband hatte einen Cortisolspiegel von 27 ng/ml und als Abnahmezeit 17:30 Uhr angegeben. Ein weiterer Proband mit einem Wert von 19,3 ng/ml hatte seinen Speichelzeitpunkt mit 09:45 Uhr protokolliert, sodass hier nicht auszuschließen ist, dass der hohe Cortisolwert in Wirklichkeit aus einer Morgenmessung stammt.

3.8.2 Cortisonbehandlung

Bereits bei der Sichtung der Proben mit den höchsten abendlichen Cortisolmessungen fiel auf, dass in KORA-Age I unter den ersten acht Probanden zwei (21,3 ng/ml und 8,3 ng/ml) eine systemische und zwei (5,9 ng/ml und 4,5 ng/ml) eine dermatologische Cortisontherapie bekamen. Auch in KORA-Age II fanden sich bereits unter den ersten vier Probanden zwei mit Messwerten von 34,4 ng/ml und 15,3 ng/ml, die topisch Kortikosteroide einnahmen.

Insgesamt waren in KORA-Age I 54 Probanden, die eine Kortikosteroidtherapie erhielten, davon 24 dermal/topisch, 26 systemisch/oral, zwei sowohl dermal als auch systemisch und vier lokal. In KORA-Age II wurden 55 Probanden mit Kortikosteroiden behandelt; unter ihnen 22 mit dermal/topischer, 24 mit systemisch/oraler und neun mit lokaler Behandlung.

Der Anteil derer, die unter Cortisonbehandlung über dem Referenzbereich von 1,5 ng/ml lagen, war in KORA-Age I und II mit 14,8% bzw. 20% gegenüber dem restlichen Probandenkollektiv mit einem Anteil von 11,6% und 15,3% minimal höher (siehe Tabelle). Bezüglich der Median gab es keine Unterschiede zwischen denen mit und denen ohne Cortisonbehandlung.

Auch wenn bezogen auf das gesamte Probandenkollektiv die Cortisontherapie den durchschnittlichen Cortisolwert nicht auf Signifikanzniveau veränderte, erschien es angesichts des hohen Anteils an Probanden mit Cortisonbehandlung unter den Ausreißern angebracht, alle Probanden mit einer Cortisonbehandlung für die weitere Analyse komplett auszunehmen. Es besteht immer die Möglichkeit, dass die Medikation indirekt über eine Veränderung des systemischen Cortisolspiegels oder direkt über die Speichelprobengewinnung zusammen mit der

Einnahme des Medikaments als Tablette oder Hautcreme im Gesicht eine Kreuzreaktivität des Assays hervorruft.

Tabelle 8. Probanden mit Cortisonbehandlung

	KORA-Age I N=788	KORA-Age II N=665
Probanden mit Cortisonbehandlung	54	55
Probanden (mit Cortisonbehandlung) mit Werten über dem Referenzbereich 1,5 ng/ml (Cushing-Screening)	8 (14,8%)	11 (20,0%)
Probanden ohne Cortisonbehandlung	734	610
Probanden (ohne Cortisonbehandlung) mit Werten über dem Referenzbereich 1,5 ng/ml (Cushing-Screening)	85 (11,6%)	93 (15,3%)
Chi-Quadrat-Test	$\chi^2 = 0,50552739$ ($p > 0.05$)	$\chi^2 = 0,86$ ($p > 0.05$)
Mann-Whitney U	19277	
Mann-Whitney: P value	0,74	

3.8.3 Unmittelbares Rauchen vor der Probeabnahme

Wie bereits unter den spezifischen Problemen des Speichelassays dargelegt, stellt das unmittelbare Rauchen zum Zeitpunkt der Speichelprobenabgabe einen potenziellen Störfaktor dar (siehe Kap. 1.1.5.4.2). In KORA-Age I gab es vier Raucher, die vor der Abendprobe geraucht hatten. Bei zwei von ihnen war das Cortisol über dem Referenzbereich von 1,5 ng/ml. In KORA-Age II hatten zwei unmittelbar vor der Messung geraucht und einer hatte einen Wert $>1,5$ ng/ml. Auch wenn damit das Kollektiv unmittelbar vor dem Speicheltest Rauchender klein war, lässt sich das Rauchen als Störfaktor bezüglich der Cortisolbestimmung nachvollziehen bzw. erahnen, weswegen sie für die weiteren Betrachtungen ausgeschlossen wurden. Für einen Signifikanznachweis des Raucheinflusses war die Zahl der Raucher jedoch mit vier in KORA-Age I und zwei in KORA-Age II zu gering.

3.9 Messergebnisse der Speichelproben „Abends“ in KORA-Age I & II nach Anwendung der Ausschlusskriterien

Unter Berücksichtigung der beschriebenen Ausschlusskriterien (siehe Kap. 3.7) ergab sich folgende neue Verteilung für das Cortisol in der Abendmessung (siehe Abb.). Bei 697 Proben in KORA-Age I, die von 0,3 bis 7,5 ng/ml reichen, lag der Median bei 0,7 ng/ml und der Mittelwert bei 0,9 (+/- 0,7 ng/ml). In KORA-Age II ergab sich in 591 Proben ein Median von 0,8 ng/ml (Min: 0,3 ng/ml; Max: 15,2ng/ml) bei einem Mittelwert von 1,1 (+/-1,0 ng/ml).

In KORA-Age I hatten 77 Probanden (11 %) einen Cortisolwert, der über dem nächtlichen Referenzbereich von 1,5 ng/ml lag, während in KORA-Age II 87 Proben (14,3%) über dem definierten Referenzbereich lagen.

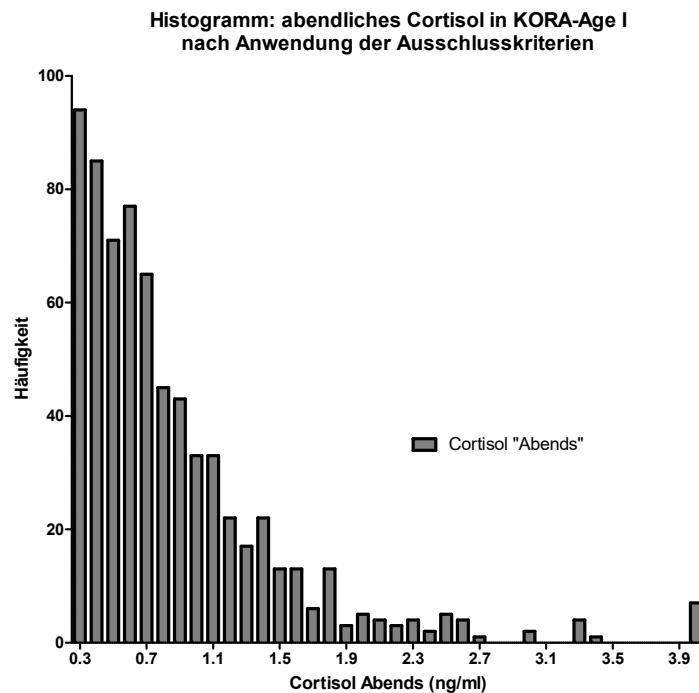


Abbildung 10a. Häufigkeitsverteilung der abendlichen Cortisolmessung in KORA-Age I nach Anwendung der Ausschlusskriterien

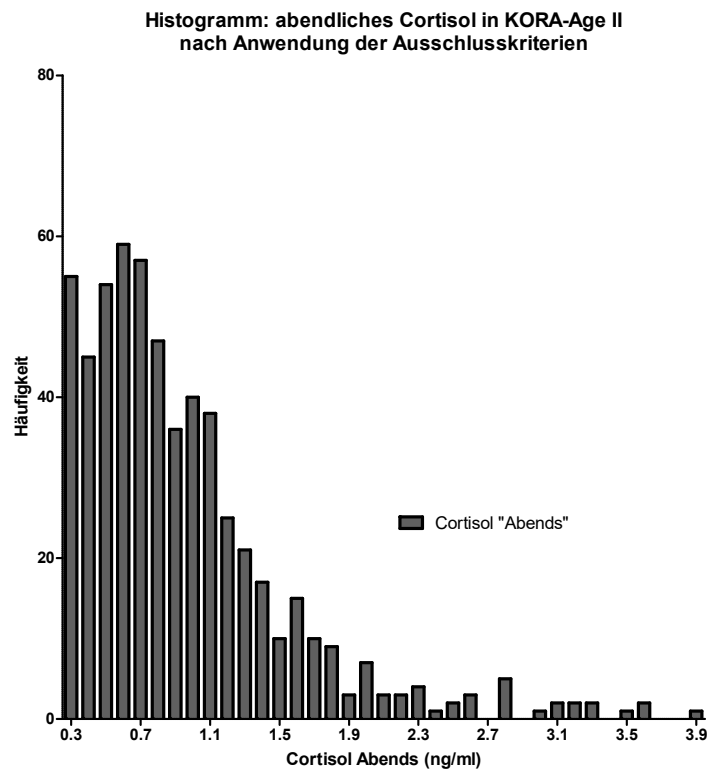


Abbildung 10b. Häufigkeitsverteilung der abendlichen Cortisolmessung in KORA-Age II nach Anwendung der Ausschlusskriterien

3.10 Das Tagesprofil in KORA-Age I & II

Nach Anwendung der Ausschlusskriterien konnte in KORA-Age I folgendes Tagesprofil aus den drei Messungen errechnet werden. Für 683 Probanden lag der Median für die Abendmessung bei 0,7 ng/ml (Bereich: 0,3 – 7,5 ng/ml), für die erste morgendliche Messung bei 4 ng/ml (Bereich: 0,3 – 20,8 ng/ml), für „Morgens 2“ bei 5,3 ng/ml (Bereich: 0,3 – 18,3 ng/ml). In KORA-Age II betrug unter 579 Probanden der Abendmedian 0,8 ng/ml (Bereich: 0,3 – 15,2 ng/ml), der Median für „Morgens 1“ 4,7 ng/ml (Bereich: 0,3 – 19,3 ng/ml) und für „Morgens 2“ 6,6 ng/ml (Bereich: 0,7 – 23 ng/ml).

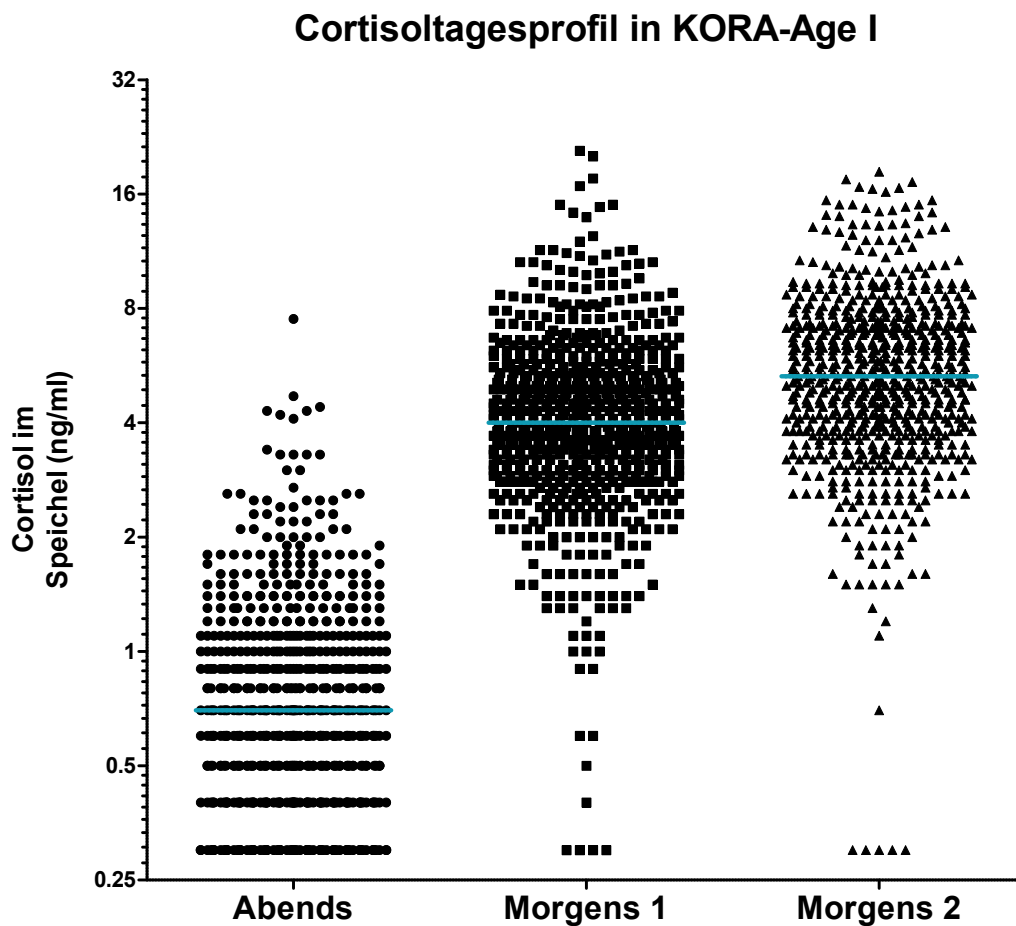


Abbildung 11a. Tagesprofil der Cortisolwerte abends und morgens in KORA-Age I. N=683; Median „Abends“ 0,7ng/ml, „Morgens 1“ 4 ng/ml und „Morgens 2“ 5,3 ng/ml.

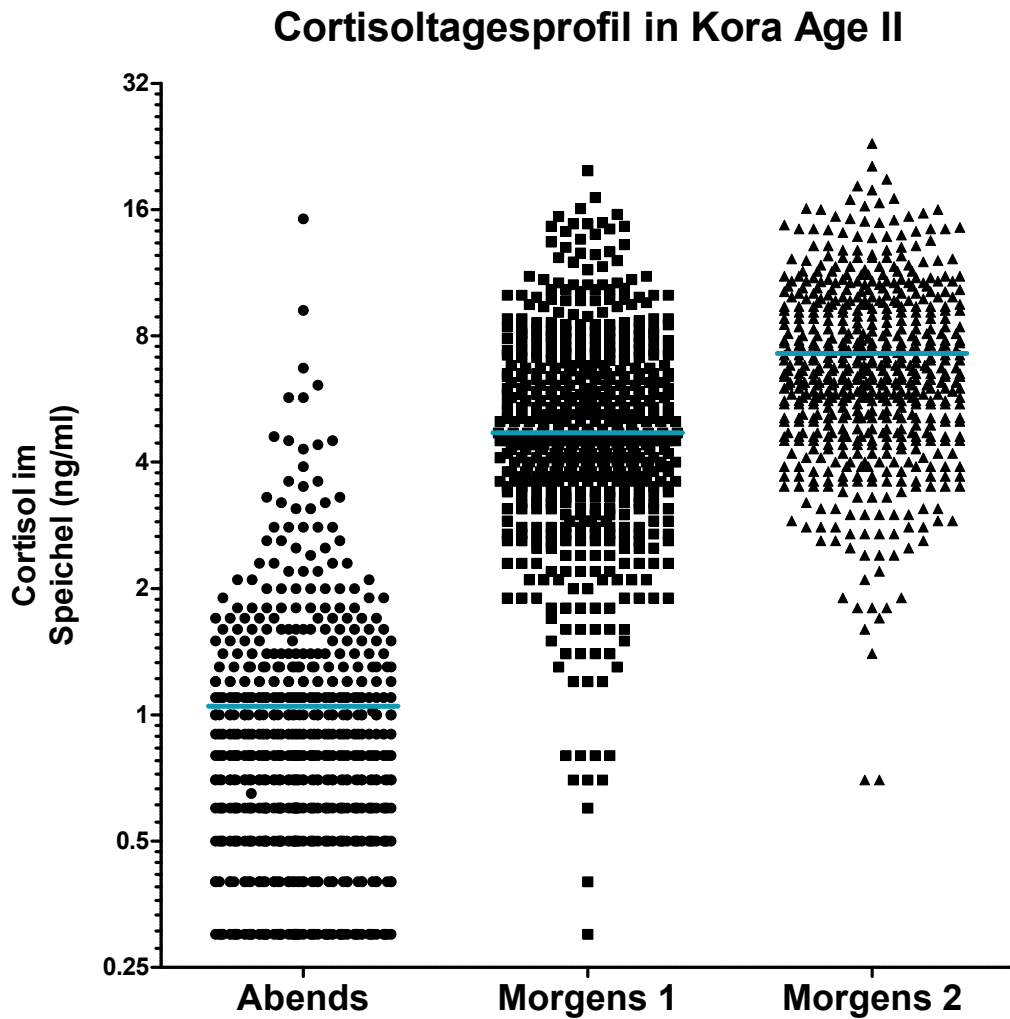


Abbildung 11b. Tagesprofil der Cortisolwerte abends und morgens in KORA-Age II. N=579; Median Cortisol „Abends“ 0,8 ng/ml, „Morgens 1“ 4,7 ng/ml und „Morgens 2“ 6,6 ng/ml.

Tabelle 9. Tagesprofil der Cortisolmessung aus den ambulanten Speichelproben

	KORA-Age I (N=683)			KORA-Age II (N=579)		
Cortisol in ng/ml	Abends	Morgens 1	Morgens 2	Abends	Morgens 1	Morgens 2
Median	0,7	4	5,3	0,8	4,7	6,6
Max	7,5	20,8	18,3	15,2	19,8	23,0
Mittelwert	0,9	4,6	5,9	1,0	5,4	7,3
SD	0,7	2,5	3,0	1,1	2,9	3,3

Für die weitere Analyse zur Beantwortung der klinischen Fragestellung nach veränderten Cortisolwerten im Zusammenhang mit Cushing, fand in dieser Arbeit die Messung „Morgens 2“

keine Verwendung mehr. Der Schwerpunkt lag auf der Betrachtung des abendlichen Cortisolwerts, unter anderem unter Mitbeachtung der Morgenmessung „Morgens 1“.

3.11 Cortisol „Abends“ – ein longitudinaler Vergleich zwischen KORA-Age I und II

Unter Berücksichtigung der Ausschlusskriterien ergab sich ein Probandenkollektiv von 485, für das Cortisolspeichelergebnisse „Abends“ sowohl in KORA-Age I als auch II vorhanden waren. Anhand des im Begleitschein dokumentierten Abnahmedatums ließ sich der zeitliche Abstand zwischen der ersten Messung in KORA-Age I und der zweiten Messung in KORA-Age II ermitteln. Demnach lagen im Mittel 33,5 Monate (Bereich: 31 – 39 Monate) zwischen der ersten und der zweiten Abendprobe. Nach dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für nicht parametrische Daten zweier gepaarter Stichproben war der Median des gemessenen Cortisols in KORA-Age II von 0,8 ng/ml hochsignifikant ($p < 0,01$) höher gegenüber KORA-Age I mit einem Median von 0,6 ng/ml. Bestimmt man außerdem für jeden Probanden die Differenz aus der zweiten und der ersten Messung, lässt sich ein positiver Mittelwert (0,2 ng/ml) errechnen, der die durchschnittliche Differenz aller individuellen Messunterschiede von KORA-Age I zu KORA-Age II widerspiegelt. Damit ist im Durchschnitt der Cortisolwert der Probanden innerhalb der Zeitspanne von 31-39 Monate angestiegen.

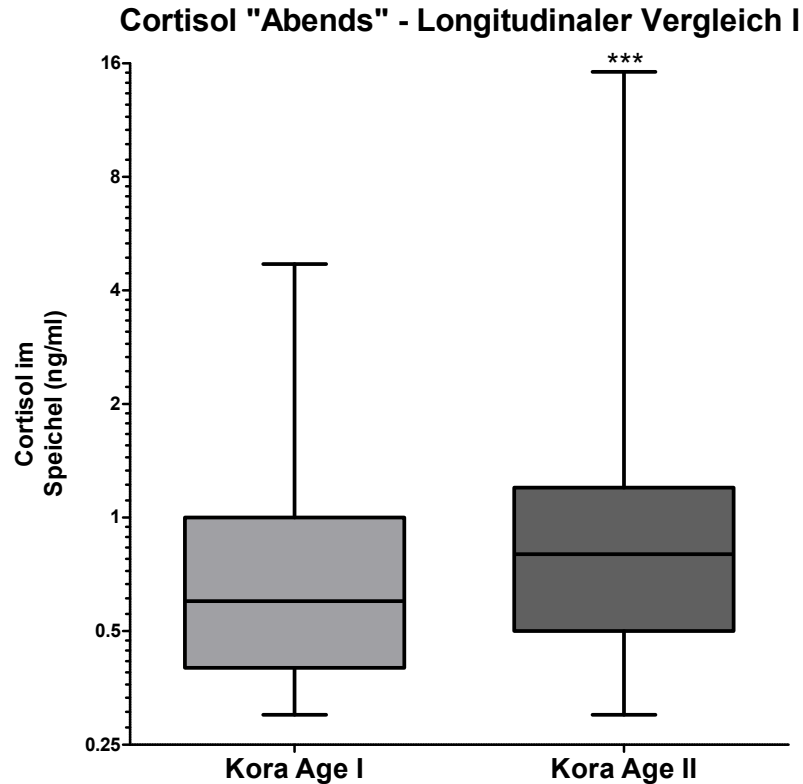


Abbildung 12. Longitudinaler Vergleich der Cortisolabendwerte an beiden Studienabschnitten teilnehmender Probanden. Nach im Mittel 33,5 Monaten haben die Probanden ($n = 485$) bezüglich des Medians ein signifikant (***) ($p < 0,01$) höheres Cortisol.

Tabelle 10. Vergleich der Cortisolabendwerte aus KORA-Age I & II

N = 485	KORA-Age I	KORA-Age II
	Cortisol in ng/ml	Cortisol in ng/ml
25% Perzentile	0,4	0,5
Median	0,6	0,8
75% Perzentile	1,0	1,2
Max	4,7	15,2
Mittelwert	0,8	1,0
SD	0,6	1,1
Lower 95% CI of mean	0,8	0,9
Upper 95% CI of mean	0,9	1,1
Über dem Cutoff (1,5ng/ml) (Cushing-Screening)	50 (10,3%)	72 (14,8%)
Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test der Mediane: P-Value	< 0,0001	
Chi-Quadrat-Test der über dem Cutoff-liegenden Probanden:	$\chi^2 = 4,53796783$; P-Value: < 0,05	

Betrachten wir explizit nur die Probanden in KORA-Age I, deren Cortisolabendwert über den in der Cushing-Diagnostik verwendeten Referenzbereich von 1,5 ng/ml reicht, ergibt sich folgendes Schaubild (siehe Abb. 13a). Darin ist zu erkennen, dass von den 50 Probanden 34 in der Folgestudie wieder unter den Cutoff von 1,5 ng/ml und zwei genau auf den Cutoff fielen, während sieben weitere zwar fielen, aber über dem Cutoff blieben. Die restlichen acht stiegen in der zweiten Messung noch höher, wobei ein Proband mit einem starken Anstieg von 1,6 ng/ml auf 9,2 ng/ml besonders hervorsticht. In der Abbildung 13b sind diejenigen Probanden aufgezeichnet, deren Cortisol in KORA-Age II über dem Cushing-Cutoff lag, bei retrospektiver Betrachtung des ersten Studienabschnitts jedoch unter dem Cutoff lagen.

Insgesamt stieg unter den Teilnehmern an beiden Studienabschnitten ($n = 485$) der über dem Cushing-Cutoff liegende Anteil signifikant ($p < 0,05$) von 50 (10,3%) auf 72 (14,8%).

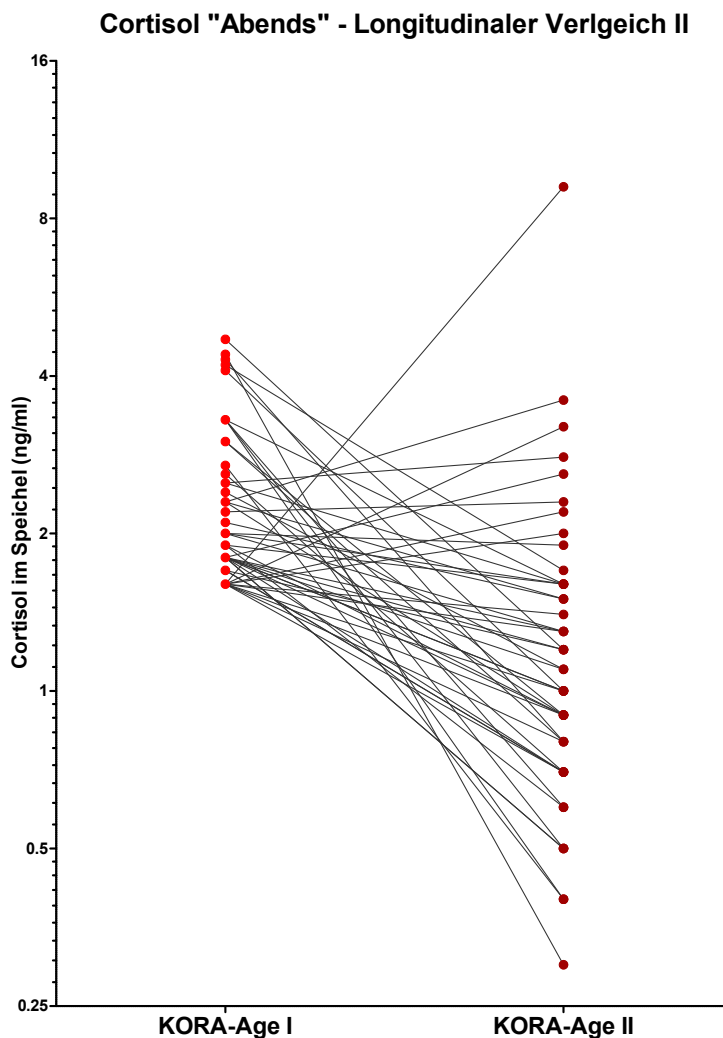


Abbildung 13a. Entwicklung in KORA-Age II von Probanden, deren Cortisol abends in KORA-Age I über dem Cushing-Cutoff (1,5ng/ml) lag.

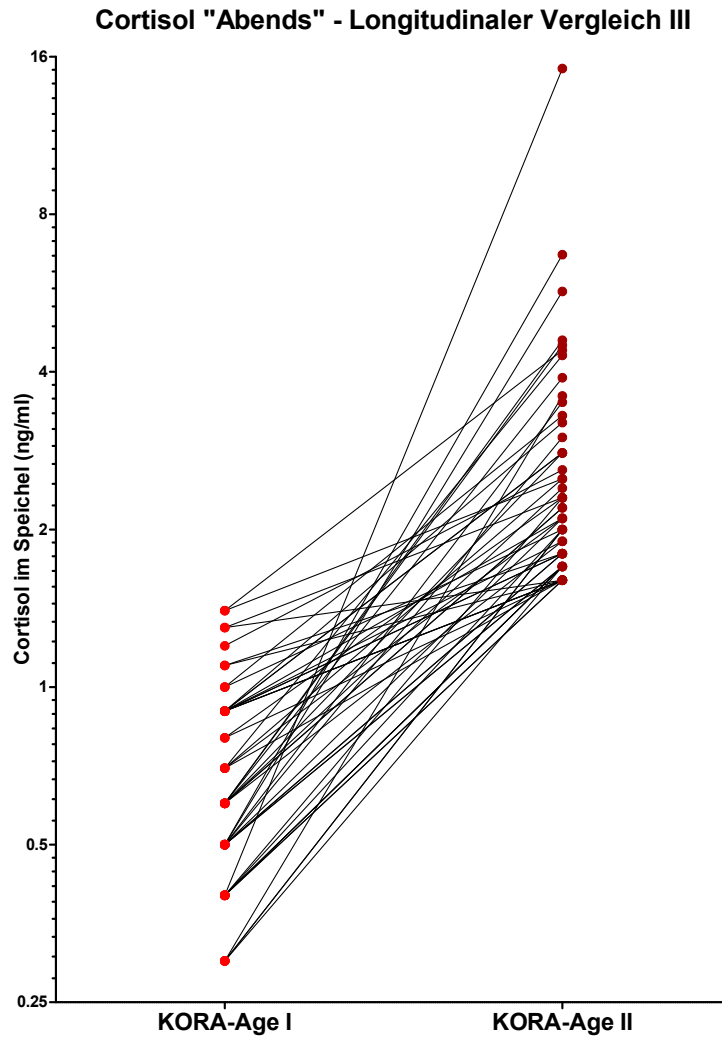


Abbildung 13b. Retrospektive Betrachtung der Probanden, deren Cortisol abends in KORA-Age II über dem Cushing-Cutoff (1,5ng/ml) lag.

3.12 Einfluss der Abnahmezeit auf das Cortisol in der Abendmessung

Staffelt man die Ergebnisse der abendlichen Cortisolmessung in sechs Gruppen (siehe Kap. 2.4), wird deutlich, dass die meisten Probanden zwischen 21:01 Uhr und 23:59 Uhr ihre Speichelprobe abgegeben haben: 569 (82%) in KORA-Age I und 481 (83%) in KORA-Age II. Mittelwert und Median für das Abendcortisol fielen in KORA-Age I und II tendenziell bis Mitternacht ab; ab Mitternacht stiegen sie in beiden Studien wieder an. In KORA-Age I gab es gemäß dem Kruskal-Wallis Test keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,3047$) zwischen den zeitlich gestaffelten Gruppen, in KORA-Age II hingegen unterschieden sich die Gruppen hochsignifikant ($p = 0,0092$).

Cortisol "Abends" - unterschiedliche Abnahmezeitpunkte

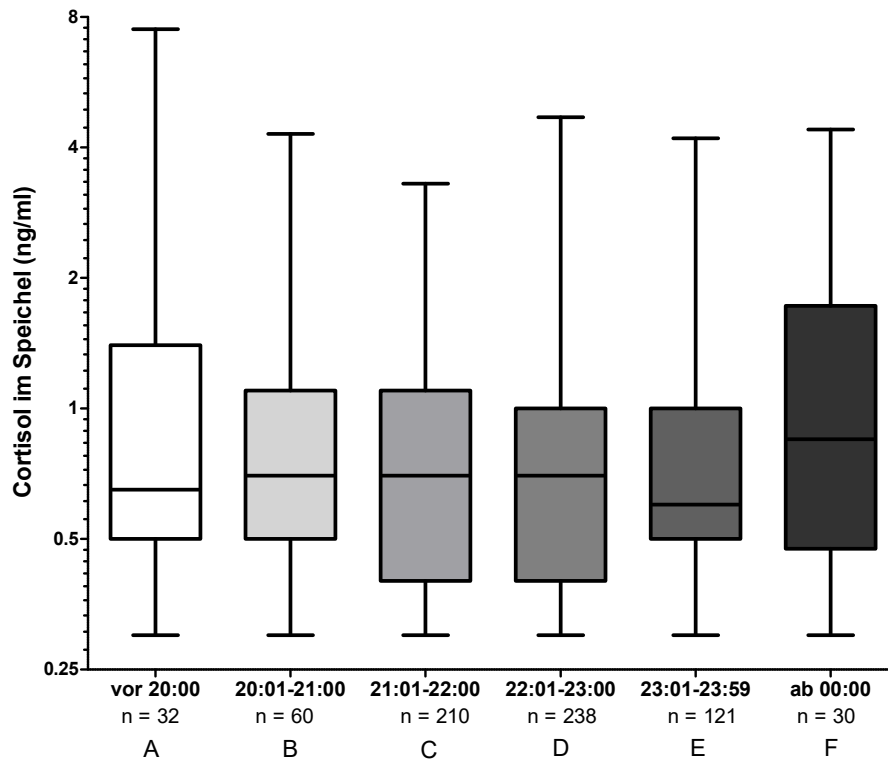


Abbildung 14a. Einfluss unterschiedlicher Abnahmezeitpunkte auf das abendliche Cortisol in KORA-Age I

Tabelle 11a. Nach Abnahmezeitpunkten unterschiedenes Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Gruppen	A	B	C	D	E	F
Zeitintervall	< 20:00	20:01-21:00	21:01-22:00	22:01-23:00	23:01-23:59	> 00:00
Anzahl	32	65	210	238	121	30
25% Perzentile	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5
Median	0,65	0,70	0,70	0,70	0,60	0,85
75% Perzentile	1,4	1,1	1,1	1,0	1,0	1,7
Max	7,5	4,3	3,3	4,7	4,2	4,4
Mittelwert	1,20	0,95	0,85	0,82	0,84	1,20
SD	1,4	0,7	0,6	0,6	0,6	1,1
Unteres Konfidenzintervall 95%	0,7	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8
Oberes Konfidenzintervall 95%	1,7	1,1	0,9	0,9	0,9	1,6
Kruskal-Wallis-Test: p-Wert	0,3047					

Cortisol "Abends" - unterschiedliche Abnahmezeitpunkte

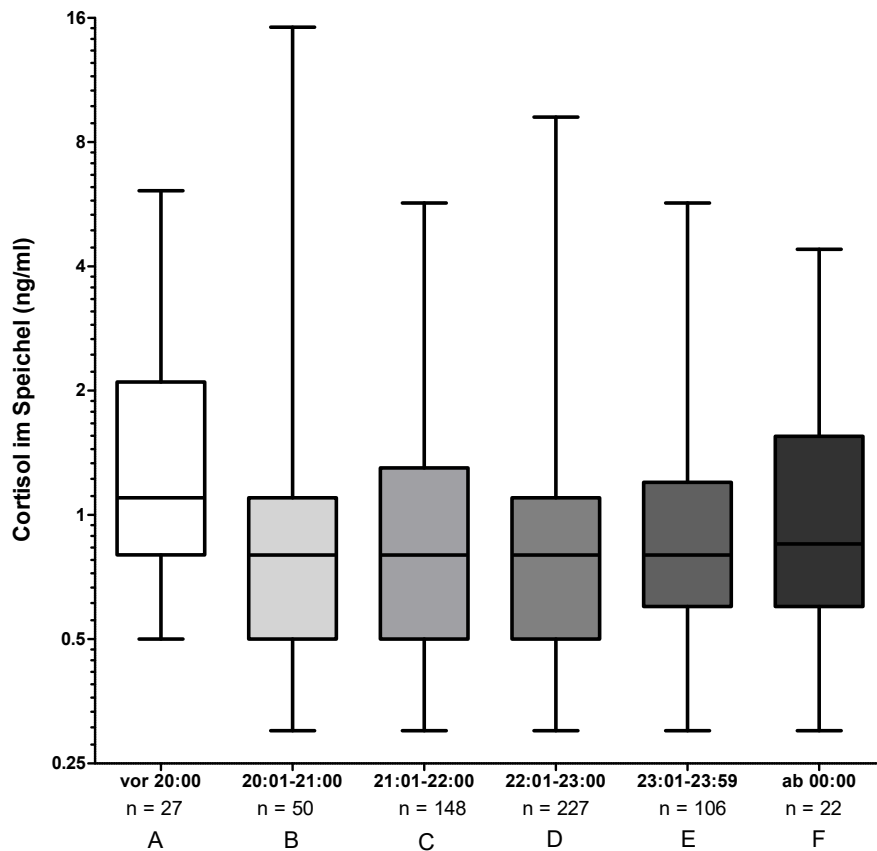


Abbildung 14b. Einfluss unterschiedlicher Abnahmezeitpunkte auf das abendliche Cortisol in KORA-Age II

Tabelle 11b. Nach Abnahmezeitpunkten unterschiedenes Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Gruppen	A	B	C	D	E	F
Zeitintervall	< 20:00	20:01-21:00	21:01-22:00	22:01-23:00	23:01-23:59	> 00:00
Anzahl	27	50	148	227	106	22
25% Perzentile	0,8	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6
Median	1,10	0,80	0,80	0,80	0,80	0,85
75% Perzentile	2,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,6
Max	6,1	15,2	5,7	9,2	5,7	4,4
Mittelwert	1,67	1,14	1,10	0,94	1,02	1,15
SD	1,3	2,1	0,9	0,8	0,8	0,9
Unteres Konfidenzintervall 95%	1,2	0,6	0,9	0,8	0,9	0,8
Oberes Konfidenzintervall 95%	2,2	1,7	1,2	1,1	1,2	1,5
Kruskal-Wallis-Test: p-Wert	0,0092					

3.13 Einfluss biometrischer Variablen auf das Cortisol in der Abendmessung

3.13.1 Geschlecht

Die Geschlechtsverteilung war sowohl in KORA-Age I (350 Männer zu 347 Frauen) als auch in KORA-Age II (319 Männer zu 272 Frauen) relativ ausgeglichen. Es konnte in den beiden Studienkollektiven kein geschlechtsspezifischer Unterschied für die Mediane des Cortisolspiegels festgestellt werden.

Tabelle 12. Einfluss des Geschlechts auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

	KORA-Age I		KORA-Age II	
	Männlich	Weiblich	Männlich	weiblich
Anzahl	350	347	319	272
Median	0,70	0,70	0,80	0,80
Mittelwert	0,9	0,85	1,08	1,01
SD	0,8	0,6	0,9	1,2
Unteres Konfidenzintervall 95%	0,8	0,8	1,0	0,9
Oberes Konfidenzintervall 95%	1,0	0,9	1,2	1,2
Mann-Whitney U	58992		41498	

3.13.2 BMI

Die Probanden wurden in sechs BMI-Kategorien eingeteilt: A: < 18,5 (untergewichtig), B: 18,5 - < 25 (normalgewichtig), C: 25 - < 30 (präadipös), D: 30 - < 35 (adipös Grad 1), E: 35 - < 40 (adipös, Grad 2), F: > 40 (adipös, Grad 3), wobei unter die erste Kategorie A nur jeweils ein Proband mit einem Cortisolwert von 1,4 bzw. 0,7 ng/ml fiel. Unter Absehung des untergewichtigen Probanden (A: BMI < 18,5) und der zehn bzw. in KORA-Age II sieben übergewichtigen Probanden nach Grad 3 (F: BMI >40) erwiesen sich der Tendenz nach Median und Mittelwert der Normalgewichtigen (B: 18,5 - < 25) sowohl in KORA-Age I als auch in KORA-Age II am höchsten, der präadipösen Probanden (C: 25 - < 30) knapp am niedrigsten. Ein Unterschied auf Signifikanzniveau ließ sich jedoch in den beiden Studien zwischen den sechs Gruppen nicht finden. Eingegrenzt auf die vier BMI Gruppen mit der höchsten Probandenzahl – zwischen B: normal-

gewichtig bis E: adipös Grad 2 – ergab sich in KORA-Age I ebenfalls kein signifikanter Unterschied, in KORA-Age II hingegen war der Unterschied nach Kruskal-Wallis ($p = 0,0186$) signifikant.

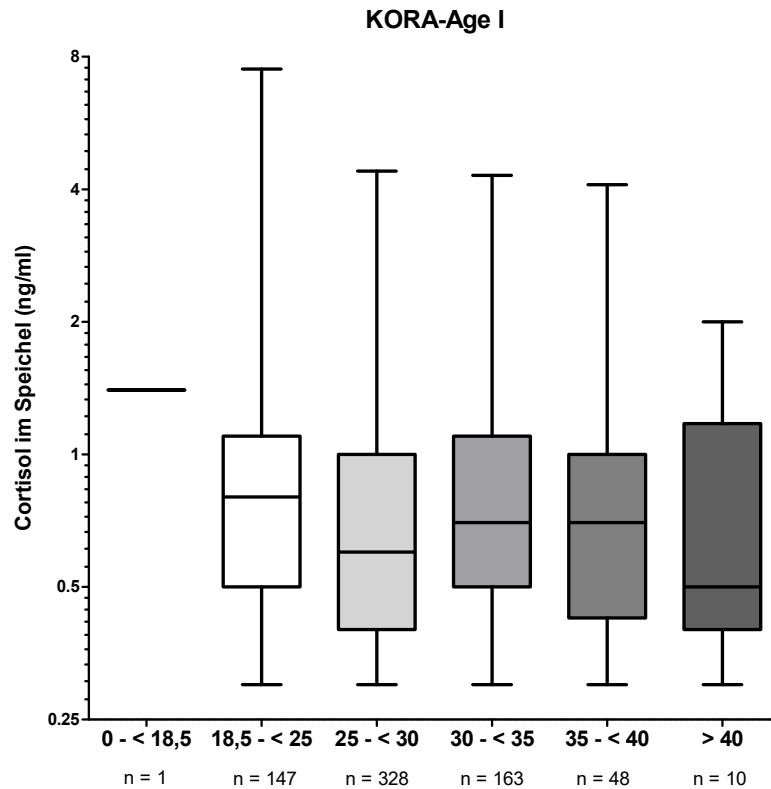


Abbildung 15a. BMI und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Tabelle 13a. Einfluss des BMI auf das Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Gruppe	A	B	C	D	E	F
BMI	0 – < 18,5	18,5 - < 25	25 - < 30	30 - < 35	35 - < 40	> 40
Anzahl	1	147	328	163	48	10
25% Perzentile		0,5	0,4	0,5	0,4	0,4
Median		0,8	0,6	0,7	0,7	0,5
75% Perzentile		1,1	1	1,1	1	1,2
Mittelwert		0,98	0,84	0,88	0,85	0,79
SD		0,9	0,6	0,6	0,6	0,6
Unteres Konfidenzintervall 95%		0,8	0,8	0,8	0,6	0,6
Oberes Konfidenzintervall 95%		1,1	0,9	1	1	1,2

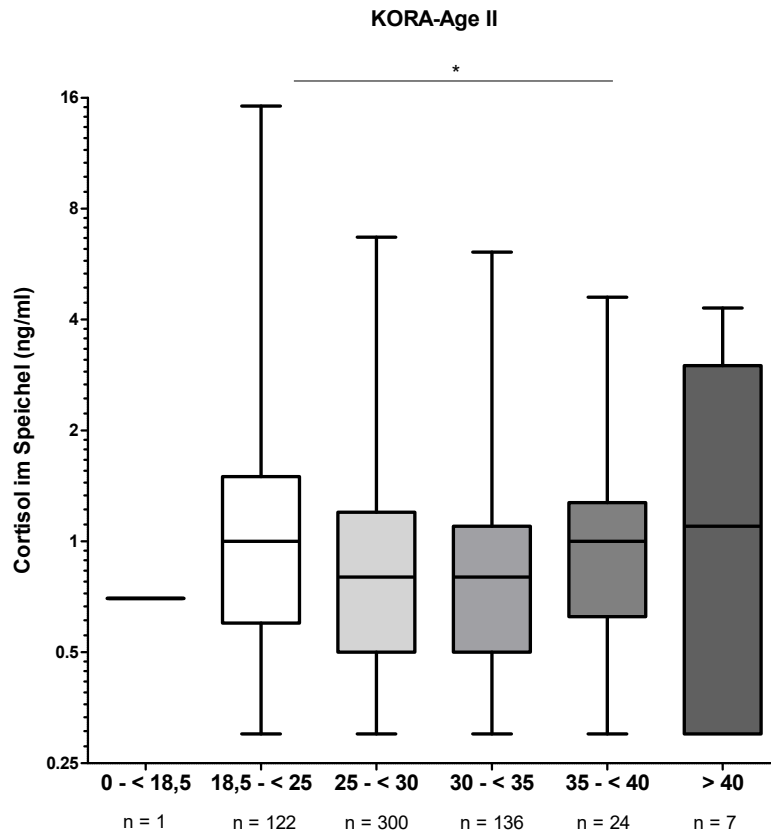


Abbildung 15b. BMI und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II. Signifikanter Unterschied (* = $p < 0,1$) zwischen den vier mittleren Gruppen.

Tabelle 13b: Einfluss des BMI auf das Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Gruppe	A	B	C	D	E	F
BMI	0 – < 18,5	18,5 – < 25	25 – < 30	30 – < 35	35 – < 40	> 40
Anzahl	1	122	300	136	24	7
25% Perzentile		0,6	0,5	0,5	0,6	0,3
Median		1	0,8	0,8	1	1,1
75% Perzentile		1,5	1,2	1,1	1,3	3
Mittelwert		0,98	0,84	0,88	0,85	0,79
SD		1,6	0,8	0,8	0,9	1,5
Unteres Konfidenzintervall 95%		1	0,9	0,9	0,8	0,3
Oberes Konfidenzintervall 95%		1,6	1,1	1,1	1,5	3

3.13.3 Alter

In KORA-Age I und II wurde der Einfluss des Alters auf den abendlichen Cortisolspiegel untersucht, indem vier Altersgruppen gebildet wurden (siehe Kap. 2.4). Um eine in den Altersgruppen gleichmäßig verteilte Probandenzahl zu erhalten, sind in der ersten Gruppe sechs, in der 2. und 3. jeweils fünf, und in der letzten zehn Altersstufen vertreten. In KORA-Age II sind in den

ersten drei Gruppen jeweils fünf Altersstufen vertreten, in der ältesten Gruppe elf, sodass sich auch hier eine gleichmäßige Verteilung ergibt.

In beiden Studien ließ sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,001$ nach Kruskal-Wallis) zwischen den Altersgruppen ermitteln. In KORA-Age I war demnach in der jüngsten Gruppe (bis 70 Jahre) mit 0,6 ng/ml der niedrigste Median sowie der niedrigste Mittelwert mit 0,75 ng/ml, der höchste Median hingegen in der Gruppe C (76-80 Jahre) gefolgt von der Gruppe D (81-90 Jahre) mit 0,9 bzw. 0,8 ng/ml und einem Mittelwert von 0,98 bzw. 0,99 ng/ml. In KORA-Age II war ebenfalls der niedrigste Median und Mittelwert in der jüngsten Altersgruppe (0,7 ng/ml bzw. 0,87 ng/ml), während der höchste Median und Mittelwert in der ältesten Gruppe lag (1 ng/ml und 1,3 ng/ml). Die Tendenz von Jung nach Alt war auch bezogen auf den Anteil der Probanden zu verzeichnen, die über dem Cutoff des Mitternachts-Cortisols von 1,5 ng/ml lagen. In KORA-Age I stieg der Anteil signifikant von 8% in der Gruppe A auf 16,7% in der Gruppe D (Chi-Quadrat X2: 6,21076905; $p < 0,05$), in KORA-Age II hochsignifikant (Chi-Quadrat X2: 13,3496455; $p < 0,01$) von der jüngsten mit 7% auf 21,5% in der ältesten.

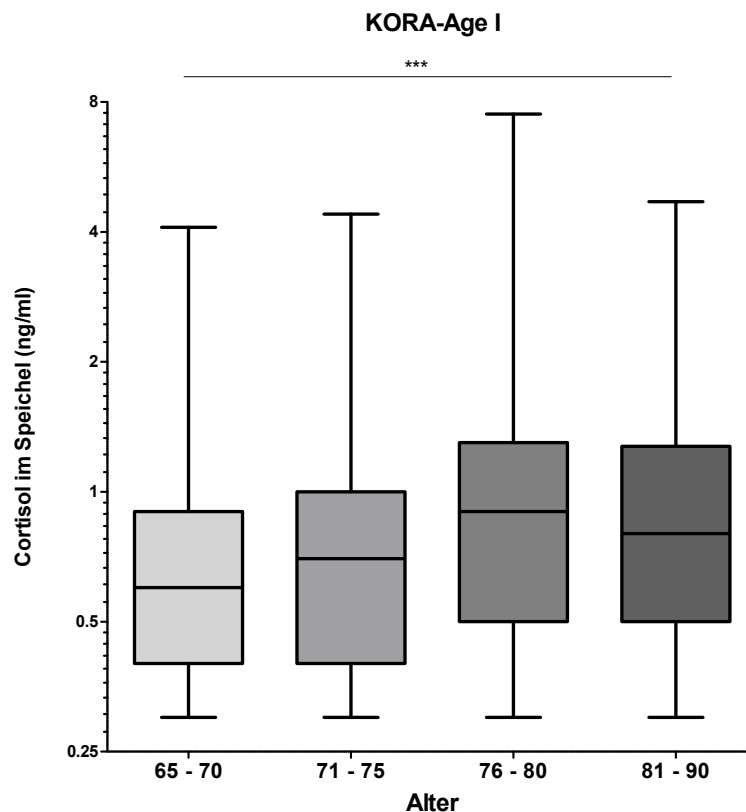


Abbildung 16a. Abendliches Cortisol unterschieden nach Altersgruppen in KORA-Age I. Der Median für das Cortisol unterscheidet sich signifikant (***) = $p < 0,001$) zwischen den vier Altersgruppen.

Tabelle 14a. Zusammenhang von Altersgruppen und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Altersgruppen	A	B	C	D
Alter	65 – 70	71 – 75	76 – 80	81 – 90
Anzahl	211	163	179	144
25% Perzentile	0,4	0,4	0,5	0,5
Median	0,6	0,7	0,9	0,8
75% Perzentile	0,9	1	1,3	1,3
Max	4,1	4,4	7,5	4,7
Mittelwert	0,75	0,84	0,98	0,99
SD	0,6	0,7	0,7	0,7
Oberes Konfidenzintervall 95%	0,8	0,9	1,1	1,1
Anzahl/relativer Anteil der Probanden mit Cortisol abends > 1,5 ng/ml	17 (8,0%)	14 (8,6%)	22 (12,3%)	24 (16,7%)

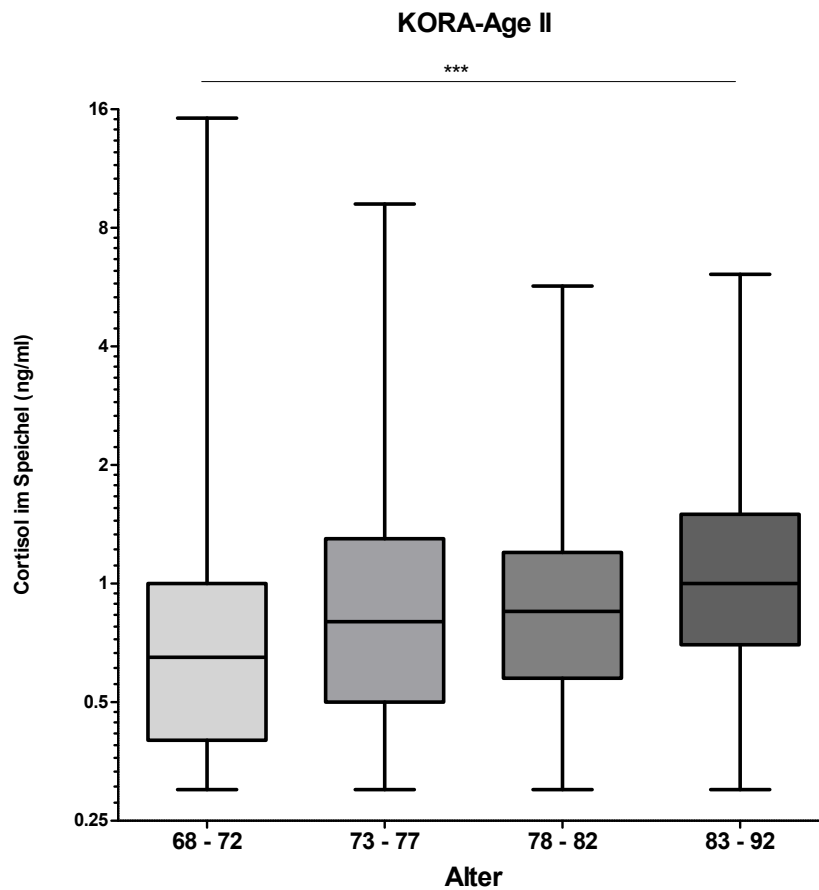


Abbildung 16b. Abendliches Cortisol unterschieden nach Altersgruppen in KORA-Age II. Der Median für das Cortisol unterscheidet sich signifikant (***) = $p < 0,001$) zwischen den vier Altersgruppen.

Tabelle 14b. Zusammenhang von Altersgruppen und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Altersgruppen	A	B	C	D
Alter	68 – 72	73 – 77	78 – 82	83 – 92
Anzahl	158	159	130	144
25% Perzentile	0,4	0,5	0,6	0,7
Median	0,7	0,8	0,8	1
75% Perzentile	1,0	1,3	1,2	1,5
Max	15,2	9,2	5,7	6,1
Mittelwert	0,87	1,1	1,0	1,3
SD	1,3	1,0	0,8	0,9
Oberes Konfidenzintervall 95%	0,7	0,9	0,9	1,1
Anzahl/relativer Anteil der Probanden mit Cortisol Abends > 1,5 ng/ml	11 (7,0%)	27 (17,0%)	18 (13,8%)	31 (21,5%)

3.14 Einfluss des Probandenalters auf Cortisol in der ersten

Morgenmessung

Zur Beantwortung der Frage, ob sich der Quotient aus der Abendmessung und der ersten Morgenmessung im Alter verändert, wurde die Morgenmessung „Morgens 1“ des Cortisols in Bezug auf die Altersgruppen verglichen. Median (4,2 und 4,3 ng/ml) und Mittelwert (4,73 und 4,88 ng/ml) waren in den beiden älteren Gruppen C und D unwesentlich höher als in den beiden jüngeren Gruppen A u B mit jeweils 3,9 ng/ml für den Median und 4,4 bzw. 4,3 ng/ml für den Mittelwert. In KORA-Age II zeigte sich eine ähnliche Tendenz. Der höchste Medianwert (5,1 ng/ml) und Mittelwert (5,6 ng/ml) waren hier in der ältesten Gruppe zu messen. Somit ergab sich in beiden Studien gemäß dem Kruskal-Wallis-Test kein signifikanter Unterschied zwischen den vier Altersgruppen hinsichtlich der ersten Morgenmessung.

3.15 Einfluss von Lebensgewohnheiten auf den Cortisolspiegel abends

3.15.1 Rauchen

Stellt man den Cortisolwert aus der Abendmessung der Raucher aus KORA-Age I, zusammengesetzt aus 29 regelmäßigen und zwei Gelegenheits-Rauchern, dem der Ex-Raucher und dem der Nicht-Raucher gegenüber, liegt der Median der Raucher (0,9 ng/ml) über dem der Ex- (0,7 ng/

ml) und dem der Nicht-Raucher (0,7 ng/ml). Es ließ sich aber weder zwischen diesen drei Gruppen (Kruskal-Wallis Test $p = 0,4196$), noch zwischen der Gruppe der Raucher gegenüber der der Ex- und Nicht-Raucher zusammengekommen (Mann-Whitney-U-Test $p = 0,3381$) ein Unterschied auf Signifikanzniveau finden.

In KORA-Age II zeigte sich ein ähnliches Bild. Der höchste Median lag auch hier bei den Rauchern, allerdings auch hier ohne Nachweis einer Signifikanz (Kruskal-Wallis-Test im Vergleich der 3 Gruppen $p = 0,4014$ und Mann-Whitney-U-Test für Raucher vs. Nicht-/Ex-Raucher $p = 0,1986$).

Lediglich der Tendenz nach war in beiden Studienabschnitten das abendliche Cortisol der Raucher nach Oben verschoben.

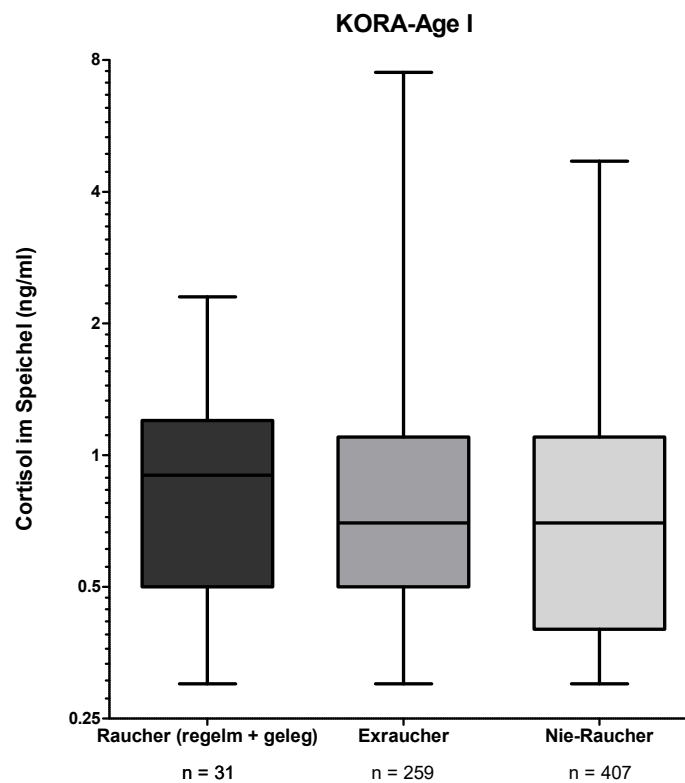


Abbildung 17a. Abendliches Cortisol und Rauchen in KORA-Age I

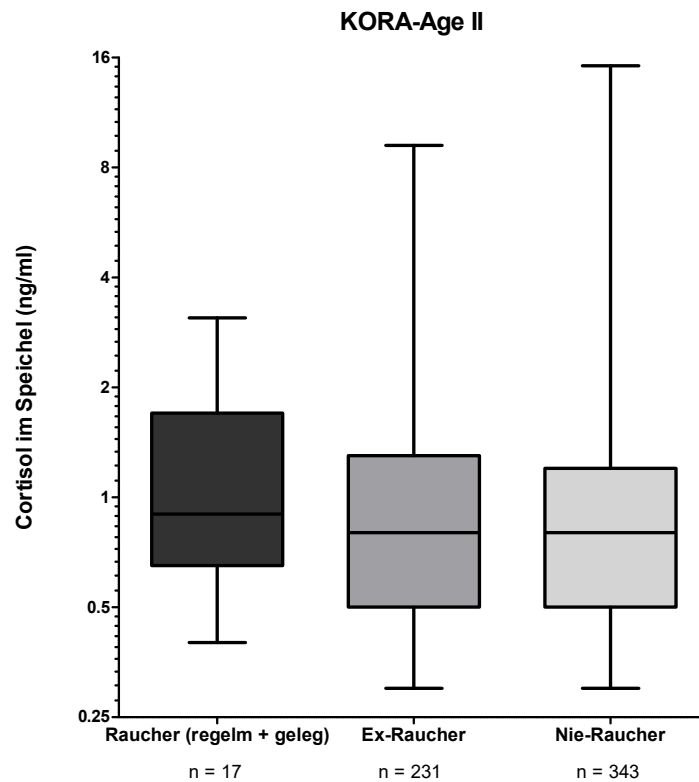


Abbildung 17b. Abendliches Cortisol und Rauchen in KORA-Age II

3.15.2 Alkoholkonsum

Im Rahmen des Untersuchungsinterviews wurde unter anderem nach dem Alkoholkonsum gefragt. Dabei wurde die Frage des Konsums in „täglich“, „mehr als einmal die Woche“, „einmal die Woche“, „weniger als einmal die Woche“ und „gar kein Alkoholkonsum“ kategorisiert. In KORA-Age I ergab sich keine auffällige Schwankung zwischen den fünf Gruppen; der niedrigste Median für das Abendcortisol lag in der Kategorie: „mehr als einmal die Woche“, allerdings ohne Signifikanznachweis (nach Kruskal-Wallis). In KORA-Age II hingegen war erstaunlicherweise das Cortisol in der Gruppe derer mit seltenem Alkoholkonsum – „weniger als einmal die Woche“ bzw. gar keinem Alkoholgenuss – hochsignifikant am höchsten (Kruskal Wallis $p = 0,0041$).

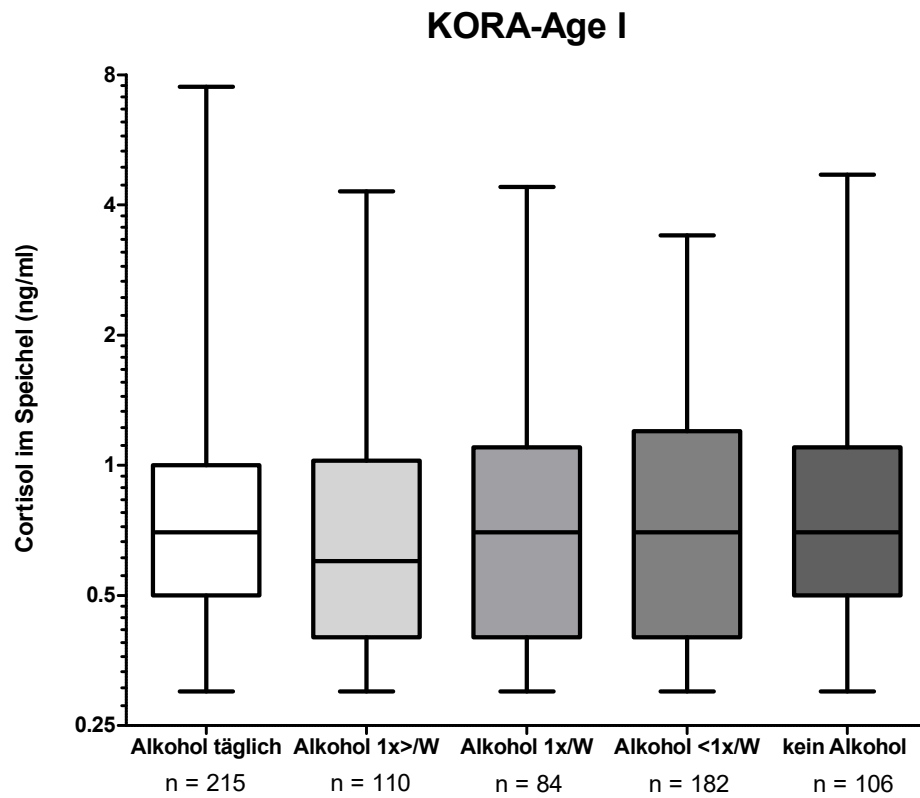


Abbildung 18a. Abendliches Cortisol und Alkoholkonsum in KORA-Age I

Tabelle 15a. Zusammenhang von Alkoholkonsum und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

	Alkohol täg- lich	Alkohol 1x>/ W	Alkohol 1x/ W	Alkohol <1x/ W	kein Alkohol
Anzahl	215	110	84	182	106
Median	0,7	0,6	0,7	0,7	0,7
Max	7,5	4,3	4,4	3,4	4,7
Mittelwert	0,85	0,88	0,86	0,89	0,93
SD	0,7	0,7	0,7	0,6	0,7

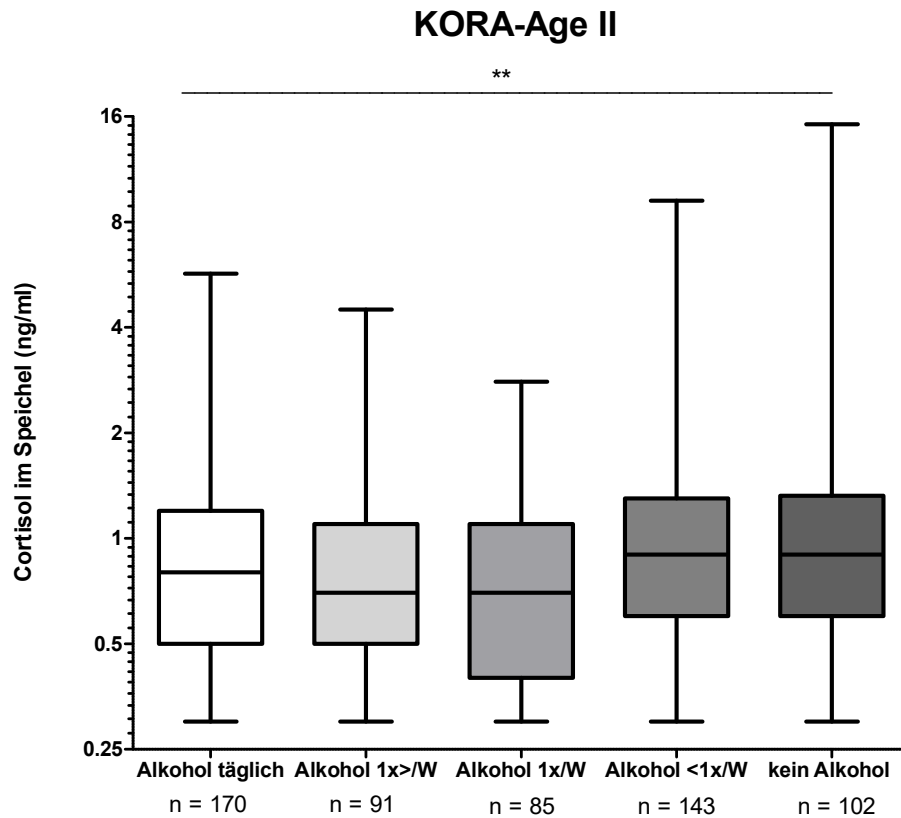


Abbildung 18b. Abendliches Cortisol und Alkoholkonsum in KORA-Age II. Der Median für das Cortisol unterscheidet sich signifikant (** = $p < 0,01$) zwischen den fünf Gruppen.

Tabelle 15b. Zusammenhang von Alkoholkonsum und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

	Alkohol täglich	Alkohol 1x>1x/W	Alkohol 1x/W	Alkohol <1x/W	kein Alkohol
Anzahl	170	91	85	143	102
Median	0,8	0,7	0,7	0,9	0,9
Max	5,7	4,5	2,8	9,2	15,2
Mittelwert	1,01	0,92	0,84	1,1	1,34
SD	0,8	0,8	0,5	1,0	1,7

3.15.3 Stress

Die im Begleitschein gestellte Frage, ob der Proband innerhalb der Stunde vor der Speichelprobenabgabe „Zeitdruck und Anspannung“ verspürt habe, wurde herangezogen, um zu überprüfen, ob die unter Stress gestandenen Probanden einen höheren Cortisolwert haben gegenüber denen ohne Stressexposition. Bemerkenswerter Weise war in der Hinsicht in keiner der beiden Studien ein Unterschied bezüglich der Cortisolhöhe zu ermitteln.

Tabelle 16. Zusammenhang von Stress und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

	KORA-Age I		KORA-Age II	
	Stress vor der Messung	Kein Stress vor der Messung	Stress vor der Messung	Kein Stress vor der Messung
Anzahl	33	641	40	525
Median	0,7	0,7	0,8	0,8
Mittelwert	0,91	0,87	1,2	1,0
SD	0,7	0,7	1,3	0,99

3.16 Belastendes Ereignis

Innerhalb des Untersuchungsinterviews wurden die Probanden unter anderem gefragt, ob sich innerhalb des letzten Jahres ein schwerwiegendes Ereignis zugetragen hat, das einen starken Leidensdruck nach sich zog. Gemeint waren eigene Erkrankungen, Tod oder schwere Krankheit eines Angehörigen, belastende Konflikte in der Familie, Ehescheidung oder Trennung, aber auch finanzielle Probleme. Im ersten Studienabschnitt zeigte sich hier ein signifikant höheres abendliches Cortisol derer, denen ein derartiges Ereignis zugestoßen war. Im zweiten Abschnitt blieb der Median des Cortisols zwischen den beiden Gruppen jedoch gleich.

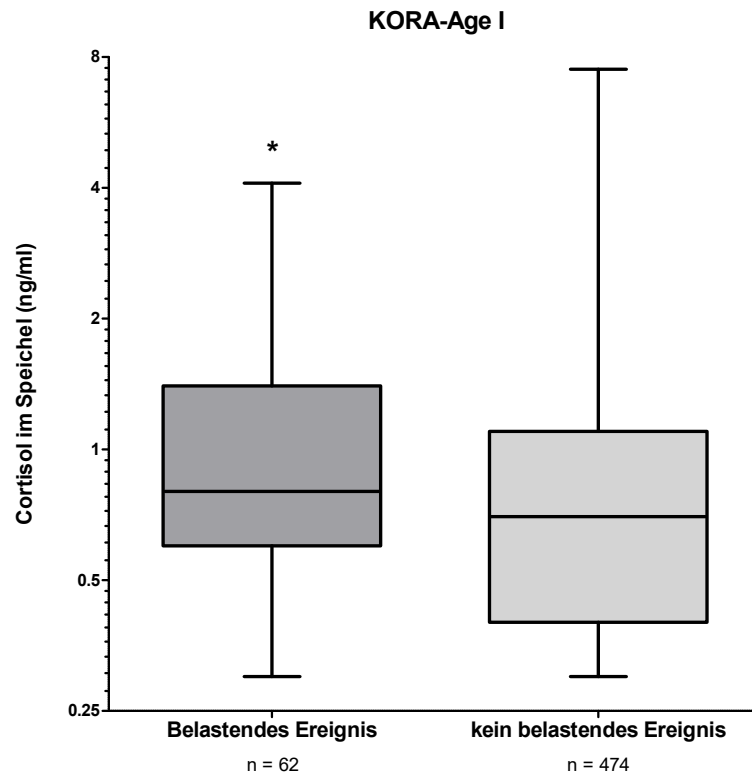


Abbildung 19a. Zusammenhang belastender Ereignisse und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I. Der Median für das Cortisol unterscheidet sich signifikant (* = $p < 0,1$) zwischen den beiden Gruppen.

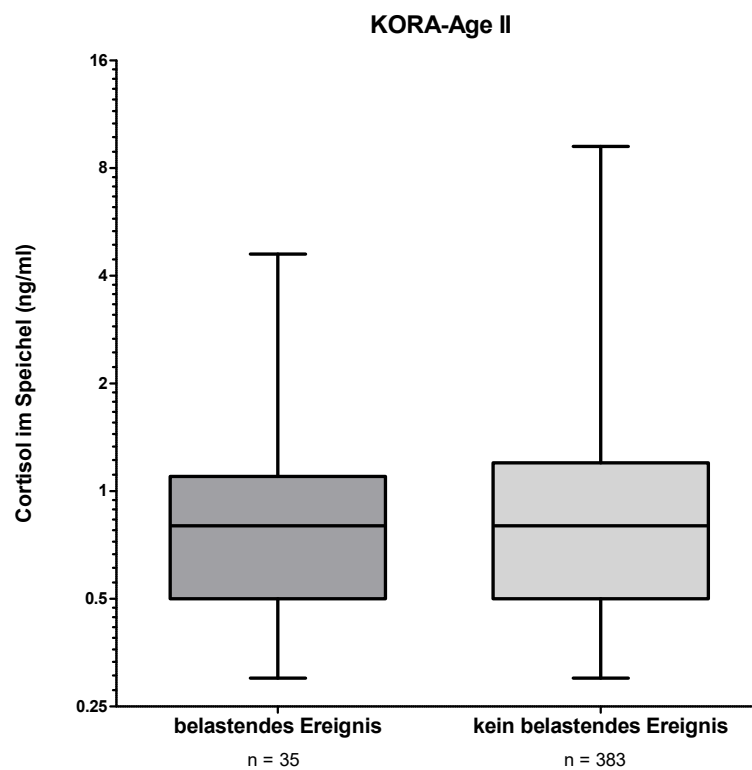


Abbildung 19b. Zusammenhang belastender Ereignisse und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Tabelle 17. Zusammenhang belastender Ereignisse und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

	KORA-Age I		KORA-Age II	
	Belastendes Ereignis mit sehr starkem Leidensdruck	Kein belastendes Ereignis	Belastendes Ereignis mit sehr starkem Leidensdruck	Kein belastendes Ereignis
Anzahl	62	474	35	381
Median	0,8	0,7	0,8	0,8
Max	4,1	7,5	4,6	9,2
Mittelwert	1,01	0,88	0,9	1
SD	0,6	0,7	1,3	0,99
Mann-Whitney U	11979		6391	
P-Value	0,0175		0,6843	

3.17 Einfluss von Krankheitsmerkmalen auf den Cortisolspiegel

3.17.1 Diabetes

Beim Vergleich der Diabetiker mit den Nicht-Diabetikern war in KORA-Age I in beiden Gruppen der berechnete Median für das Abendcortisol mit 0.7 ng/ml gleich hoch. Anders in der zweiten Studie. Hier erwiesen sich die Diabetiker als hochsignifikant höher. Der Median der Diabetiker (n = 93) war mit 1 ng/ml höher gelegen als der der nicht-Diabetiker (n = 538), deren Median bei 0,8 ng/ml lag.

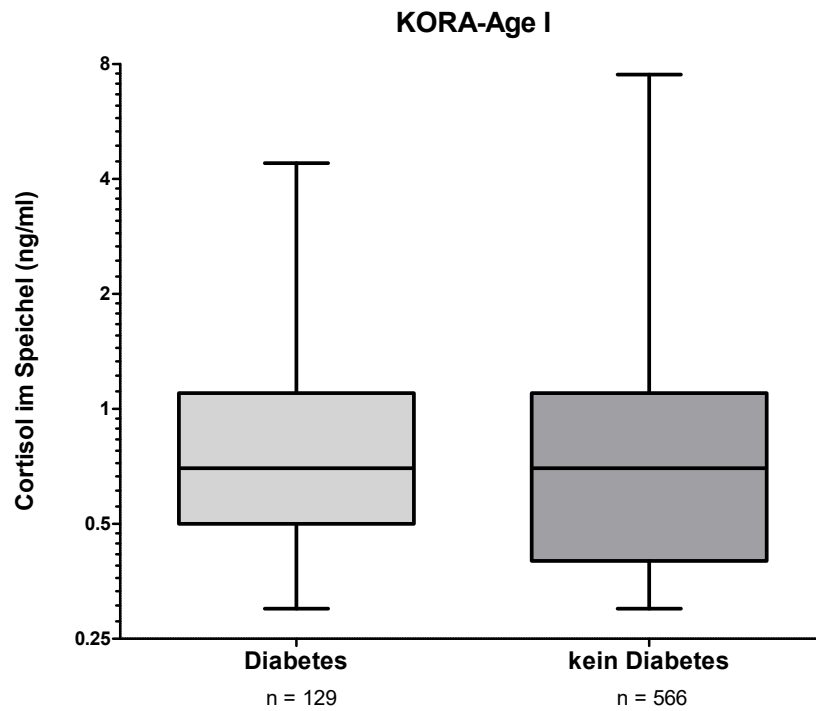


Abbildung 20a. Zusammenhang von Diabetes und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

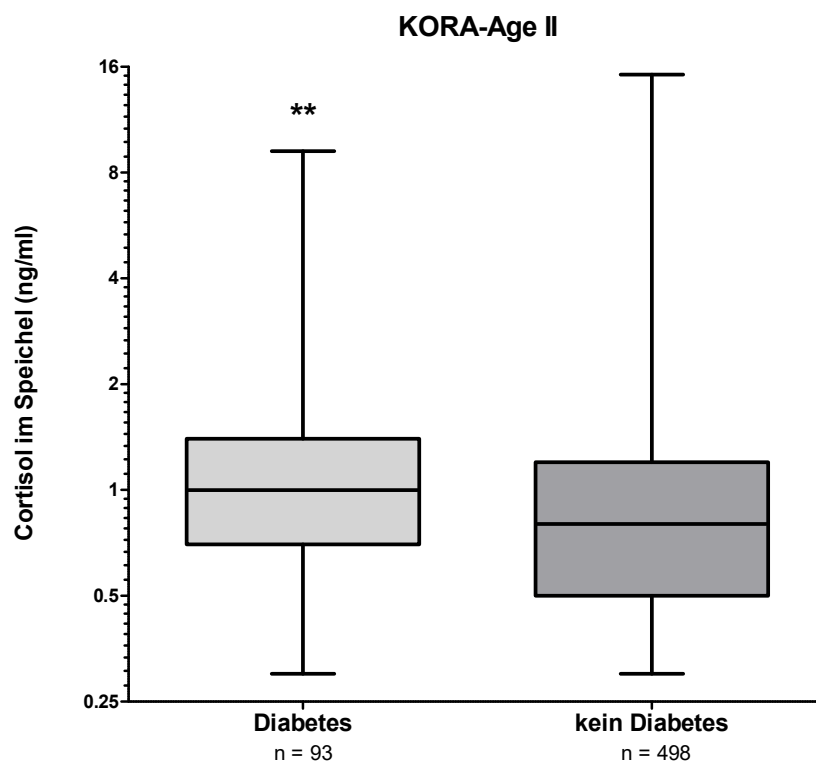


Abbildung 20b. Zusammenhang von Diabetes und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II. Der Median für das Cortisol unterscheidet sich signifikant (** = $p < 0,01$) zwischen den beiden Gruppen.

Tabelle 18. Zusammenhang von Diabetes und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

	KORA-Age I		KORA-Age II	
	Diabetiker	Nicht-Diabetiker	Diabetiker	Nicht-Diabetiker
Anzahl	129	566	93	498
Median	0,7	0,7	1	0,8
Max	4,4	7,5	9,2	15,2
Mittelwert	0,94	0,87	1,32	1
SD	0,7	0,7	1,3	0,98
Mann Whitney Test	p = 0,1278		p = 0,0031	
Mann-Whitney U	33386		18703	

3.17.2 Karzinom

Die Untersuchung des Einflusses einer Karzinomerkrankung auf den abendlichen Cortisolspiegel blieb unauffällig. In KORA-Age I war kein Unterschied zwischen Probanden mit Karzinomerkrankung und solchen ohne zu erkennen. In KORA-Age II war zwar der Median der 52 Probanden mit Krebsleiden mit 0,9 ng/ml höher gegenüber denen ohne, jedoch ohne Nachweis, dass die beobachtete Differenz signifikant sei.

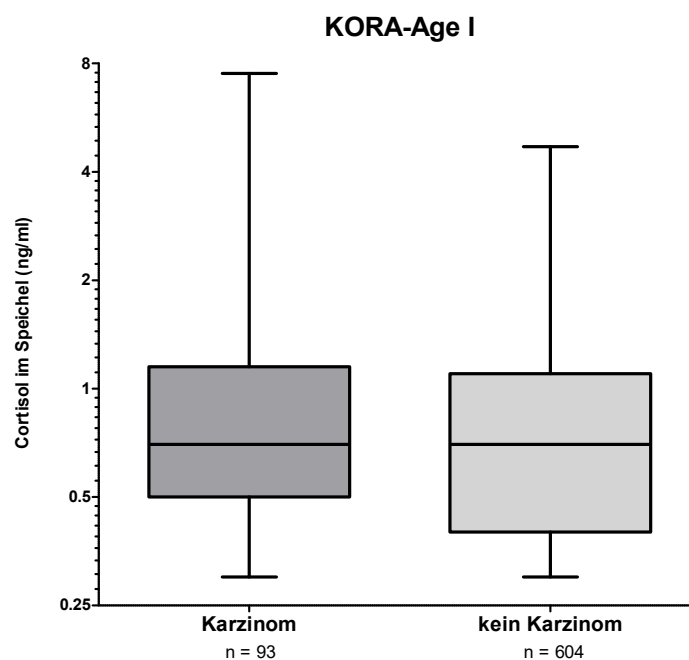


Abbildung 21a: Zusammenhang einer Karzinomerkrankung und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

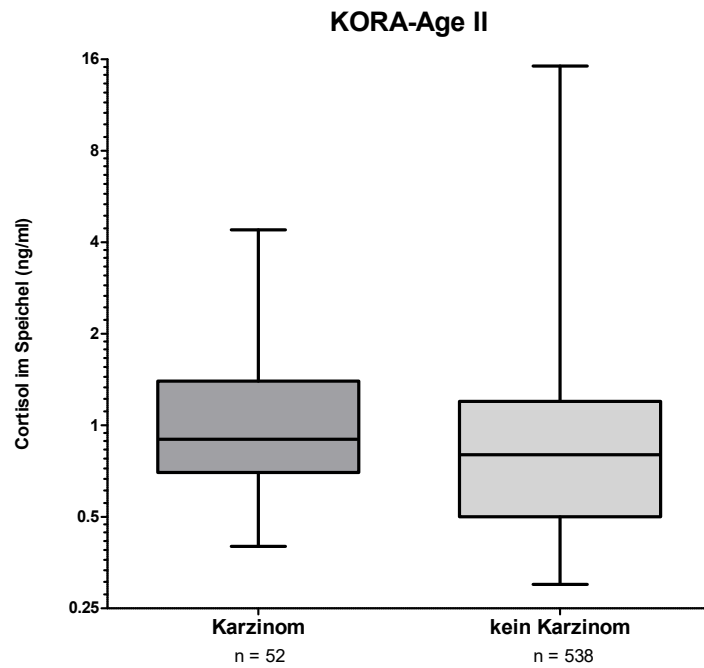


Abbildung 21b. Zusammenhang einer Karzinomerkrankung und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Tabelle 19. Zusammenhang von Karzinom und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

	KORA-Age I		KORA-Age II	
	Karzinom	Kein Karzinom	Karzinom	Kein Karzinom
Anzahl	93	604	52	538
Median	0,7	0,7	0,9	0,8
Max	7,5	4,7	4,4	15,2
Mittelwert	0,92	0,83	1,08	1,05
SD	0,88	0,65	0,7	1,1

3.17.3 Frailty

Frailty dient als Maß, um die Gebrechlichkeit des Menschen im Alter zu bestimmen (Fried et al. 2001). Nach Fried setzt sich die Frailty aus folgenden Kriterien zusammen:

1. Unbeabsichtigter Gewichtsverlust: Gewichtsabnahme mehr als 5 kg innerhalb der letzten 6 Monate.
2. Erschöpfung: in den letzten 2 Wochen nicht aktiv gefühlt.
3. Physische Inaktivität: Sommer wie Winter weniger als 1 Stunde oder kein Sport pro Woche und zusätzlich weniger als ½ Stunde an Werktagen zu Fuß unterwegs.
4. Geringe Gehgeschwindigkeit: die schlechtesten 20 % Ergebnisse beim Time-Up-&-Go, adjustiert nach Körpergröße und Geschlecht.
5. Schwäche: die schlechtesten 20% der Ergebnisse bei der Greifkraft, adjustiert nach BMI und Geschlecht. Als Maß diene der JAMAR handheld Dynamometer (Saehan Corp. Masan, Korea).

Zeigten die Probanden keine der aufgeführten Kriterien, wurden sie als „non-frail“ eingestuft. Bei 1-2 zutreffenden Kriterien wurde der Proband als „prefrail“, bei mehr als 3 als „frail“ klassifiziert. Anhand der Daten aus KORA-Age I wurde bereits jüngst gezeigt, dass Frailty mit höheren Abendcortisolwerten einhergeht (Johar et al., 2014). Dieser Effekt war ebenfalls unter den in dieser Arbeit definierten Ausschlusskriterien (siehe Kap. 3.8) zu beobachten. Das gemessene Abendcortisol (Median = 0,9) der Probanden (n = 25), die als „frail“ eingestuft wurden, war hochsignifikant höher gegenüber dem der „prefrail“-Probanden (n = 222) mit 0,8 ng/ml und dem der „non-frail“-Probanden (n = 427) mit 0,6 ng/ml. Zu den Ergebnissen von Johar ist zu ergänzen, dass auch in der Folgestudie dieser Trend auf Signifikanzniveau zu beobachten war. Hier fiel das Cortisol vom Median bei 1,1 ng/ml in der „frail“-Gruppe (n = 10) auf 0,7 ng/ml in der „non-frail“-Gruppe (n = 372) ab.

Joahr H. hatte bereits in ihrem Review: „Blunted diurnal cortisol pattern is associated with frailty: a cross-sectional study of 745 participants aged 65 to 90 years“ (Johar H. et al.) nicht nur die Abendmessung, sondern auch den Quotienten aus der Morgens- zur Abendmessung untersucht und hierbei festgestellt, dass eine verminderte Reaktivität des Cortisolrhythmus mit Frailty assoziiert ist. Auch im Folgenden konnte für das Frail-Kollektiv in beiden Studienabschnitten eine niedrigere Ratio aus „Morgens 1“- und „Abends“-Messung berechnet werden.

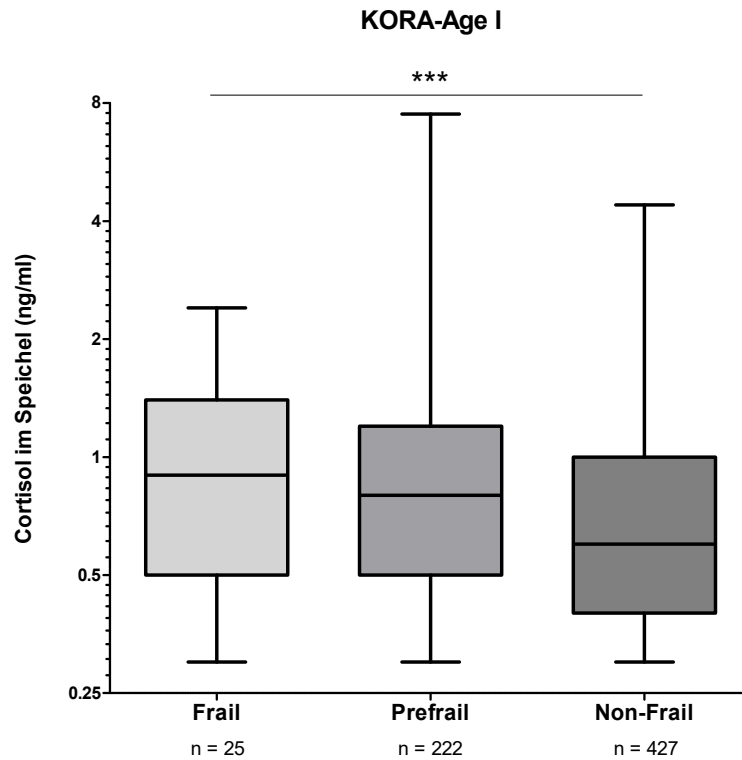


Abbildung 22a. Frailty und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I. Der Median für das Cortisol unterscheidet sich signifikant (***) = $p < 0,001$) zwischen den drei Gruppen.

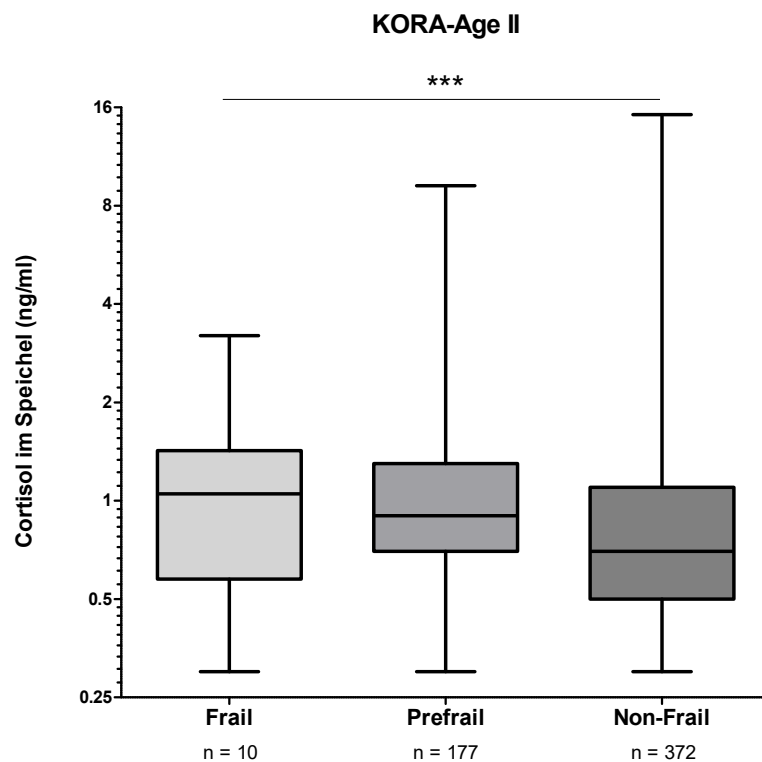


Abbildung 22b. Frailty und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II. Der Median für das Cortisol unterscheidet sich signifikant (***) = $p < 0,001$) zwischen den drei Gruppen.

Tabelle 20. Zusammenhang von Frailty und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

Cortisol „Abends“	KORA-Age I N=674			KORA-Age II N=579		
	Frail	Prefrail	Non-frail	Frail	Prefrail	Non-frail
Anzahl	25	222	427	10	177	372
25% Perzentile	0,5	0,5	0,4	0,57	0,7	0,5
Median	0,9	0,8	0,6	1,1	0,9	0,7
75% Perzentile	1,4	1,2	1	1,4	1,3	1,1
Mittelwert	1,00	1,00	0,80	1,16	1,17	0,98
SD	0,5	0,8	0,6	0,8	1,0	1,1
Unteres Konfidenzintervall 95%	0,77	0,89	0,75	0,6	1	0,87
Oberes Konfidenzintervall 95%	1,21	1,11	0,86	1,74	1,31	1,1
Anzahl/relativer Anteil der Probanden mit Cortisol abends > 1,5 ng/ml	3	39	33	1	30	52
Kruskal-Wallis test	P = 0,0008			P = 0,0002		

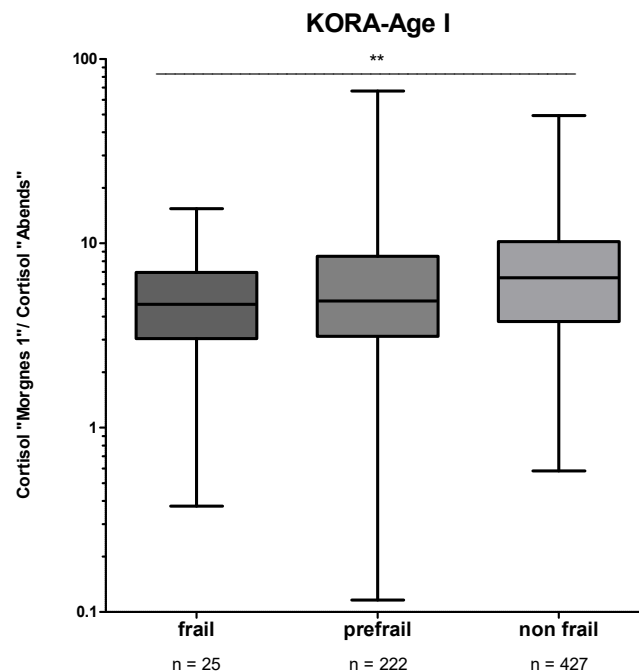


Abbildung 23a. Frailty und Cortisol-Morgens-Abends-Ratio in KORA-Age I. Der Median für das Cortisol unterscheidet sich signifikant (** = $p < 0,01$) zwischen den drei Gruppen.

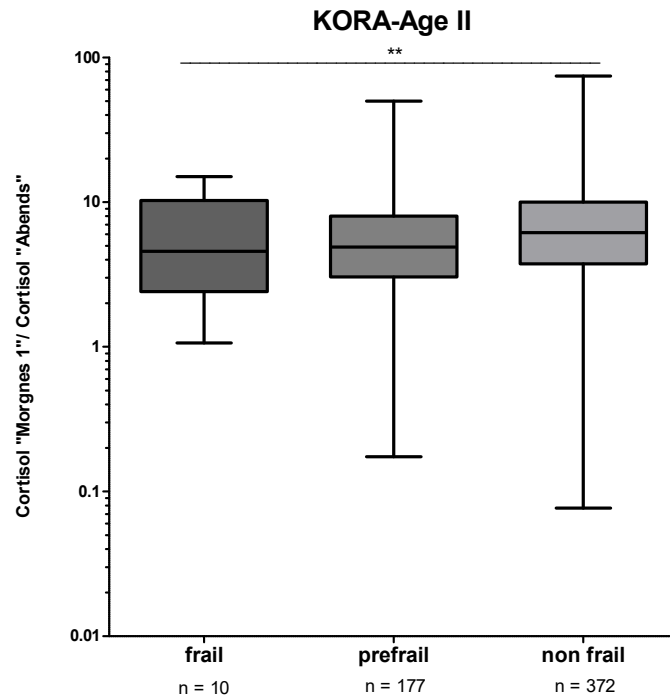


Abbildung 23b. Frailty und Cortisol-Morgens-Abends-Ratio in KORA-Age II. Der Median für das Cortisol unterscheidet sich signifikant (** = $p < 0,01$) zwischen den drei Gruppen.

Tabelle 21. Zusammenhang von Frailty und der Cortisol-Morgens-Abends-Ratio in KORA-Age I & II

Cortisol M1/A	KORA-Age I			KORA-Age II		
	Frail	Prefrail	Non-frail	Frail	Prefrail	Non-frail
25% Perzentile	3,04	3,13	3,76	2,41	3,04	3,75
Median	4,67	4,86	6,5	4,57	4,89	6,17
75% Perzentile	6,95	8,5	10,22	10,28	8	10
Mittelwert	5,34	6,75	7,75	6,21	7,07	8,13
SD	3,69	7,07	5,7	4,57	7,11	6,97
Unteres Konfidenzintervall 95%	3,81	5,81	7,21	2,94	6	7,41
Oberes Konfidenzintervall 95%	6,86	7,69	8,3	9,48	8,15	8,84
Kruskal-Wallis test	P = 0,0005			P = 0,0081		

3.18 Überprüfung des Einflusses der Variablen in der multivariaten Analyse

In der Regressionsanalyse unter Anwendung der verallgemeinerten linearen Modelle sollten die in Erwägung gezogenen Einflussfaktoren hinsichtlich ihrer Assoziation mit der Abendcortisolmessung gegeneinander kontrolliert werden, um mögliche Confounder zu ermitteln. In die Analyse wurden die Größen: Geschlecht, BMI, Altersgruppen, Abnahmezeit, Alkoholkonsum, Rauchgewohnheit, Schlafprobleme (Einschlaf-, Durchschlafschwierigkeiten und Tagesmüdigkeit), belastendes Ereignis innerhalb des vergangenen Jahres, Frailty-Index, Krankheiten (Karzinom, Diabetes und Depression) sowie das CRP als Entzündungsmarker (nur in KORA-Age I) einbezogen. Da nur Probanden in der Analyse berücksichtigt wurden, zu denen vollständige Informationen zu benannten Kriterien vorlagen, verkleinerten sich die Kohorten in KORA-Age I von $n=697$ auf $n=656$ und in KORA-Age II von $n=592$ auf $n=548$. In KORA-Age I erwiesen sich die Altersgruppen ($p = 0,036$), die Abnahmezeit ($p=0,005$) und Frailty ($p=0,017$) als die Korrelationsgrößen mit dem deutlichsten Effekt auf das Cortisol. Laut Parameterschätzung ist das Cortisol demnach in der jüngsten Altersgruppe (65-70 Jahre) um 13,2% niedriger gegenüber der ältesten Gruppe, wobei die zweit-älteste Gruppe ein um 7% höheres Cortisol als die älteste hat. Bezüglich der Zeitkategorien liegt der höchste Cortisolmittelwert nach Mitternacht, gefolgt vom frühesten Zeitintervall (vor 20:00 Uhr). Zwischen 20:00 Uhr und Mitternacht ist das Cortisol hingegen um 65,4 bis 71,5 % niedriger. Der „frail“-Proband hat ein um 7% und der „prefrail“-Proband ein um 19% höheres Cortisol als der Proband ohne Frailty-Anzeichen.

Tabelle 22a. Multivariate Analyse der Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age I – Modell der Testeffekte

N=656	Wald-Chi-Quadrat	Signifikanz
Konstanter Term	25,583	0,000
Geschlecht	0,385	0,535
BMI	6,870	0,230
Altersgruppen	8,549	0,036
Abnahmezeit	16,672	0,005
Alkoholkonsum	0,799	0,939
Rauchen	1,317	0,725
Einschlafprobleme	0,040	0,980
Durchschlafprobleme	0,644	0,725
Tagesmüdigkeit	0,280	0,869
Belastendes Ereignis	0,002	0,962
Frailty	8,189	0,017
Diabetes	0,163	0,686

Karzinom	0,027	0,869
Depression	2,929	0,087

Tabelle 22b. Multivariate Analyse der signifikanten Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age I - Parameterschätzungen

N=656		95% Wald-Konfidenzintervall		Hypothesentest			
Parameter	SD	Unterer	Oberer	Wald-Chi-Quadrat	Signifikanz	Exp(B)	95% Wald-Konfidenzintervall für Exp(B)
Konstanter Term	0,3090	0,546	1,757	13,883	0,000	3,163	1,726
Alter A	0,0818	-0,302	0,019	3,000	0,083	0,868	0,739
Alter B	0,0841	-0,207	0,123	0,248	0,618	0,959	0,813
Alter C	0,0804	-0,090	0,225	0,702	0,402	1,070	0,914
Alter D	.	.	.	.	.	1	.
Vor 20:00	0,1759	-0,444	0,246	0,316	0,574	0,906	0,642
20:01-21:00	0,1544	-0,638	-0,033	4,721	0,030	0,715	0,528
21:01-22:00	0,1367	-0,686	-0,150	9,366	0,002	0,658	0,503
22:01-23:00	0,1352	-0,690	-0,160	9,894	0,002	0,654	0,502
23:01-23:59	0,1420	-0,693	-0,137	8,546	0,003	0,660	0,500
ab 00:00	.	.	.	.	.	1	.
Frail	0,1512	-0,228	0,365	0,204	0,652	1,071	,796
Prefrail	0,0615	0,055	0,296	8,135	0,004	1,192	1,056
Non-Frail	.	.	.	.	.	1	.

In KORA-Age II wurden in der multivariaten Analyse für den Alkoholkonsum ($p=0,024$) und für Frailty ($p=0,000$) signifikante Veränderungen des Cortisolspiegels berechnet. Die Parameterschätzung ergab, dass der höchste Cortisolwert bei den Probanden lag, die kein bzw. nur äußerst selten Alkohol tranken, während der Cortisolwert derer, die angaben, einmal die Woche Alkohol zu trinken, mit 57,7 % der Referenzgröße relativ am niedrigsten ist. Für den „frail“-Probanden wurde ein durchschnittlich 7-fach höheres Cortisol berechnet.

Tabelle 23a. Multivariate Analyse der Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age II – Modell der Testeffekte

N=548	Wald-Chi-Quadrat	Signifikanz
-------	------------------	-------------

Konstanter Term	25,583	0,000
Geschlecht	0,844	0,358
BMI	8,844	0,115
Altersgruppen	3,978	0,264
Abnahmezeit	8,142	0,149
Alkoholkonsum	11,239	0,024
Rauchen	0,068	0,795
Einschlafprobleme	2,838	0,242
Durchschlafprobleme	1,004	0,605
Tagesmüdigkeit	1,739	0,419
Belastendes Ereignis	0,126	0,722
Frailty	24,248	0,000
Diabetes	1,566	0,211
Karzinom	0,009	0,926
Depression	0,036	0,849

Tabelle 23b. Multivariate Analyse der signifikanten Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age II
- Parameterschätzungen

N=548		95% Wald-Konfidenzintervall		Hypothesentest			
Parameter	SD	Unterer	Oberer	Wald-Chi-Quadrat	Signifikanz	Exp(B)	95% Wald-Konfidenzintervall für Exp(B)
Konstanter Term	0,6313	0,770	3,245	10,115	0,001	7,446	2,161
Täglicher Alkoholkonsum	0,1763	-0,769	-0,078	5,769	0,016	0,655	0,464
Alkoholkonsum mehrmals die Woche	0,1969	-0,732	0,039	3,100	0,078	0,707	0,481
Alkoholkonsum einmal die Woche	0,1973	-0,936	-0,163	7,753	0,005	0,577	0,392
Alkohol seltener	0,1728	-0,455	0,222	0,455	0,500	0,890	0,634

als einmal die Woche							
Kein bzw. äußerst seltener Alkoholkonsum	.	.	.	.	.	1	.
Frail	0,4030	1,176	2,756	23,789	0,000	7,140	3,241
Prefrail	0,1309	-0,226	0,288	0,056	0,813	1,032	0,798
Non-Frail	.	.	.	.	.	1	.

Nimmt man zusätzlich zu den in Kap. 3.8 definierten Ausschlusskriterien noch einen relativ jungen Probanden (68 Jahre), der durch einen hohen Cortisolwert von 15,2 ng/ml auffiel, aus der Analyse des verallgemeinerten linearen Modells aus, erweisen sich die Altersgruppen und die Zeitabstände – wie in KORA-Age I –, sowie zusätzlich eine vorliegende Diabeteserkrankung als signifikant in ihrem Einfluss auf den abendlichen Cortisolspiegel. Die Korrelation der Frailty mit dem Cortisolspiegel hingegen war in dieser Analyse nicht mehr nachweisbar.

Demnach ist das Cortisol der jüngsten Probanden (68-72) um 31,4% niedriger als das der ältesten Probanden. Hinsichtlich der Zeit ergibt sich, dass im Durchschnitt der Proband, der zwischen 20:00 und 21:00 Uhr seine Probe abgegeben hat, ein um 29,4% niedrigeres Messergebnis als derjenige, der erst nach Mitternacht seine Probe abgegeben hat. Proben vor 20:00 Uhr sind hingegen im Mittel um 51,9 % höher als diejenigen nach Mitternacht. Diabetiker haben ein um 27,7% höheres Cortisol als Nicht-Diabetiker.

Tabelle 24a. Multivariate Analyse der Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age II – Modell der Testeffekte – nach Ausschluss eines weiteren Probanden

N=547	Wald-Chi-Quadrat	Signifikanz
Konstanter Term	42,523	0,000
Geschlecht	2,484	0,115
BMI	10,405	0,065
Altersgruppen	12,017	0,007
Abnahmezeit	16,510	0,006
Alkoholkonsum	9,284	0,054
Rauchen	0,387	0,534
Einschlafprobleme	0,123	0,940
Durchschlafprobleme	0,982	0,612
Tagesmüdigkeit	0,013	0,994
Belastendes Ereignis	0,031	0,861
Frailty	1,535	0,464
Diabetes	5,756	0,016
Karzinom	0,083	0,773

Depression	0,328	0,567
------------	-------	-------

Tabelle 24b. Multivariate Analyse der Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age II – Parameterschätzungen – nach Ausschluss eines weiteren Probanden

N=547		95% Wald-Konfidenzintervall		Hypothesentest			
Parameter	SD	Unterer	Oberer	Wald-Chi-Quadrat	Signifikanz	Exp(B)	95% Wald-Konfidenzintervall für Exp(B)
Konstanter Term	0,4151	1,039	2,666	19,920	0,000	6,376	2,826
Alter A	0,1101	-0,592	-0,161	11,695	0,001	0,686	0,553
Alter B	0,1066	-0,379	0,039	2,556	0,110	0,843	0,684
Alter C	0,1087	-0,381	0,045	2,398	0,121	0,845	0,683
Alter D	.	.	.	.	.	1	.
Vor 20:00	0,2448	-0,062	0,898	2,914	0,088	1,519	0,940
20:01-21:00	0,2167	-0,774	0,076	2,590	0,108	0,706	0,461
21:01-22:00	0,1938	-0,490	0,270	0,321	0,571	0,896	0,613
22:01-23:00	0,1878	-0,573	0,164	1,184	0,277	0,815	0,564
23:01-23:59	0,1981	-0,482	0,294	0,224	0,636	0,911	0,618
ab 00:00	.	.	.	.	.	1	.
Diabetes	0,1021	0,045	0,445	5,756	0,016	1,277	1,046
Kein Diabetes	.	.	.	.	.	1	.

4 Diskussion

4.1 Eignung des Cortisolspeicheltests im ambulanten Bereich

Den ambulanten Speicheltest in dieser Größenordnung von bis zu 800 Probanden in jeweils zwei Studien anzuwenden stellte eine logistische Herausforderung dar. Jeder Proband musste genau über den Sinn des Speicheltests zur Erfassung des Cortisolprofils sowie die zu beachtenden Besonderheiten aufgeklärt werden und die Testbox mit den drei Proben zeitnah zur Post bringen. In dieser Hinsicht hat sich das Studienmodell bewährt. Der Anteil an zurückgeschickten Röhrchen, die nicht verwertbar waren, war minimal (siehe Punkt 3.2 und 3.3). 98,5% in KO-RA-Age I und 98,4% in KORA-Age II der Testboxen kamen mit Begleitschein ans Labor zurück, von denen wiederum nur 3,7% bzw. 3,6% unvollständig ausgefüllt waren. 86,6% bzw. 88,6% der Probanden hielten sich an den Zeitabstand von 30 min +/- 5 min zwischen Morgens 1 und 2. Der größte Teil der Probanden (88,5% und 92,0%) befolgte die genauen Anweisungen. Trotz der hohen Teilnehmerzahl haben sich in den Studien die Salivetten als leicht handhabbares Mittel bewährt, um integriert in den Alltag der Probanden Hormonproben zu gewinnen. Auch die Messergebnisse erwiesen sich im Großen und Ganzen als plausibel, da sie einen physiologischen Cortisoltagesrhythmus wiedergeben (siehe Kap. 3.10): Die niedrigen Cortisolwerte aus der Abendmessung spiegelten den Tiefpunkt des Cortisols im Tagesverlaufs wieder, während die Morgenmessungen im Sinne des zu erwartenden Anstiegs am Morgen deutlich höher lagen und gemäß der CAR (Cortisol Awakening Response) in „Morgens 2“ nochmals anstiegen.

Interpretiert man die dokumentierten Probeabnahmezeiten als Auskunft über das natürliche Schlafverhalten des durchschnittlichen deutschen Bürgers ab 65 Jahren, könnte man den Schluss ziehen bzw. zu bedenken geben, dass eine strikte Anweisung des für den Late-Night-Test in der klinischen Cushing-Diagnostik empfohlenen Abnahmezeitpunkts zwischen 23:00 und 24:00 Uhr für den ambulanten Gebrauch ungeeignet ist. 80,2% bzw. 78,5% der Probanden gaben die Abendspeichelprobe laut Begleitschein bereits vor 23:00 Uhr ab. Will man mit dem ambulanten Speicheltest für Studien- oder Diagnostikzwecke ein möglichst natürliches, an den

jeweils individuellen Biorhythmus angepasstes Cortisolprofil unter Ruhebedingungen ermitteln, empfiehlt es sich von dem Schema der 23:00 Uhr-Messung Abstand zu nehmen. Zudem zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass sich das Cortisoltief im Tagesprofil von 20:00 Uhr bis Mitternacht erstreckt (vgl. Kap. 3.12) und innerhalb dieser Zeitspanne im Durchschnitt keine signifikanten Cortisolwertveränderungen stattfinden. Demnach ließe sich diskutieren, den Zeitraum des Late-Night-Tests auf die entsprechende abendliche Zeitspanne zu erweitern.

4.2 Die Veränderung des Cortisolspiegels im Alter

Viele Krankheiten, die in ihrer Häufigkeit im Alter zunehmen, sind mit erhöhten Cortisolspiegeln assoziiert, wie zum Beispiel die Alzheimer-Demenz (de Leon et al., 1988), Diabetes (Hudson et al., 1984), das metabolische Syndrom (Reynolds et al., 2003) und Bluthochdruck (al'Absi and Arnett, 2000). Während jene Studien belegen, dass altersbezogene Krankheiten mit erhöhten Cortisolwerten einhergehen, ist noch ungeklärt, ob das hohe Alter an sich die HPA-Aktivität und die Cortisolsekretion tangiert (Veldhuis et al., 2013). In einer Meta-Analyse (Otte et al., 2005) zeigten ältere Probanden (mittleres Alter 69) gegenüber jüngeren Probanden (mittleres Alter 28) einen höheren Cortisolspiegel als Antwort auf einen Suppressionstest. Dieser Review sprach bereits die Vermutung aus, dass die erhöhte Cortisolantwort auch ein Risiko für altersbezogene Krankheiten darstellen könnte.

Die Frage nach der Veränderung des Cortisolspiegels im Alter brachte in der Analyse der Daten aus KORA-Age I und II folgende Ergebnisse:

Nach Anwendung der Ausschlusskriterien im Gesamtkollektiv der Probanden in KORA-Age I (n = 679) und KORA-Age II (n = 591) lag ein auffällig hoher Anteil der Probanden (11% bzw. 14,3%) über dem im Cushing-Screening verwendeten Referenzbereich von 1,5 ng/ml (Bidlingmaier, 2015) (siehe Kap. 3.9). Dies weist bereits daraufhin, dass im Kollektiv der 65-90 bzw. 68-92-Jährigen der Cortisolspiegel abends insgesamt erhöht zu sein scheint.

Eine Besonderheit der vorliegenden Arbeit besteht nun zusätzlich darin, dass selbst innerhalb des höheren Alters Verschiebungen zentraler Cortisoltendenzen zu finden sind:

Erstens hatten die Probanden aus der ersten Studienphase, die auch am zweiten Studienteil teilnahmen (n = 485) nach nur knapp drei Jahren bereits ein hochsignifikant höheres Abendcortisol gegenüber der Messung aus der ersten Phase (Mediananstieg von 0,6 ng/ml auf 0,8 ng/ml) (siehe Kap. 3.11). Der Cortisolanstieg war auch in Bezug auf den Anteil der über dem Cutoff (1,5 ng/ml) liegenden Probanden (von 10,3 auf 14,8%; $p < 0,05$) zu erkennen. Dass von den 50 Probanden, die in der ersten Studienphase über dem Referenzbereich lagen, 34 in der zweiten Studie wieder unter den Cutoff und zwei genau auf den Grenzbereich fielen, lässt sich

als Ausdruck einer normalen physiologischen Schwankungsbreite deuten, die im Alter nach oben verschoben zu sein scheint. Zu den acht Probanden, bei denen ein weiterer leichter Anstieg in KORA-Age II gemessen wurde, ist im Rahmen einer populationsbasierten Studie ohne individuelle diagnostische Nachverfolgung naturgemäß keine definitive Aussage möglich, ob dies im Rahmen jener biologischen Schwankung passierte oder den Beginn einer Cushing Erkrankung andeutet. Bei einem Probanden, dessen Cortisolwert von 1,6 ng/ml auf 9,2 ng/ml anstieg, wäre sicherlich angezeigt, eine tiefergehende Cushing-Diagnostik vorzunehmen.

Zweitens unterschieden sich auch innerhalb der Studien zwischen definierten Altersgruppen (KORA-Age I: 65-70; 71-75; 76-80; 81-90 und KORA-Age II: 68-72; 73-77; 78-82; 83-92) signifikant die zentralen Tendenzen der Abendcortisolwerte (siehe Kap. 3.13.3). Diese Beobachtung blieb auch in der multivariaten Analyse unter Korrektur des Einflusses von Geschlecht, BMI, Rauch-, Trink- und Schlafverhalten und Krankheiten bestehen (siehe Kap. 3.17). Offenbar findet zwischen 65 und 90 Jahren in Zeitabständen von 5 bis 10 Jahren nochmals eine erhebliche Dynamik statt, die den abendlichen Cortisolspiegel weiter ansteigen lässt. Abgesehen von den Einzelbeispielen mit extremen Cortisolanstiegen sprechen die Ergebnisse dafür, dass der Referenzbereich (1,5 ng/ml) für die Gruppe alter Menschen (> 65 Jahre) angepasst werden müsste.

Betrachtet man zusätzlich in den verschiedenen Altersgruppen die morgendlichen Messwerte, so zeigt sich, dass hier nur eine unwesentliche Veränderung stattfindet (siehe Kap. 3.14). Wenn die abendlichen Cortisolwerte im Alter ansteigen, die Morgenwerte jedoch konstant gleich hoch bleiben, ließe sich daraus der Schluss ziehen, dass sich die Schwankungsbreite des Cortisols im Tag-Nachtrhythmus zu vermindern scheint, je älter man wird.

Was dem Cortisolanstieg im Alter zugrunde liegen könnte, ist noch weitgehend ungeklärt. Einer Hypothese (Jacobson and Sapolsky, 1991) zufolge gehen im Alter zunehmend die Mineralokortikoidrezeptoren im Hippocampus verloren und mit ihnen die Empfindlichkeit des Hippocampus inhibitorisch auf die Cortisolausschüttung aus der Nebennierenrinde zu reagieren. In diesem Sinne wurde bereits in Humanstudien (O'Brien et al., 1996; Wolf et al., 2002) bei höheren Cortisolspiegeln ein vermindertes Hippocampusvolumen gemessen. Eine andere These führt den Cortisolanstieg darauf zurück, dass mit dem Alter proinflammatorische Zytokine wie Interleukin-6 vermehrt gebildet werden. Diese wiederum würden die Freisetzung von CRH im Hypothalamus stimulieren (Ershler and Keller, 2000). Für zukünftige Studien wäre es sicherlich interessant, die Rolle des Hippocampus und Hypothalamus in Bezug auf das Phänomen des erhöhten Cortisols im Alter spezifisch zu untersuchen.

4.3 Cortisol und Geschlecht

In mehreren Studien wurde beschrieben, dass unter alten Probanden vor allem Frauen von einem erhöhten Cortisolspiegel betroffen seien (Broglia et al., 2003; Rasmuson et al., 1998; Rubin et al., 2002). Diese Beobachtung sei möglicherweise auf einen relativen Östrogenmangel nach der Menopause zurückzuführen, da Östrogen die Cortisolantwort auf mentalen Stress und Stimulationstests abzumildern scheint (Kudielka et al., 1998). Ein Östrogenabfall könnte demnach postmenopausal zu einem Cortisolanstieg führen. Allerdings könnte auch beim Mann Testosteron als starker Inhibitor auf die Cortisolausschüttung wirken (Viau and Meaney, 1996). Dieser Effekt wird jedoch als geringer gegenüber der ausbleibenden Östrogenwirkung nach der Menopause eingeschätzt (Lamberts et al., 1997). Eine Studie legte sogar einen gegenläufigen Trend dar und beschrieb, dass die ACTH-Sekretion im Alter bei den Männern fiel, während sie bei Frauen stieg (Keenan et al., 2009).

In den Abendmessungen konnten allerdings entgegen der beschriebenen Geschlechtsspezifität weder in KORA-Age I noch in KORA-Age II zwischen Männern und Frauen Unterschiede gefunden werden (siehe Kap. 3.13.1). Auch im verallgemeinerten linearen Modell (siehe Kap. 3.17) stellte das Geschlecht keine signifikante Einflussgröße dar. Ob und warum der geschlechtsspezifische Unterschied – wie er in anderen Studien beschrieben wird – jedoch im höheren Alter (ab ca. 65 Jahren) verloren geht, wäre zu diskutieren.

4.4 Cortisol und BMI

Das metabolische Syndrom wird oftmals mit erhöhten Cortisolspiegeln assoziiert, wobei die Frage offen bleibt, ob ein Hypercortisolismus zu einem metabolischen Syndrom führt, wie es beim klassischen Cushing der Fall ist oder ob auch umgekehrt ein veränderter Fettstoffwechsel im Rahmen eines metabolischen Syndroms auf den Cortisolspiegel zurückwirkt. Der Zusammenhang des BMI mit dem Cortisolspiegel gilt als umstritten und es wird sowohl beschrieben, dass ein hoher BMI ein erhöhtes (Katz et al., 2000; Travison et al., 2007) als auch ein erniedrigtes Cortisollevel (Duclos et al., 2001) bedinge. Jedenfalls ist Übergewicht der häufigste Auslöser für die Anordnung einer Cushingdiagnostik (Plotsky et al., 1998). In Tiermodellen (Masuzaki et al., 2001) und in Humanstudien (Pedersen et al., 1994) konnte nachgewiesen werden, dass mehr Fettzellen mehr 11-Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1 (11-HSD1) bilden und dadurch eine vermehrte Umwandlung von biologisch inaktivem Cortison zu biologisch aktivem Cortisol

auslösen. Diese erhöhte Expression der 11 β -HSD1 ist mit einer erhöhten Insulin-Resistenz, Diabetes, Bluthochdruck und Dyslipidämie assoziiert (Morton and Seckl, 2008). In einer Populationsstudie in Südindien konnte eine Assoziation zwischen einem 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1 Genpolymorphismus und dem metabolischen Syndrom nachgewiesen werden (Ghandi et al., 2013). In einem Tiermodell zur Untersuchung des Zusammenhangs der 11 β -HSD1 mit Fettleibigkeit setzten adipöse mit 11 β -HSD1-Transgenen versetzte Mäuse intrazellulär und in der Pfortader mehr Cortisol frei (Masuzaki et al., 2001). Dieser intrazelluläre Hypercortisolismus führte jedoch zu keinem messbar erhöhten systemischen Cortisolspiegel.

In den beiden vorliegenden KORA-Age Studien war ein Zusammenhang von Adipositas und erhöhtem systemischen Cortisolspiegel anhand der Abendmessung nicht nachzuvollziehen oder nachzuweisen (siehe Kap. 3.13.2). Im Gegenteil, die Gruppe der Normalgewichtigen war in KORA-Age I sogar der Tendenz nach – allerdings ohne Signifikanznachweis – in Mittelwert und Median höher gegenüber der präadipösen, und den adipösen Gruppen Schweregrad 1, 2 und 3. Lediglich in KORA-Age II war das Cortisol der adipösen Grad 3 (n = 7) höher als das der Normalgewichtigen. Die Aussagekraft ist jedoch angesichts der geringen Fallzahl eher als fraglich zu werten. Insgesamt ist zu vermuten, dass der Einfluss des BMI auf den spätabendlichen Cortisolwert im bevölkerungsbasierten Ansatz zu gering ist, um gegenüber anderen Variablen einen signifikanten Einfluss zu behaupten. Alternativ wäre zu diskutieren, ob im Alter der Einfluss des BMI auf die Cortisolsekretion insgesamt an Bedeutung verliert.

4.5 Cortisol und Rauchen

Studien, die sich mit dem Effekt des Rauchens auf den Cortisolspeicheltest auseinandergesetzt haben (Badrick et al., 2007; Baron et al., 1995; Pickworth and Fant, 1998) beschreiben, dass sowohl unmittelbares Rauchen vor dem Test wie auch Rauchen allgemein erhöhte Cortisolmessergebnisse bedingen. Daher stammt auch die Empfehlung am Tag des Speicheltests nicht zu rauchen (Nieman et al., 2008).

In den KORA-Age Studien wurde dem Einfluss des Rauchens auf die Speichelmessung im Vorhinein bereits insofern Rechnung getragen, als die Anweisung galt, eine halbe Stunde vor dem Test nicht zu rauchen. Entsprechend hielten sich auch fast alle Probanden an diese Empfehlung. Lediglich vier Probanden in KORA-Age I und zwei in KORA-Age II gaben an kurz vor dem Test geraucht zu haben. Und tatsächlich war bei zwei bzw. in KORA-Age II bei einem die Cortisolmessung über dem Cutoff von 1,5 ng/ml gelegen (siehe Kap. 3.8.3).

Bezüglich der Frage, wie sich das allgemeine Rauchverhalten auf den Cortisolspiegel auswirkt, war zu erkennen, dass die zentrale Tendenz des gemessenen Abend-Cortisols der Raucher höher gegenüber den Nicht-Rauchern und Ex-Rauchern war, wobei sich diese Verschiebung nicht als signifikant erwies (siehe Kap. 3.15.1). Möglicherweise war schlicht die Fallzahl mit 31 (KORA-Age I) bzw. 17 Rauchern (KORA-Age II) zu gering, um einen repräsentativen Unterschied feststellen zu können. Eine andere Erklärung wäre, dass sich das Cortisolniveau an langjähriges Rauchen adaptiert.

4.6 Cortisol und Alkohol

Während der Einfluss des Rauchens auf den Cortisolspiegel sehr viel eindeutiger beschrieben ist, gilt die Wirkung des Alkoholkonsums als umstritten (Badrack et al., 2008). Zumindest gibt es Studien, die behaupten, dass starker Alkoholkonsum mit erhöhten Cortisolwerten einherginge (Thayer et al., 2006; Gianoulakis et al., 2003). So brachte etwa eine Studie hervor, dass unter starkem Alkoholkonsum (224 g Ethanol beim Mann, 168 g bei der Frau) der Cortisolspiegel über den Tag hinweg langsamer abfällt, was auf eine durch den Alkohol verminderte Kontrollaktivität der HPA-Achse schließen ließe (Badrack et al., 2008).

In KORA-Age konnte jedoch ein solcher Zusammenhang nicht ermittelt werden. Bemerkenswerterweise waren sogar der Mittelwert und Median für das Abendcortisol in KORA-Age I und II in der Gruppe der Alkoholabstinenten am höchsten (siehe Kap. 3.15.2). In dem Probandenkollektiv in KORA-Age II ($n = 548$) erwies sich dieses Phänomen sogar in der multivariaten Analyse unter Korrektur von Confoundern wie Geschlecht, Alter etc. als signifikant ($p = 0,024$). Dieser Zusammenhang steht in deutlichem Gegensatz zu den zitierten Studien. Eventuell muss in der Wirkung des Alkoholkonsums auf das Cortisol der tägliche Alkoholkonsum – wie in der Studie als höchste Form des Alkoholkonsums – von noch stärkeren Formen des Alkoholismus unterschieden werden. Denkbar wäre, dass erst durch starken Alkoholismus bedingte Lebererkrankungen, wie Fettleber und Leberzirrhose, den Glukokortikoidabbau beeinträchtigen und erst dadurch die Cortisolkonzentration anheben.

4.7 Cortisol und Stress

Die HPA-Achse stellt eines der empfindlichsten Systeme in der Stressantwort dar (Giletta et al., 2014). Stress verschiebt dabei als Aktivator der HPA-Achse das Gleichgewicht mineralokortikoid und glukokortikoidvermittelter Effekte und bedingt eine vermehrte Freisetzung des corticotropin-releasing Faktors CFR aus dem Nukleus paraventricularis des Hypothalamus, was wie-

derum die Synthese des Proopiomelanocortins, dem Vorläufer des ACTHs, anregt (Jurueña, 2014) und damit den Cortisolspiegel anhebt. Der Kontrollmechanismus des HPA-Systems wird ungenügend, sodass es zu einer Sensibilisierung auf Stressoren mit entsprechend starken Stressantworten kommt und umgekehrt bei langanhaltendem Stress ohne erfolgreichen Umgang bzw. Bewältigung der Kortikosteroidspiegel erhöht bleibt (Baes et al., 2014).

Entgegen der Erwartung, unmittelbarer Stress vor dem Speicheltest würde zu erhöhten Cortisolwerten führen (Epel, 2009), hatten die „gestressten“ Probanden in keiner der beiden Studien erkennbar höhere Cortisolabendwerte. Welche Gewichtung man dieser Beobachtung geben soll, ist fraglich, da die Zahl derer, die – nach subjektiver Angabe im Fragebogen - unter Anspannung standen, relativ gering war (n=33 in KORA-Age I und n=40 in KORA-Age II) gegenüber denen, die keinen Stress zum Zeitpunkt der Probe angaben. Zusätzlich könnte auch der Hinweis, die Probe nur unter Ruhebedingungen abzunehmen, das Ergebnis dahingehend mitbeeinflusst haben, dass sich selbst die „Gestressten“ zum Speicheltest kurz zuvor in Ruhelage begeben hatten.

4.8 Cortisol und Diabetes

Diabetes und milde Formen von Hypercortisolismus stehen laut Studienlage in engem Zusammenhang, wobei diese Assoziation zum Teil als Frühform einer Cushing-Erkrankung gedeutet wird (Catargi et al., 2003 ; Reimondo et al., 2007). Ein hoher Cortisolspiegel stimuliert die Glukoneogenese und verschlimmert die Insulinresistenz (Shibli-Rahhal et al., 2006). Tatsächlich hatten im Durchschnitt die Diabetiker in KORA-Age II (n = 93) – wie in jenen Studien beschrieben – ein erhöhtes Cortisol gegenüber den Nichtdiabetikern (n = 498; siehe Kap. 3.16.2), was sich auch in der Multivarianzanalyse mit einem um 27,7% erhöhten Cortisol bestätigen ließ (siehe Kap. 3.17).

4.9 Cortisol und Frailty

Wie bereits Johar et al. (2014) für KORA-Age I gezeigt, ist der Parameter „Frailty“ (Summenscore verschiedener Variablen, siehe Kap.3.16.3) mit einer verminderten Reaktivität des Cortisols im Abend-Morgen-Rhythmus assoziiert. Auch in der hier vorliegenden Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass sowohl in KORA-Age I als auch in KORA-Age II unter den als „frail“ klassifizierten Probanden das Cortisol abends am höchsten und die Morgens/Abends-Ratio am niedrigsten ist. Dieser Effekt zeigt sich auch – wenngleich etwas schwächer – bei den als „pre-frail“ klassifizierten Probanden (siehe Kap. 3.16.3). Demnach könnte man den umgekehrten

Schluss ziehen, dass eine normale Cortisolsekretion mit erhaltener, ausgeprägter zirkadianer Rhythmik eine gute Bedingung für eine optimale Gesundheit im Alter darstellt. Im Sinne des erfolgreichen Alterns wäre es somit denkbar, den ambulanten Cortisolspeicheltest als Screeningverfahren zur Prävention der Gebrechlichkeit im Alter einzusetzen. Eine Zielgruppe für Interventionsmaßnahmen wären sicherlich diejenigen, die als „prefrail“ eingestuft sind, sodass deren Abgleiten in die Frailty noch frühzeitig verhindert werden kann. Möglicherweise liegt der Grund für die Assoziation der Frailty mit hohen Cortisolspiegeln an der durch Hypercortisolismus hervorgerufenen Muskelatrophie (Ferrando et al., 2011).

5 Zusammenfassung

KORA-Age ist eine longitudinale, populationsbasierte Studie, die sich dem Thema des demografischen Wandels einer immer älter werdenden Gesellschaft gewidmet hat. Anhand einer zufällig ausgesuchten Kohorte (n=1079) von älteren Menschen ab 65 Jahren aus dem Einzugsgebiet Augsburg sollte der Fragestellung gelungenen Altwerdens nachgegangen werden, indem im Abstand von drei Jahren in zwei Studienläufen KORA-Age I (2008-2011) und KORA-Age II (2011-2014) Informationen zu Erkrankungen, Lebensgewohnheiten, Lebensbedingungen, und dem seelischen Befinden eingeholt, sowie medizinische Untersuchungen an den Probanden vorgenommen wurden. Da die hypothalamisch-hypophysäre-adrenale Achse einen wesentlichen Regelkreis in der Alltags- und Stressbewältigung darstellt, lag ein Fokus der Studie in der Untersuchung der Probanden hinsichtlich ihres Cortisoltagesprofils mittels einer Speichelgewinnung, die die Probanden eigenständig von zu Hause aus vornehmen konnten.

Im Rahmen des Untersuchungsprogramms im Studienzentrum gaben die Probanden eine Speichelprobe bei zeitnaher Blutabnahme ab, sodass die Qualität der Cortisolmessung im Speichel gegenüber einer Cortisolbestimmung im Serum erfasst werden konnte. Die Messung aus den gewonnenen Speichelproben erfolgte über den LIA, während das Cortisol im Serum über den halb automatisierten LIASON-Test gemessen wurde. Die erhobenen Messergebnisse korrelierten in einem Satz parallel abgenommener Speichel- und Blutproben gut miteinander. Das Cortisol im Speichel lag im Durchschnitt bei 2,2-2,6% des Cortisolwerts im Blut.

In KORA-Age I wurden an n=820 und in KORA-Age II an n=675 Probanden zur Erfassung des Cortisolprofils Speichelsalivetten verteilt: eine bestimmt für abends, möglichst spät vor dem Schlafengehen, eine für morgens unmittelbar nach dem Aufstehen und eine dritte für ca. 30 Minuten auf die erste Morgenmessung folgend. Die Rücklaufquote der Proben sowie die Dokumentation über Abnahmezeiten und eingehaltene Hinweise, nicht im Zeitraum der Abnahme zu rauchen, zu essen oder die Zähne zu putzen, war nahezu vollständig. In 97,5% bzw. 99,0% der Salivetten konnte Cortisol gemessen werden. Die Auswertung der Messergebnisse ergab ein für den Cortisolrhythmus charakteristisches Bild von einem abendlichen Messtief und einem Anstieg in der Morgenmessung, gefolgt von einem weiteren Anstieg in der zweiten Morgenmessung gemäß der Cortisol Awakening Response.

Für die nähere Betrachtung der Daten unter dem Gesichtspunkt möglicher Zusammenhänge von biometrischen Daten, Lebensgewohnheiten und Krankheiten wurden Probanden mit

offensichtlichen Messfehlern, Probanden unter Cortisonbehandlung sowie Probanden, die unmittelbar vor der Speichelabgabe geraucht haben, ausgenommen.

In der Auswertung der Messergebnisse ergaben sich für den abendlichen Cortisolwert keine geschlechtsspezifischen Unterschiede. Ebenso brachte die Betrachtung des BMI im Verhältnis zum Cortisol abends keinen eindeutigen Trend hervor.

Das Probandenalter hingegen erwies sich neben der Frailty als die deutlichste Einflussgröße auf das Cortisol. In KORA-Age I lag das Cortisol in der Abendmessung bei 11,0% und in KORA-Age II bei 14,3 % der Probanden über dem in der Cushing-Diagnostik laut Einsenderhandbuch des Labors anzuwendenden Cutoff-Werts von 1,5 ng/ml. Zusätzlich war sogar innerhalb der beiden Studien ein signifikanter Anstieg des abendlichen Cortisols in einem Altersschritt zwischen 65-70, 71-75, 76-80 und 81-90 in der ersten Studie und zwischen 68-72, 73-77, 78-82 und 83-92 in der zweiten Studie zu ermitteln. Selbst das Cortisol der Abendmessung aller Probanden, die an beiden Studien teilnahmen, war nach drei Jahren in der zweiten Studienphase signifikant höher verglichen mit den Messergebnissen aus der ersten Phase (Anstieg des Median von 0,6 ng/ml auf 0,8 ng/ml). Die Morgenmessungen hingegen blieben zwischen den Altersgruppen weitgehend auf gleichem Niveau. Zusammenfassend bedeutet dies, dass der Mensch im höheren Alter einen geringer schwankenden Cortisolspiegel im Tag-Nachtrhythmus zu haben scheint, da der Cortisolspiegel abends weniger stark abfällt als bei relativ jüngeren Leuten.

Bezogen auf Lebensgewohnheiten konnte man erkennen, dass Rauchen einen Einfluss auf den Cortisolspiegel hat. Allerdings blieb der Effekt für einen Beweis auf Signifikanzniveau zu gering. Alkoholkonsum und Stress vor der Probenabnahme erbrachten keinen eindeutigen Trend. Diabetiker zeigten in der zweiten Studienphase ein signifikant höheres Cortisol in der Abendmessung. Frailty, ein Maß für Gebrechlichkeit, erwies sich neben dem Alter als stark zusammenhängend mit dem Cortisolspiegel. Probanden, eingestuft als „frail“ oder als „prefrail“ hatten gegenüber anderen Studienteilnehmern ein signifikant höheres abendliches Cortisol als auch überhaupt eine signifikant geringere Tagesschwankungsbreite zwischen morgendlichen und abendlichen Messzeiten.

Zusammenfassend konnte anhand der Populationsstudie gezeigt werden, dass der Cortisolspiegel, orientierend am abendlich gemessenen Cortisol, im Alter ansteigt und innerhalb des Alterns ab 65 selbst weiter progressiv ansteigt. Sicherlich sollte dies zukünftig Berücksichtigung finden in der Begutachtung des Cortisols als Biomarker in der Analyse epidemiologischer Studien zum Thema gesunden Alterns als auch in der klinischen Diagnostik des Hypercortisolismus beim Cushing-Syndrom. Vor allem Letzteres hat klinische Bedeutung, da bisher im klinischen Alltag nur ein altersunabhängiger Referenzbereich gilt. Viele ältere

Menschen weisen Krankheiten (Hypertonie, Osteoporose, Diabetes, Adipositas etc.) auf, die auch an die Differentialdiagnose Cushing denken lassen, würden aber unter dem geltenden Referenzbereich zu schnell eine Cushing-Diagnose gestellt bekommen, da der durchschnittlich höhere Cortisolwert im hohen Alter noch keine Berücksichtigung in der Festlegung von Referenzbereichen gefunden hat. Unter Anwendung des herkömmlichen Cutoff-Werts würde die Zahl der Cushingpatienten unter alten Menschen unverhältnismäßig zur Seltenheit der Erkrankung – 0,6/Millionen Einwohner (Charlotte Steffensen, 2010) – ansteigen. Empfehlenswert wäre daher die Etablierung an das Alter angepasster Referenzbereiche. Nach der Pathophysiologie des im Alter sich verschiebenden Cortisolspiegels wäre weiter zu forschen. Des Weiteren scheint das Cortisol auf die Gebrechlichkeit im Allgemeinen im Alter zu wirken, sodass der Frage nachzugehen wäre, ob es nicht sinnvoll wäre, im Rahmen z. B. der hausärztlichen Betreuung von alten Menschen das Cortisolprofil als Frühindikator für das Abgleiten in Gebrechlichkeit heranzuziehen. Möglich wäre auch, bei der Betreuung von bereits gebrechlichen Menschen regelmäßig das Cortisolprofil zu messen, um die Wirksamkeit der Gebrechlichkeit gegensteuernder Maßnahmen zu kontrollieren.

6 Literaturverzeichnis

al'Absi, M., Arnett, D.K. (2000). Adrenocortical responses to psychological stress and risk for hypertension. *Biomed. Pharmacother.*, 54:234–244.

Arampatzis S1, Pasch A, Lippuner K, Mohaupt M. (2013). Primary male osteoporosis is associated with enhanced glucocorticoid availability. *Rheumatology (Oxford)*, 52(11):1983-91.

Badrick E, Kirschbaum C, Kumari M (2007). The relationship between smoking status and cortisol secretion. *J Clin Endocrinol Metab*, 92:819–824.

Badrick E, Bobak M, Britton A, Kirschbaum C, Marmot M, Kumari M (2008). The relationship between alcohol consumption and cortisol secretion in an aging cohort. *J Clin Endocrinol Metab. Mar*, 93(3):750-7.

Badrick E, Kirschbaum C, Kumari M (2007). The relationship between smoking status and cortisol secretion. *J Clin Endocrinol Metab*, 92:819–824.

Baes Cv, Martins CM, Tofoli SM, Juruena MF (2014). Early life Stress in depressive patients: HPA axis response to GR and MR agonist. *Front Psychiatry. Jan* 24;5:2.

Baid SK, Sinaii N, Wade M, Rubino D, Nieman LK (2007). Radioimmunoassay and tandem mass spectrometry measurement of bedtime salivary cortisol levels: a comparison of assays to establish hypercortisolism. *J Clin Endocrinol Metab.*, 92(8):3102-7.

Baron, J.A., Comi, R.J., Cryns, V., Brinck-Johnsen, T., Mercer, N.G. (1995). The effect of cigarette smoking on adrenal cortical hormones. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 272, 151–155.

Bech (2004). Measuring the dimensions of psychological general well-being by the WHO-5. *Qual Life Newsletter*, 32:15-16.

Bidlingmaier (2015). Einsenderhandbuch des Endokrinologischen Labors Medizinische Klinik und Poliklinik IV. http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Medizinische-Klinik-und-Poliklinik-IV/download/de/endolab/Routinelabor/Normwerte/Einsender-Handbuch_V7.pdf

Broglio, F., Benso, A., Castiglioni, C., Gottero, C., Prodam, F., Destefanis, S., Gauna, C., van der Lely, A.J., Deghenghi, R., Bo, M., Arvat, E., Ghigo, E. (2003). The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 88, 1537–1542.

Catargi B, Rigalleau V, Poussin A, Ronci-Chaix N, Bex V, Vergnot V, Gin H, Roger P, Tabarin A (2003). Occult Cushing's syndrome in type-2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 88:5808–5813 34.

Charlotte Steffensen, Bak AM, Rubeck KZ, Jørgensen JO (2010). Epidemiology of Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology*, 92 Suppl 1:1-5.

Chrousos GP (1995). The hypothalamic–pituitary–adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med*, 332:1351–62.

Cizza G, Nieman LK, Doppman JL, et al. (1996). Factitious Cushing syndrome. *J Clin Endocrinol*, 81:3573- 7.

Cronin C, Igoe D, Duffy MJ, Cunningham SK, McKenna TJ (1990). The overnight dexamethasone test is a worthwhile screening procedure. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 33:27–33.

de Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M. (1998). Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev*, 19(3):269–301.

de Leon, M.J., McRae, T., Tsai, J.R., George, A.E., Marcus, D.L., Freedman, M., Wolf, A.P., McEwen, B. (1988). Abnormal cortisol response in Alzheimer's disease linked to hippocampal atrophy. *Lancet* 2, 391–392.

Depp CA, Jeste DV (2006). Definitions and predictors of successful aging: a comprehensive review of larger quantitative studies. *Am J Geriatr Psychiatry*, 14(1):6-20.

Deuschle M, Gotthardt U, Schweiger U, et al. (1997). With aging in humans the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal system increases and its diurnal amplitude flattens. *Life Sci.*, 61(22):2239–46.

DiaSorin, Arbeitsanleitung (2011). LIASON Cortisol (REF 313261). <http://www.annardx.com/productos/images/productos/diagnostica/endocrinologia/liaison-cortisol-313261.pdf>

Duclos M, Gatta B, Corcuff JB, Rashedi M, Pehourcq F, Roger P (2001). Fat distribution in obese women is associated with subtle alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and sensitivity to glucocorticoids. *Clin Endocrinol*, 55: 447–454.

Elamin MB1, Murad MH, Mullan R, Erickson D, Harris K, Nadeem S, Ennis R, Erwin PJ, Montori VM. (2008). Accuracy of Diagnostic Tests for Cushing's Syndrome: A Systematic Review and Metaanalyses. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(5):1553-62.

Epel ES. (2009). Psychological and metabolic stress: a recipe for accelerated cellular aging? *Hormones (Athens)*. Jan-Mar, 8(1):7-22.

Ershler, W.B., Keller, E.T. (2000). Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. *Annu. Rev. Med.* 51, 245–270.

Extabe, J. & Vazquez, J.A. (1994). Morbidity and mortality in Cushing's disease: an epidemiological approach. *Clinical Endocrinology*, 40, 479–484.

Ferrando AA, Stuart CA, Sheffield-Moore M, et al. (1999). Inactivity amplifies the catabolic response of skeletal muscle to cortisol. *J Clin Endocrinol Metab*, 84:3515- 21.

Findling JW, Raff H, Aron DC (2004). The low-dose dexamethasone suppression test: a reevaluation in patients with Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 89:1222–1226.

Fried LP1, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, Seeman T, Tracy R, Kop WJ, Burke G, McBurnie MA (2001). Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. Mar, 56(3):M146-56.)

Fuxe K, Harfstrand A, Agnati LF, Yu ZY, Cintra A, Wikstrom AC, et al. (1985). Immunocytochemical studies on the localization of glucocorticoid receptor immunoreactive

nerve cells in the lower brain stem and spinal cord of the male rat using a monoclonal antibody against rat liver glucocorticoid receptor. *Neurosci Lett*, 60(1):1–6.

Gandhi K, Adhikari P, Basu A, Achappa B (2013). Association between a 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene polymorphism and metabolic syndrome in a South Indian population. *Metab Syndr Relat Disord.*, 11(6):397-402.

Gianoulakis C, Dai X, Brown T (2003). Effect of chronic alcohol consumption on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and pituitary beta-endorphin as a function of alcohol intake, age, and gender. *Alcohol Clin Exp Res.* Mar;27(3):410-23.

Giletta M, Calhoun CD, Hastings PD, Rudolph KD, Nock MK, Prinstein MJ (2014). Multi-Level Risk Factors for Suicidal Ideation Among at-Risk Adolescent Females: The Role of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Responses to Stress. *J Abnorm Child Psychol.* Jul;43(5):807-20.

Gomez-Sanchez E, Gomez-Sanchez CE (2014). The multifaceted mineralocorticoid receptor. *Compr Physiol*, 4(3):965-94.

Hudson, J.I., Hudson, M.S., Rothschild, A.J., Vignati, L., Schatzberg, A.F., Melby, J.C. (1984). Abnormal results of dexamethasone suppression tests in nondepressed patients with diabetes mellitus. *Arch. Gen. Psychiatry* 41, 1086–1089.

Hunger M, Thorand B, Schunk M et al (2011). Multimorbidity and health-related quality of life in the older population: results from the German KORA Age study. *Health Qual Life Outcomes.* Jul 18;9:53.

IBL Arbeitsanleitung, Version 2009. Cortisol LIA, Lumineszenzimmunoassay zur quantitativen in-vitro-Bestimmung von freiem Cortisol in humanem Saliva und Gesamt-Cortisol in verdünntem Serum.
[http:// www.ibl-international.com/media/catalog/product/f/i/file_203.pdf](http://www.ibl-international.com/media/catalog/product/f/i/file_203.pdf)

Jacobson, L., Sapolsky, R. (1991). The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary–adrenocortical axis. *Endocr. Rev.* 12, 118–134.

Johar H, Emeny RT, Bidlingmaier M, Reincke M, Thorand B, Peters A, Heier M, Ladwig KH (2014). Blunted diurnal cortisol pattern is associated with frailty: a cross-sectional study of 745 participants aged 65 to 90 years. *J Clin Endocrinol Metab*, 99(3): E464-8.

Juruena (2014). Early-life stress and HPA axis trigger recurrent adulthood depression. *Epilepsy Behav.* Sep;38:148-59.

Juruena MF, Cleare AJ, Pariante CM. (2004). The hypothalamic pituitary adrenal axis, glucocorticoid receptor function and relevance to depression. *Rev Bras Psiquiatr*; 26(3):189–201.

Katz JR, Taylor NF, Perry L, Yudkin JS, Coppack SW (2000). Increased response of cortisol and ACTH to corticotrophin releasing hormone in centrally obese men, but not in post-menopausal women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24 Suppl 2: S138–S139.

Keller-Wood ME, Dallman MF (1984). Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev*, 5:1–24.

- Keller-Wood M, Shinsako J, Dallman MF** (1984). Interaction between stimulus intensity and corticosteroid feedback in control of ACTH. *Am J Physiol*; 247: E489–94.
- Keenan DM, Roelfsema F, Carroll BJ, Iranmanesh A, Veldhuis JD** (2009). Sex defines the age dependence of endogenous ACTH-cortisol dose responsiveness. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 297(2): R515-23.
- Kennedy L, Atkinson AB, Johnston H, Sheridan B, Hadden DR** (1984). Serum cortisol concentrations during low dose dexamethasone suppression test to screen for Cushing's syndrome. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 289:1188–1191.
- Khan A, Ciraulo DA, Nelson WH, Becker JT, Nies A, Jaffe JH** (1984). Dexamethasone suppression test in recently detoxified alcoholics: clinical implications. *J Clin Psychopharmacol* 4:94–97.
- Kivlighan KT, Granger DA, Schwartz EB, Nelson V, Curran M, Shirtcliff EA** (2004). Quantifying blood leakage into the oral mucosa and its effects on the measurement of cortisol, dehydroepiandrosterone, and testosterone in saliva. *Horm Behav* 46:39–46.
- Kleine B, Rossmanith W** (2014). *Hormone und Hormonsystem – Lehrbuch der Endokrinologie*, 3. Auflage Springer, S. 234-237.
- Kubzansky LD, Sparrow D, Vokonas P, Kawachi I** (2001). Is the glass half empty or half full? A prospective study of optimism and coronary heart disease in the normative aging study. *Psychosom Med. Nov-Dec*;63(6):910-6.
- Kudielka, B.M., Schmidt-Reinwald, A.K., Hellhammer, D.H., Kirschbaum, C.** (1999). Psychological and endocrine responses to psychosocial stress and dexamethasone/corticotropinreleasing hormone in healthy postmenopausal women and young controls: the impact of age and a two-week estradiol treatment. *Neuroendocrinology* 70, 422–430.
- Lamberts, S.W., van den Beld, A.W., van der Lely, A.J.** (1997). The endocrinology of aging. *Science* 278, 419–424.
- Lilly MP, Gann DS.** The hypothalamic–pituitary–adrenal–immune axis. A critical assessment. *Arch Surg* 1992(127):1463–74.
- Martins CMS, Tofoli SMC, Baes CVW, Juruena MF** (2011). Analysis of the occurrence of early life stress in adult psychiatric patients: a systematic review. *Psychol Neurosci*, 4:219–27.
- Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Mullins JJ, Seckl JR, Flier JS** (2001). A transgenic model of visceral obesity and the Metabolic Syndrome. *Science*; 294:2166–2170.
- Mountjoy KG** (1994). The human melanocyte stimulating hormone receptor has evolved to become b super-sensitive Q to melanocortin peptides. *Mol Cell Endocrinol*, 102:R7-R11.
- Minetto MA, Lanfranco F, Botter A, Motta G, Mengozzi G, Giordano R, Picu A, Ghigo E, Arvat E.** (2011). Do muscle fiber conduction slowing and decreased levels of circulating muscle proteins represent sensitive markers of steroid myopathy? A pilot study in Cushing's disease. *Eur J Endocrinol.*; 164(6):985-93.
- Morton NM, Seckl JR** (2008). 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and obesity. *Front Horm Res.*, 36:146-64.

Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A (2008). Differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. The diagnosis and J Clin Endocrinol Metab. Endocr Rev. Oct;19(5):647-72.

Nieman L.K., Biller BM, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, Montori VM (2008). The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab, 93(5):1526-40.

Nieman LK, Ilias I (2005). Evaluation and treatment of Cushing's syndrome. Am J Med. 118(12):1340-6.

O'Brien, J.T., Ames, D., Schweitzer, I., Colman, P., Desmond, P., Tress, B. (1996). Clinical and magnetic resonance imaging correlates of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in depression and Alzheimer's disease. Br. J. Psychiatry 168, 679–687.

Ostir GV, Markides KS, Peek MK, Goodwin JS (2001). The association between emotional well-being and the incidence of stroke in older adults. Psychosom Med. 63(2):210-5.

Otte C, Hart S, Neylan TC, Marmar CR, Yaffe K, Mohr DC (2005). A meta-analysis of cortisol response to challenge in human aging: importance of gender. Psychoneuroendocrinology. 30(1):80-91.

Papanicolaou DA, Mullen N, Kyrou I, Nieman LK (2002). Nighttime salivary cortisol: a useful test for the diagnosis of Cushing's syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 87(10):4515-21

Pedersen SB, Jonler M, Richelsen B (1994): Characterization of regional and gender differences in glucocorticoid receptors and lipoprotein lipase activity in human adipose tissue. J Clin Endocrinol Metab, 78: 1354–1359.

Peters A, Döring A, Ladwig KH, Meisinger C, Linkohr B, Autenrieth C, et al. (2011). Multimorbidity and successful aging: the population-based KORA-Age study. Z Gerontol Geriatr, 44 Suppl 2:41-54.

Perna L, Mielck A, Lacruz ME et al. (2012). Socioeconomic position, resilience, and health behaviour among elderly people. Int J Public Health. Apr;57(2):341-9

Pickworth, W.B., Fant, R.V. (1998). Endocrine effects of nicotine administration, tobacco and other drug withdrawal in humans. Psychoneuroendocrinology 23, 131–141.

Plotsky PM, Owerens MJ, Nemeroff CB (1998). Psychoneuroendocrinology of depression: hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Psychiatr Clin North; 21: 293–307.

Pressman SD, Cohen S. (2005). Does positive affect influence health? Psychol Bull, 131(6):925-71.

Raff H, Findling JW (2003). A physiologic approach to diagnosis of the Cushing syndrome. Ann Intern Med. 138(12):980-91.

Raff H, Raff JL, Findling JW (1998). Late-night salivary cortisol as a screening test for Cushing's syndrome. J Clin Endocrinol Metab, 83:2681–2686.

- Reimondo G, Pia A, Allasino B, Tassone F, Bovio S, Borretta G, Angeli A, Terzolo M** (2007). Screening of Cushing's syndrome in adult patients with newly diagnosed diabetes mellitus. *Clin Endocrinol Oxf* 67:225–229.
- Rasmuson, S., Nasman, B., Eriksson, S., Carlstrom, K., Olsson, T.** (1998). Adrenal responsivity in normal aging and mild to moderate Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry* 43, 401–407.
- Reynolds, R.M., Walker, B.R., Syddall, H.E., Andrew, R., Wood, P.J., Whorwood, C.B., Phillips, D.I.** (2001). Altered control of cortisol secretion in adult men with low birth weight and cardiovascular risk factors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 86, 245–250.
- Rubin, R.T., Rhodes, M.E., O'Toole, S., Czambel, R.K.** (2002). Sexual diergism of hypothalamo-pituitary–adrenal cortical responses to low-dose phsyotigmine in elderly vs. young women and men. *Neuropsychopharmacology* 26, 672–681.
- Seralini GE, Bérubé D, Gagné R, Hammond GL.** (1990). The human corticosteroid binding globulin gene is located on chromosome 14q31–q32.1 near two other serine protease inhibitor genes. *Hum Genet.*,86(1):73-5.
- Shibli-Rahhal A, Van Beek M, Schlechte JA** (2006). Cushing's syndrome. *Clin Dermatol.* 24(4):260-5.
- Smith RE, Maguire JA, Stein-Oakley AN, Sasano H, Takahashi K, Fukushima K, Krozowski ZS** (1996). Localization of 11-hydroxysteroid dehydrogenase type II in human epithelial tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3244–3248.
- Thayer JF, Hall M, Sollers JJ 3rd, Fischer JE** (2006). Alcohol use, urinary cortisol, and heart rate variability in apparently healthy men: Evidence for impaired inhibitory control of the HPA axis in heavy drinkers. *Int J Psychophysiol.*, Mar;59(3):244-50.
- Thomas, L.** (2000). Ausgewählte Techniken der Laboratoriumsmedizin, heterogene Immunoassays. *Labor und Diagnose* 5. erweiterte Auflage, 1470-1472.
- Trahan AP, Ahemd AR** (1989). Corticosteroids: a review with emphasis on complications of prolonged systemic therapy. *Ann Allergy*; 62: 375-90.
- Travison TG, O'Donnell AB, Araujo AB, Matsumoto AM, McKinlay JB** (2007). Cortisol levels and measures of body composition in middle-aged and older men. *Clin Endocrinol* 67: 71–77.
- Ur E, Grossman A.** (1992). Corticotropin-releasing hormone in health and disease: an update. *Acta Endocrinol (Copenh)*, (127):193–9.
- Vaillant GE, Mukamal K** (2001). Successful aging. *Am J Psychiatry*, 158(6):839-47.
- Viau, V., Meaney, M.,** (1996). The inhibitory effect of testosterone on hypothalamic-pituitary–adrenal responses to stress is mediated by the medial preoptic area. *J. Neurosci.* 16, 1866–1876.
- Veldhuis J. D., MD, Animesh Sharma, MBBS, and Ferdinand Roelfsema, MD.** (2013). Age-Dependent and Gender-Dependent Regulation of Hypothalamic-Adrenocorticotrophic-Adrenal Axis, *PhD Endocrinol Metab Clin North*; 42(2): 201–225.

Westermann J, Demir A, Herbst V. (2004). Determination of cortisol in saliva and serum by a luminescence-enhanced enzyme immunoassay. *Clin Lab.* 50(1-2):11-24.

Wolf, O.T., Convit, A., de Leon, M.J., Caraos, C., Qadri, S.F., (2002). Basal hypothalamo-pituitary–adrenal axis activity and corticotropin feedback in young and older men: relationships to magnetic resonance imaging-derived hippocampus and cingulate gyrus volumes. *Neuroendocrinology* 75, 241–249.

Zilio M1, Barbot M, Ceccato F, Camozzi V, Bilora F, Casonato A, Frigo AC, Albiger N, Daidone V, Mazzai L, Mantero F, Scaroni C. (2014). Diagnosis and complications of Cushing's disease: gender-related differences. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 80(3):403-10.

7 Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme

ACTH	Adrencocortikotropes Hormon
AVP	Arginin-Vasopressin
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BMI	Body-Mass-Index
CBG	Cortisol Binding Globulin
CRH	Corticotropin Releasing Hormone
CFR	Corticotropin Releasing Factor
DHEAS	Dehydroepiandrosteron
LIA	Lumineszenz Immunoassay
HPAA	Hypothalamisch-hypophysäre-adrenale Achse
IGF	Insulin-like Growth Factor
KORA	Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg
QoL	Quality of Life
RIA	Radioimmunoassay
SD	Standard Deviation
UFC	Urinary Free Cortisol

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Bildung der Kortikoide (Kleine et Rossmanith, 2014)

Abbildung 2. Regelkreis der Cortisolsekretion (Jurueña et al., 2004)

Abbildung 3. Tagesrhythmus der Cortisolkonzentration im Blut (Herold, 2012)

Abbildung 4. Übersicht über Symptome und Krankheitsmerkmale des Cushing-Syndroms (Nieman et al., 2008)

Abbildung 5. Algorithmus der Cushing-Diagnostik (Nieman and Ilias, 2005)

Abbildung 6a. Übersicht über die leitenden Wissenschaftler der KORA-Age Teilprojekte (Peters et al., 2011)

Abbildung 6b. Untersuchungsablauf in der KORA-Age Studie (Peters et al., 2011)

Abbildung 6c. Überblick über die KORA-Age Studie in der ersten und zweiten Förderphase (Peters et al., 2011)

Abbildung 6d. Instrumente des Telefoninterviews (Peters et al., 2011)

Abbildung 6e. Instrumente des Untersuchungsinterviews (Peters et al., 2011)

Abbildung 6f. Instrumente der Untersuchung (Peters et al., 2011)

Abbildung 7a. Bestandteile einer Salivette

Abbildung 7b. Salivetten der ambulanten Speichelgewinnung

Abbildung 7c. Versandbox der ambulanten Speichelproben

Abbildung 8. Korrelation der Cortisolbestimmung im Serum zu der im Speichel

Abbildung 9a. Häufigkeitsverteilung der abendlichen Cortisolmessung in KORA-Age I

Abbildung 9b. Häufigkeitsverteilung der abendlichen Cortisolmessung in KORA-Age II

Abbildung 10a. Häufigkeitsverteilung der abendlichen Cortisolmessung in KORA-Age I nach Anwendung der Ausschlusskriterien

Abbildung 10b. Häufigkeitsverteilung der abendlichen Cortisolmessung in KORA-Age II nach Anwendung der Ausschlusskriterien

Abbildung 11a. Tagesprofil der Cortisolwerte abends und morgens in KORA-Age I

Abbildung 11b. Tagesprofil der Cortisolwerte abends und morgens in KORA-Age II

Abbildung 12. Longitudinaler Vergleich der Cortisolabendwerte an beiden Studienabschnitten teilnehmender Probanden

Abbildung 13a. Entwicklung in KORA-Age II von Probanden, deren Cortisol abends in KORA-Age I über dem Cushing-Cutoff (1,5ng/ml) lag

Abbildung 13b. Longitudinaler Vergleich der Probanden mit einem Cortisolanstieg in KORA-Age II über dem Cutoff

Abbildung 14a. Einfluss unterschiedlicher Abnahmezeitpunkte auf das abendliche Cortisol in KORA-Age I

Abbildung 14b. Einfluss unterschiedlicher Abnahmezeitpunkte auf das abendliche Cortisol in KORA-Age II

Abbildung 15a. BMI und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Abbildung 15b. BMI und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Abbildung 16a. Abendliches Cortisol unterschieden nach Altersgruppen in KORA-Age I

Abbildung 16b. Abendliches Cortisol unterschieden nach Altersgruppen in KORA-Age II

Abbildung 17a. Abendliches Cortisol und Rauchen in KORA-Age I

Abbildung 17b. Abendliches Cortisol und Rauchen in KORA-Age II

Abbildung 18a. Abendliches Cortisol und Alkoholkonsum in KORA-Age I

Abbildung 18b. Abendliches Cortisol und Alkoholkonsum in KORA-Age II

Abbildung 19a. Zusammenhang belastender Ereignisse und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Abbildung 19b. Zusammenhang belastender Ereignisse und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Abbildung 20a. Zusammenhang von Diabetes und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Abbildung 20b. Zusammenhang von Diabetes und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Abbildung 21a: Zusammenhang einer Karzinomkrankung und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Abbildung 21b. Zusammenhang einer Karzinomkrankung und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Abbildung 22a. Frailty und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Abbildung 22b. Frailty und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Abbildung 23a. Frailty und Cortisol Morgens-Abends-Ratio in KORA-Age I

Abbildung 23b. Frailty und Cortisol Morgens-Abends-Ratio in KORA-Age II

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Zeitintervalle der abendlich abgenommenen Proben

Tabelle 2a. Altersstufen in KORA-Age I

Tabelle 2b. Altersstufen in KORA-Age II

Tabelle 3. Lineare Regressionsanalyse – Cortisol im Serum zu Cortisol im Speichel

Tabelle 4a. Anzahl der Messergebnisse aus 808 zurückerhaltenen Testkits in KORA-Age I

Tabelle 4b. Anzahl der Messergebnisse aus 675 zurückerhaltenen Testkits in KORA-Age II

Tabelle 5a. Auswertung der Begleitscheine aus KORA-Age I

Tabelle 5b. Protokollierte Zeitangaben für Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Tabelle 5c. Protokollierte Zeitangaben für Cortisol „Morgens 1“ in KORA-Age I

Tabelle 5d. Protokollierte Zeitangaben für Cortisol „Morgens 2“ in KORA-Age I

Tabelle 6a. Auswertung der Begleitscheine aus KORA-Age II

Tabelle 6b. Protokollierte Zeitangaben für Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Tabelle 6c. Protokollierte Zeitangaben für Cortisol „Morgens 1“ in KORA-Age II

Tabelle 6d. Protokollierte Zeitangaben für Cortisol „Morgens 2“ in KORA-Age II

Tabelle 7. Beschreibung des Probandenkollektivs in KORA-Age I & II

Tabelle 8. Probanden mit Cortisonbehandlung

Tabelle 9. Tagesprofil der Cortisolmessung aus den ambulanten Speichelproben

Tabelle 10. Vergleich der Cortisolabendwerte aus KORA-Age I & II

Tabelle 11a. Nach Abnahmezeitpunkten unterschiedenes Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Tabelle 11b. Nach Abnahmezeitpunkten unterschiedenes Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Tabelle 12. Einfluss des Geschlechts auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & I

Tabelle 13a. Einfluss des BMI auf das Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Tabelle 13b. Einfluss des BMI auf das Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Tabelle 14a. Zusammenhang von Altersgruppen und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Tabelle 14b. Zusammenhang von Altersgruppen und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Tabelle 15a. Zusammenhang von Alkoholkonsum und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I

Tabelle 15b. Zusammenhang von Alkoholkonsum und Cortisol „Abends“ in KORA-Age II

Tabelle 16. Zusammenhang von Stress und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

Tabelle 17. Zusammenhang belastender Ereignisse und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

Tabelle 18. Zusammenhang von Diabetes und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

Tabelle 19. Zusammenhang von Karzinom und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

Tabelle 20. Zusammenhang von Frailty und Cortisol „Abends“ in KORA-Age I & II

Tabelle 21. Zusammenhang von Frailty und der Cortisol „Abends“/„Morgens“-Ratio in KORA-Age I & II

Tabelle 22a. Multivariate Analyse der Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age I – Modell der Testeffekte

*Tabelle 22b. Multivariate Analyse der signifikanten Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age I
- Parameterschätzungen*

Tabelle 23a. Multivariate Analyse der Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age II – Modell der Testeffekte

*Tabelle 23b. Multivariate Analyse der signifikanten Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age II
- Parameterschätzungen*

Tabelle 24a. Multivariate Analyse der Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age II – Modell der Testeffekte – nach Ausschluss eines weiteren Probanden

Tabelle 24b. Multivariate Analyse der Einflussfaktoren auf Cortisol „Abends“ in KORA-Age II – Parameter-schätzungen – nach Ausschluss eines weiteren Probanden

10 Anhang

Anhang 1: Begleitschein der ambulanten Speichelgewinnung

Datum der Abgabe

Tag Monat Jahr

Uhrzeit der Probe „ABENDS“ (später Abend) :

Stunde Minute

Innerhalb einer halben Stunde vor dem Sammeln habe ich

nichts gegessen oder getrunken: Stimmt ☐ Stimmt nicht ☐

nicht geraucht: Stimmt ☐ Stimmt nicht ☐

nicht die Zähne geputzt: Stimmt ☐ Stimmt nicht ☐

Innerhalb der Stunde vor Abnahme habe ich (Zeit)druck und Anspannung („Stress“) verspürt:

JA ☐ NEIN ☐

Uhrzeit der Probe „MORGENS 1“(sofort nach Aufwachen) :

Stunde Minute

Probe wurde vor dem Aufstehen entnommen. JA ☐ NEIN ☐

Ich habe in der Nacht schlecht geschlafen. JA ☐ NEIN ☐

Ich bin heute Morgen viel zu früh wach geworden. JA ☐ NEIN ☐

Uhrzeit der Probe „Morgens 2“ (genau 30 Minuten nach der Probe „Morgens1“)

:

Stunde Minute

Innerhalb einer halben Stunde vor dem Sammeln habe ich

nichts gegessen oder getrunken: Stimmt ☐ Stimmt nicht ☐

nicht geraucht: Stimmt ☐ Stimmt nicht ☐

nicht die Zähne geputzt: Stimmt ☐ Stimmt nicht ☐

Dieses Protokoll bitte vollständig ausgefüllt zusammen mit den Röhrchen zurück-schicken.

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit!

Anhang 2: Projektvereinbarung zur Bereitstellung von Daten aus der KORA-Age Studie

Projektvereinbarung zur Bereitstellung von Daten

K-Nr.
Antragsdatum

Antragsteller	Herr / Frau		
Titel, Vorname, Name	Dr. Martin Bidlingmaier	Telefon	+49 89 5160 2277
Organisation, Institut	Medizinische Klinik und Poliklinik IV, Klinikum der Universität München	Fax	+49 89 5160 4457
Straße	Ziemssenstr. 1	Email	martin.bidlingmaier@med.uni-muenchen.de
PLZ - Ort	80336 – München		
Land	Deutschland		
Projekttitel	Bestimmung altersentsprechender Referenzbereiche für Mitternachtscortisol im Speichel anhand der Kohortenstudie KORA-AGE 1 & 2		
Liegt eine frühere Projektvereinbarung zum selben Thema vor?	☒ Nein ☐ Ja, frühere K-Nr.		
Wissenschaftlicher Hintergrund	In der Cushing-Diagnostik findet neben dem 24 h Sammelurin Cortisoltest und dem Dexamethasonhemmtest der Mitternachtscortisoltest im Speichel routinemäßig Anwendung. Bis dato wird dabei ein einheitlicher Referenzbereich für alle Altersgruppen (z.B. nach Guidelines der amerikanischen Fachgesellschaft: 1,8 ng/ml) verwendet. Die immer wieder in Studien beschriebene Beobachtung, dass sich die zirkadiane Rhythmik des Cortisols im höheren Alter zu verändern scheint und damit höhere Cortisolwerte um Mitternacht in Populationen ohne Vorliegen eines Morbus Cushing keine Seltenheit sind, findet darin bisher keine Berücksichtigung. Die Folge für den Klinikalltag sind unnötige weitere diagnostische Schritte, die mit altersbezogenen Referenzbereichen vermieden werden könnten.		
Wissenschaftliche Fragestellung und Projektziel(e) (bitte präzise formulieren)	1. Beweis gleicher Validität der Messverfahren Cortisol im Speichel gegenüber Cortisol im Blut 2. Um einen Referenzbereich des Mitternachtscortisols, der in Relation zum Alter steht, zu ermitteln, müssen mögliche Confounder berücksichtigt werden, die ihrerseits hohe Cortisolwerte begründen. Daher werden für die statistische Arbeit Daten der Studienteilnehmer an KORA-AGE über Lebensweise, Krankheiten und Medikamente etc. benötigt. 3. Bestimmung altersentsprechender Referenzbereiche für Mitternachtscortisol im Speichel		
Studientyp	Querschnittstudie Längsschnittstudie (Kora Age I zu Kora Age II)		

HelmholtzZentrum münchen
Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt

Helmholtz Zentrum München
Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH)
Ingolstädter Landstrasse 1, 85764 Neuherberg
E-Mail: kora-pv@helmholtz-muenchen.de Fax ++49 (0)89 3187-3380
Aufsichtsratsvorsitzende: MinDir'in Bärbel Brumme-Bothe
Geschäftsführer: Prof. Dr. Günther Wess und Dr. Nikolaus Blum
Registergericht: Amtsgericht München HRB 6466



Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.

K-Nr. Fehler!

Antragsdatum 06.06.2013

Publikationsziel(e)	Titel age adjusted reference range for late-night cortisol on the basis of the KORA-AGE- study	Zeitschrift JCE&M EJE Clinical Chemistry Institut(e) MKI (LMU)
Autorenschaft	Name(n) Laurenz Pflüger Dr. Bidlingmaier Prof. Martin Reincke (MKI, LMU)	
Erstautor Letztautor Weitere Autoren		
Andere beteiligte Wissenschaftler ohne Koautorenschaft	Helmholtz Zentrum: Prof. Dr. Karl Heinz Ladwig, Dr. Rebecca Emery	
Hauptverantwortlicher KORA Wissenschaftler	Prof. Dr. Karl Heinz Ladwig	
Zitierweise	Deutschsprachige Publikation: Entweder: KORA als Teil des Titels, z.B. „Ergebnisse aus der KORA S4 Studie / ... aus dem KORA Augsburg Herzinfarkt Register“ oder: "KORA-Studiengruppe" am Ende der Fußnote "Die KORA-Studiengruppe besteht aus A. Peters (Sprecherin), J. Heinrich, R. Holle, R. Leidl, C. Meisinger, K. Strauch und Mitarbeitern, die für die Planung und Durchführung der KORA-Studien verantwortlich sind." Ins Acknowledgment: Die Forschungsplattform KORA (Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg) wurde initiiert und finanziert vom Helmholtz Zentrum München – Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt, das vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) sowie vom Freistaat Bayern gefördert wird. Darüber hinaus wurde die KORA-Forschung im Rahmen des Münchner Zentrums für Gesundheitswissenschaften (MC Health) der Ludwig-Maximilians-Universität als Teil von LMUinnovativ unterstützt.	
	Englischsprachige Publikation: Entweder: KORA als Teil des Titels, z.B. "results from the KORA S4 study (... from the KORA Augsburg myocardial infarction registry)" oder: "KORA Study-Group" am Ende der Autorenliste und Fußnote "The KORA-Study Group consists of A. Peters (speaker), J. Heinrich, R. Holle, R. Leidl, C. Meisinger, K. Strauch, and their co-workers, who are responsible for the design and conduct of the KORA studies." Ins Acknowledgment: The KORA research platform (KORA, Cooperative Research in the Region of Augsburg) was initiated and financed by the Helmholtz Zentrum München - German Research Center for Environmental Health, which is funded by the German Federal Ministry of Education and	

HelmholtzZentrum münchen
 Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt

Helmholtz Zentrum München
 Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH)
 Ingolstädter Landstrasse 1, 85764 Neuherberg
 E-Mail: kora-pv@helmholtz-muenchen.de Fax ++49 (0)89 3187-3380
 Aufsichtsratsvorsitzende: MinDir'in Bärbel Brumme-Bothe
 Geschäftsführer: Prof. Dr. Günther Wess und Dr. Nikolaus Blum
 Registergericht: Amtsgericht München HRB 6466



Research and by the State of Bavaria. Furthermore, KORA research was supported within the Munich Center of Health Sciences (MC Health), Ludwig-Maximilians-Universität, as part of LMUinnovativ.

K-Nr.
Antragsdatum

Empfänger	☒ wie Antragsteller	
	Herr/Frau	Telefon
Titel Vorname Name		Fax
Organisation, Institut		Email
Straße		
PLZ - Ort	–	
Land		
Dauer der Nutzungsberechtigung	von Juni 2013 bis Juni 2015	
Daten aus Studie(n)	☐ S1 ☐ S2 ☐ S3 ☐ S4 ☐ sonstige: ☐ F3 ☐ F4 ☐ GEFU ☒ AGE ☒ AGE2	
Datenformat	☒ sas ☒ .csv* ☒ .xls ☒ .sav ☐ sonstige: * semikolon-separiert	
Beschreibung der Stichprobe (Probandenauswahl)	alle Probanden, für die Speichelproben vorliegen	
Beschreibung des Datensatzes	☒ Liste der Variablennamen als Anhang beigefügt Bitte benutzen Sie die Variablennamen unserer Internetseite http://www.helmholtz-muenchen.de	
Statistischer Auswertansatz	Berechnung von altersentsprechenden Referenzbereichen, multiple Korrelationsanalysen	

HelmholtzZentrum münchen
Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt

Helmholtz Zentrum München
Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH)
Ingolstädter Landstrasse 1, 85764 Neuherberg
E-Mail: kora-pv@helmholtz-muenchen.de Fax: ++49 (0)89 3187-3380
Aufsichtsratsvorsitzende: MinDir'in Bärbel Brumme-Bothe
Geschäftsführer: Prof. Dr. Günther Wess und Dr. Nikolaus Blum
Registergericht: Amtsgericht München HRB 6466



Verantwortliche(r)
statistische Auswertung

Institut / Organisation

MKI (LMU)

Herr / Frau

Herr

Titel, Vorname, Name

Dr. Martin Bidlingmaier

Bemerkung(en)

K-Nr.
Antragsdatum

Mit Abschluss der Projektvereinbarung zur Bereitstellung von Daten vereinbaren die Beteiligten folgende allgemeine Bedingungen:

- 1) Die zentrale Datenhaltung aller KORA-Studien erfolgt im Helmholtz Zentrum München durch das KORA-Datenzentrum, das als Datentreuhänder fungiert. Alle gewerblichen Schutzrechte und sonstige Rechte an den Daten des Auswertungsdatensatzes verbleiben bei den jeweiligen Dateneignern gemäß der gültigen KORA-Kooperationsverträge.
- 2) Der Auswertungsdatensatz bezieht sich auf einen definierten Stand der KORA-Datenbank. Da nachträgliche Datenkorrekturen in der Datenbank nicht auszuschließen sind, wird der Auswertungsdatensatz gesichert und im Helmholtz Zentrum München für mindestens 10 Jahre archiviert.
- 3) Der Auswertungsdatensatz wird gemäß den in der Projektvereinbarung getroffenen Vorgaben zusammengestellt. Zur Deckung der hierdurch entstehenden Kosten kann KORA eine Aufwandsentschädigung in Rechnung stellen. Da die Kosten je nach Anforderung variieren können, wird die Höhe der Kostenbeteiligung individuell nach einem Informationsgespräch mit der KORA Koordinationsstelle festgelegt.
- 4) Die Daten sind pseudonymisiert, dem KORA-Datenzentrum liegen keine personenidentifizierenden Angaben vor. Der Antragsteller verpflichtet sich, keinen Versuch der Deanonymisierung zu unternehmen und das Helmholtz Zentrum München unverzüglich zu unterrichten, falls eine Deanonymisierung dennoch möglich ist oder möglich sein könnte.
- 5) Der Antragsteller verpflichtet sich, die ihm übergebenen Daten ausschließlich für die im Projektantrag spezifizierte Fragestellung und Publikation zu verwenden und sie auch nicht an Dritte weiterzugeben. Eine Nutzung zu kommerziellen Zwecken ist ausgeschlossen. Falls der KORA-Datensatz für eine weitere Fragestellung bzw. Publikation verwendet werden soll, so ist zwingend erforderlich, eine neue Projektvereinbarung einzureichen.
- 6) Das Helmholtz Zentrum München gewährt dem Antragsteller über die genannte Laufzeit ein exklusives Nutzungsrecht an den Daten für die auf Seite 1 angegebene Forschungsfrage. Die Laufzeit beträgt in der Regel ein Jahr und kann maximal zweimal auf Antrag um ein Jahr verlängert werden.
- 7) Der Antragsteller verpflichtet sich, KORA über von ihm bemerkte potentielle Fehler, welche in den übermittelten Daten erhalten sind, zu informieren.
- 8) Im Sinne einer Good Scientific Practice müssen Datensätze und Auswertungsprogramme nach Publikation der Ergebnisse für einen längeren Zeitraum (mindestens 10 Jahre gemäß „DFG-Empfehlungen zu guter wissenschaftlicher Praxis“, 1998) archiviert werden. Zu diesem Zwecke verpflichten sich die Datenempfänger, die Daten und Auswertungsprogramme, die zur Erstellung der Publikation verwendet wurden, entsprechend zu archivieren. Eine Kopie des Programmcodes ist auf Anfrage an KORA zu schicken.
- 9) Der jeweilige Erstautor verpflichtet sich, bei allen Veröffentlichungen die in der Projektvereinbarung beschriebene Zitierweise zu verwenden. Bei Rückfragen kann er sich an den auf Seite 2 genannten hauptverantwortlichen KORA-Wissenschaftler wenden. Das Manuskript muss vor der Einreichung vom hauptverantwortlichen KORA-Wissenschaftler freigegeben werden.
- 10) Aus dem Auswertungsdatensatz entstandene Manuskripte sind dem KORA-Vorstand auf Anfrage vor dem Einreichen vorzulegen. Des Weiteren ist auf Anforderung nach Veröffentlichung ein Sonderdruck als pdf-File mit Angabe der K-Nummer an KORA zu schicken.
- 11) Die Beteiligten gewährleisten bei der Durchführung dieser Vereinbarung die Anwendung wissenschaftlicher Sorgfalt sowie die Einhaltung der anerkannten Regeln von Wissenschaft und Technik. Sie stehen einander nicht für die Richtigkeit oder Eignung der im Rahmen dieser Vereinbarung ermittelten Daten oder Forschungsergebnisse für einen bestimmten Zweck ein. Ebenso haften sie nicht dafür, dass die gewährten Nutzungsrechte frei von Rechten Dritter ausgeübt werden können. Für Schäden, die bei der Durchführung dieser Vereinbarung verursacht werden, haften sie nur für den Fall, dass sie den Schaden vorsätzlich oder grob fahrlässig verursacht haben. Die Haftung für mittelbare Schäden und Folgeschäden ist ausgeschlossen.



Increased late night salivary cortisol in the elderly: Cross-sectional and longitudinal observations in a population based study

Laurenz Pflüger¹, Hamimatunnisa Johar², Rebecca T. Emeny², Margit Heier², Martin Reincke¹, Karl-Heinz Ladwig^{2,3}, Martin Bidlingmaier¹

¹ Klinikum der Universität München, Medizinische Klinik und Poliklinik IV, Munich, Germany; ² Helmholtz Zentrum Muenchen, German Research Center for Environmental Health, Institute of Epidemiology II, Neuherberg, Germany; ³ Department of Psychosomatic Medicine and Psychotherapy, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Munich, Germany; contact: Laurenz.Pflueger@med.uni-muenchen.de

Introduction

The aged are the fastest growing segment in our population. Often, but not always ageing is associated with worsened health. One hypothesis is that a dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) could be involved. However, data on "normal" cortisol in the elderly are missing, making the diagnosis of hypercortisolism (M. Cushing) in the aged a challenge. To assess the potential influence of age on the diurnal cortisol profile we investigated salivary cortisol at late night (LNSC) and after awakening (Morning) in subjects ≥ 65 years in a cross sectional population based study. The results were also compared to the cut-off value for LNSC provided by the manufacturer of ELISA (1.5 ng/mL). Potential confounders like sex, BMI, smoking, alcohol, stress, sleeping disorder, diabetes and frailty were also taken into account.

Materials and Methods

Samples were collected in a prospective population based study (KORA Age-I, 2008-2011, n=820) and in a time-lag of three years in a follow up study KORA Age-II (2011-2014, n=690). The participants were randomly recruited from the population in Augsburg stratified for sex and age (65 to 92 years). 485 participants took part in both studies which allows a longitudinal survey, while the remaining 205 participants in KA-II were newly recruited. In the study center each participant underwent medical examination (blood pressure measurement, EKG, blood and saliva sampling, grip force etc.), answered questionnaires (illness, daily activity, alcohol, smoking, depression etc.) and received Salivettes (Sarstedt, Numbrecht, Germany) for saliva sampling at home. The last ones were used for analysis of diurnal cortisol profile. The participants were asked to send the samples together with a protocol (exact sampling time, sleeping disorder, order not to eat, brush teeth before sampling) to the Endocrine Lab AG Bidlingmaier in Munich. Cortisol was measured by ELISA (IBL, Hamburg, Germany). Subjects with glucocorticoid treatment, smoking near sampling time-point or incorrect sampling times were excluded from the data analysis.

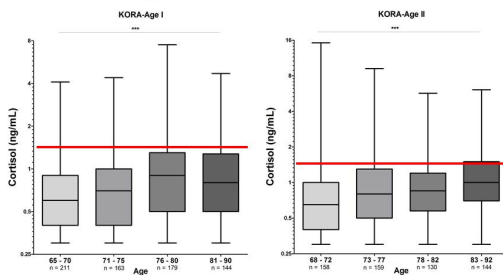
Results

Study subjects and cortisol results

	KORA-Age I	KORA-Age II
Number of subjects	820	690
Mean age	75	77
Return rate of saliva sampling kits	LNSC: 792 (of 820) Morning: 788 (of 820)	LNSC: 670 (of 690) Morning: 662 (of 690)
Above cut-off: 1.5 ng/mL (Cushing Screening)	N = 77 of 683 (11.0 %)	N = 87 of 579 (14.3 %)
Different age groups		
	Age	Median cortisol in ng/mL
	65-70	0.6
	71-75	0.7
	76-80	0.9
	81-90	0.8
	Outliers (> 1.5 ng/mL)	8.0%
	68-72	0.7
	73-77	0.8
	78-82	0.8
	83-92	1.0
	Outliers (> 1.5 ng/mL)	7.0%
		13.8%
		21.5%

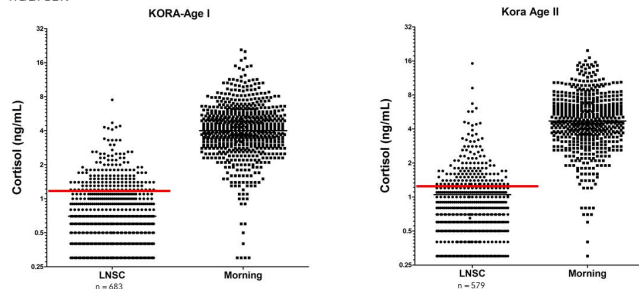
LNSC in different age groups

In each cohort, median LSCN was significantly higher ($p < 0.001$; Kruskal-Wallis test) in the oldest group (81-90 years in KORA-Age-I (n=144), 83-92 years in KORA-Age II (n=144)) as compared to the youngest subjects (65-70 years (n= 211) and 68-72 years (n=158)). Besides the percentage of outliers (above cut-off: 1.5 ng/mL) raised from 8.0% (65-70 y) to 16.7% in KA-I ($p < 0.05$; Chi-Quadrat) and from 7.0% (68-72 y) to 21.5% (83-92 y) in KORA-Age II ($p < 0.01$). This tendency of higher cortisol values in older age groups was not observed in morning measurement.



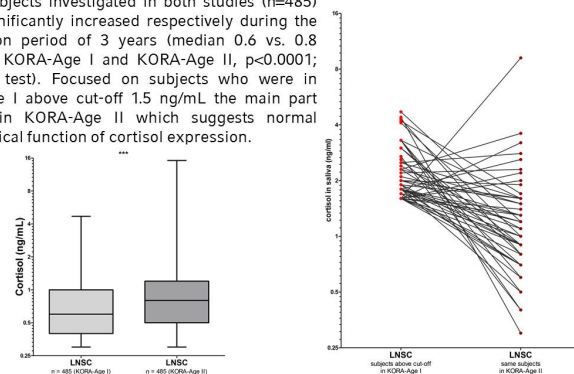
Cortisol diurnal profile

The diurnal cortisol profile reflects the physiological circadian rhythm of daily cortisol expression with lowest values in LNSC and higher values in the morning. 11.0% (KORA-Age I) and 14.3% (KORA-Age II) of the subjects had LNSC concentrations above the cut-off routinely used in our laboratory to screen for Cushing's syndrome (1.5 ng/mL; red line in the figures).



Longitudinal comparison KORA-Age I & II

Within subjects investigated in both studies (n=485) LSCN significantly increased respectively during the observation period of 3 years (median 0.6 vs. 0.8 ng/mL in KORA-Age I and KORA-Age II, $p < 0.0001$; Wilcoxon test). Focused on subjects who were in KORA-Age I above cut-off 1.5 ng/mL the main part declines in KORA-Age II which suggests normal physiological function of cortisol expression.



Discussion and Summary

Beside the confounders like habitual smoking, psychological trauma, frailty, diabetes and alcohol our studies demonstrate an age-associated increase in LNSC in the normal, aged population. This effect was seen in the first study, KORA-Age I, and in the following study, KORA-Age II, but it was also seen in split age groups in each study itself and furthermore even in comparison of participants of both studies within three years. This must be taken into account when applying traditional cut-off values during screening for Cushing's syndrome. Using the normal cut-off value established for young adults (1.5 ng/mL) would lead to an inappropriately high number of Cushing cases in the aged population considering the rareness of M. Cushing (about 0.6/million inhabitants).

11 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt:

Meinem Doktorvater Prof. Dr. med. M. Reincke für die Überlassung des Themas der Dissertation und damit für die Gelegenheit, innerhalb der Endokrinologie einen eigenen Forschungsbeitrag leisten zu können. Dadurch kam ich in den einmaligen Genuss, Laborarbeit überhaupt und im Speziellen auf dem Gebiet der Endokrinologie kennenzulernen und einen Einblick in wissenschaftliche Tätigkeit, angefangen bei der Konzipierung von Studien, Studienvorbereitung, labortechnische Messverfahren, bis hin zur Erarbeitung wissenschaftlicher Fragestellungen und Auswertung von Studienergebnissen zu bekommen.

Im Besonderen Dr. med. Martin Bidlingmaier, dem Leiter der Arbeitsgruppe des endokrinologischen Labors, der mir als Betreuer von Anfang bis Ende stets zur Seite stand. Er verstand es, einem mit seiner langjährigen Erfahrung als Wissenschaftler ein gedankliches Gerüst für die Doktorarbeit zu entwerfen, in dem er sowohl Freiraum für Ideen und eigenständiges Arbeiten bot, als auch mit hilfreichen Ratschlägen eine verlässliche Stütze blieb. In diesem Sinne bedanke ich mich für all die produktiven Treffen, in denen er mir die Gelegenheit bot, die neuesten Fortschritte meiner Ergebnisse in angenehm kollegialer Atmosphäre zu besprechen.

Nicht zuletzt Prof Dr. Karl Heinz Ladwig und Dr. Rebecca Emeny aus dem Helmholtz Zentrum für die Kollaboration und die inspirativen Treffen zur Nutzung der Daten aus KORA-Age I & II.

Außerdem dem gesamten Team des endokrinologischen Labors der AG Bidlingmaier, insbesondere Rita Schwaiger, Juliane Ramisch, Sarina Benedix, Cora Sontowski und Amon Horngacher, die an den Messverfahren der Speichelproben für KORA-Age mitwirkten und mir im Labor halfen. Sowie dem ehemaligen Mitarbeiter Dr. med. vet. Max Bielohuby, der meine Ergebnisse im Rahmen der Seminare zur Vorstellung der Ergebnisse der Doktorarbeiten begleitete und mir Hilfestellungen bot. Als auch dem ehemaligen Mitarbeiter Dr. rer. nat. Philipp Grimminger, der mir in statistischen Fragen mit Rat zur Seite stand und mir den Umgang mit den Statistik- und Graphikprogrammen IBM SPSS Statistics 22 und Graph Pad Prism 5 beibrachte.

Dem Institut für medizinische Informationsverarbeitung Biometrie und Epidemiologie für die Hilfe bei der Überprüfung meiner Daten in der Varianzanalyse mehrerer Variablen.

Schließlich nicht minder meinem Vater – selbst Jahre lang als Arzt und Wissenschaftler tätig –, der mir zeigte, wie man große Datensätzen in Excel und Access strukturieren kann.

12 Veröffentlichungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden in Teilen auf folgenden Kongressen vorgestellt und als *Abstract* veröffentlicht:

58th Symposium of the German Endocrine Society, Lübeck, 18.-21. März 2015

Eidesstattliche Versicherung

Pflüger, Laurenz

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Untersuchung der zirkadianen Rhythmik des Cortisols im Alter anhand der populationsbasierten Studien KORA-Age
I & II

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und
alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als
solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle
einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in
ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades
eingereicht wurde.

04.03.2019

Ort, Datum

Laurenz Pflüger

Unterschrift Doktorandin/Doktorand
