

Diss. ETH no. 13534

**Salivary cortisol concentrations after awakening,  
stress-induced psychophysiological reactions  
to an academic examination,  
and test performance**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH  
for the degree of  
DOCTOR OF NATURAL SCIENCES

presented by  
Maja Haldemann  
Dipl. sc. nat. ETH  
born January 23, 1969  
citizen of Winterthur (ZH) and Eggwil (BE)

accepted on the recommendation of:

Prof. Dr. Hans Zeier, examiner  
Prof. Dr. Karl Frey, co-examiner

1999

## Summary

The present longitudinal psychophysiological study examines the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis as well as adrenocortical activation in 148 students in the context of a written examination. The goal was to detect possible associations between the salivary cortisol response to awakening, psychophysiological indicators of examination stress, and academic performance.

A first part of the study elucidates individual differences in awakening-mediated salivary cortisol concentrations as well as their intraindividual stability. It investigates the question of what psychophysiological factors mediate early morning cortisol concentrations. One aim was to define a reliable, intraindividually stable marker of awakening-mediated adrenocortical activity.

Possible associations between these awakening-mediated cortisol markers and examination-related cortisol increases are assessed in a second part of the study. The circadian rhythm of the adrenocortical activity was investigated in the context of an acute and realistic stressor – an actual academic examination. It was hypothesized that the announced written examination provokes a stress reaction that is expressed by an anticipatory cortisol increase. Models containing psychosocial and adrenocortical variables are constructed to explain a maximal part of the variance of these stressor-induced elevations of cortisol.

The third part of the study concentrates on possible effects of the anticipatory cortisol increase on examination performance. The question was whether persons showing a pronounced examination-induced cortisol reaction perform worse on the test than examinees without strong adrenocortical activity. The observed variance of the academic performance is explained by selected physiological and psychosocial variables.

The 148 student volunteers (99 men and 49 women) participated in a week-long, live-in seminar as part of their course of studies leading to a Master's Degree in Science Education at the Swiss Federal Institute of Technology Zurich. Four months prior to the seminar, the students took part in an initial, basis investigation day. Three further observation days were conducted under the semi-experimental, live-in conditions during the seminar held at a boarding school. On each of the observation days, an academic event was held at five o'clock in the afternoon: a lecture on the first and third days, a written examination on the second day, and an intelligence test on the fourth observation day. The hour-long written examination was announced in advance and counted 20% towards the final post-graduate grade.

Saliva cortisol was collected on each observation day at individual awakening times, 30 minutes thereafter, and prior to the academic tasks at 5 p.m. During the seminar week, additional samples were taken after the academic tasks (at 6 p.m.) as well as at 6:30 p.m. Together with each saliva sample, potential moderating variables were assessed by means of a protocol. Following observation day one, a baseline package of validated questionnaires assessed health aspects, psychosocial data, selected personality characteristics as well as different controlling variables. Students filled out additional self-rating instruments assessing current emotional states just prior to the academic test situations on observation days two and four. Awakening was operationalized as the individual student's time of waking up just before getting up. The awakening response was defined as the salivary cortisol concentration 30 minutes post-awakening minus the concentration at awakening.

The process of awakening induced a cortisol increase in 78.6% ( $n = 419$ ) of all cases ( $n = 533$ , provided by 148 subjects). A consistent pattern of increases, i.e. increases on all observation days, was observed in 46% of all students. Increases and individually consistent patterns of increases were more common in women than in men. Intrapersonal stability was maximal when the individual morning peak value, i.e. the higher of the two early morning saliva samples, was entered into the analysis ( $0.40 < r < 0.62$ ). As hypothesized, the stability of cortisol levels declined with an increasing interval between sampling days. Interestingly however, even an interval of four months associated with a change in environment still showed moderate stability ( $r = 0.40$ , morning peak value). The post-awakening cortisol concentrations related to the subject's gender, body mass index (BMI), the personality trait of neuroticism, and use of oral contraception by women. In contrast, cortisol levels at awakening time as well as the intraindividual stability of the early morning cortisol concentrations remained uninfluenced by all investigated covariables.

Cortisol levels prior to the academic tasks at 5 p.m. were higher in males than in females (mean of all observation days = 9.2 nmol/l versus 6.0 nmol/l,  $F = 53.1$ ,  $df = 1/146$ ,  $p < 0.001$ ). The academic examination induced an anticipatory relative cortisol increase of 85.6% (cortisol concentration immediately before the examination divided by the mean of the corresponding concentrations of the other observation days). Every second student displayed a pre-examination increase of more than 50%. Psychosocial data explained 16.1% of the variance of this relative increase. The explained variance of the increase was only marginally improved by the inclusion of non-stimulated circadian cortisol markers into the model. While the examination-related relative cortisol increase was independent of gender, men showed a higher absolute cortisol increase than women (5.2 versus 2.8 nmol/l; cortisol concentration immediately before the examination minus the mean of the corresponding concentrations of the other observation days). Gender as well as psychosocial variables explained 17.6% of the variance of this absolute cortisol increase. When including individual markers of circadian cortisol activity, the explained variance amounted to 29.7%.

No significant associations were detected between performance on the actual criterion-reference test and individual markers of adrenocortical (re)activity. Neither the examination-related anticipatory cortisol increase, nor non-stimulated circadian cortisol levels, nor indices of individual former cognitive performance explained a relevant part of the observed variation in examination results. The best model predicting test performance contained psychological variables as well as gender and explained 12% of the observed variance. Markers of adrenocortical (re)activity and indicators of former performance did not improve this predicting model. Evidently, the observed anticipatory cortisol reactions had no impact on the higher order cognitive performance in the investigated criterion-reference test.

Future assessment of the awakening-mediated cortisol reaction should define the individual awakening time as the first stage of the awakening process and clearly distinguish it from possible later phases of the awakening process preceding the subject's getting up. The higher of the two cortisol concentrations collected within 30 minutes after awakening should be entered into the analysis of the individual stability of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis. Further, absolute and relative cortisol changes related to examinations must be analyzed separately.

## Zusammenfassung

Die vorliegende psychophysiologische Längsschnittstudie untersucht die Aktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-(HHN)-Achse sowie die adrenokortikale Aktivierung im Kontext einer schriftlichen Prüfung bei 148 Studierenden. Das Ziel war, mögliche Assoziationen zwischen der Saliva-Kortisolreaktion auf das morgendliche Aufwachen, psychophysiologischen Indikatoren von Prüfungsstress und akademischer Leistung aufzudecken.

Ein erster Studienteil widmet sich individuellen Unterschieden der Saliva-Kortisolkonzentrationen im Zusammenhang mit dem Aufwachen sowie deren intrapersonellen Stabilität. Es wird untersucht, welche psychophysiologischen Faktoren eine Mediatorfunktion auf die frühmorgendlichen Saliva-Kortisolspiegel ausüben. Ein Ziel war, einen zuverlässigen, intraindividuell stabilen Marker der frühmorgendlichen adrenokortikalen Aktivität zu definieren.

Mögliche Zusammenhänge zwischen diesen frühmorgendlichen Kortisolmarkern und prüfungsbedingten Kortisolanstiegen werden in einem zweiten Studienteil erforscht. Die zirkadiane Rhythmik der adrenokortikalen Aktivität wird in Verbindung gebracht mit einem akuten natürlichen Stressor – einer realen akademischen Prüfung. Es wurde vermutet, dass die angekündigte schriftliche Prüfung eine Stressreaktion auslöst, welche sich in einem antizipatorischen Kortisolanstieg äussert. Modelle mit psychosozialen sowie adrenokortikalen Variablen werden aufgestellt, um die Varianz der stressinduzierten Kortisolanstiege bestmöglich zu erklären.

Der dritte Studienteil konzentriert sich auf mögliche Wirkungen des antizipatorischen Kortisolanstiegs auf die Prüfungsleistung. Die Fragestellung lautet, ob Personen mit ausgeprägter prüfungsbedingter Kortisolreaktion geringere Leistungen erbringen als Kandidaten ohne starke adrenokortikale Aktiviertheit. Die beobachtete Varianz der akademischen Leistung wird mit ausgewählten physiologischen und psychosozialen Variablen erklärt.

Die 148 freiwillig teilnehmenden Studierenden (99 Männer, 49 Frauen) absolvierten im Rahmen der Ausbildung für das Höhere Lehramt der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich (ETH) ein einwöchiges Seminar. Ein erster Basis-Untersuchungstag fand vier Monate vor diesem Seminar statt. Drei weitere Untersuchungstage folgten unter semi-experimentellen, internatsmässigen Bedingungen während des Seminars. An jedem Untersuchungstag wurde um 17.00 Uhr eine akademische Veranstaltung durchgeführt – eine Vorlesung am ersten und dritten Untersuchungstag, eine schriftliche Prüfung am zweiten Untersuchungstag und ein Intelligenztest am vierten Untersuchungstag. Die einstündige schriftliche Prüfung war zuvor angekündigt worden und zählte 20% für die Schlussnote. Saliva-Kortisolproben wurden an allen vier Untersuchungstagen beim individuellen Aufwachen, 30 Minuten danach sowie vor den akademischen Veranstaltungen um 17.00 Uhr entnommen. An den Seminartagen erfolgten zusätzliche Probenahmen unmittelbar nach diesen Veranstaltungen (um 18.00 Uhr) sowie um 18.30 Uhr. Bei jeder Probenahme wurden potentielle Moderatorvariablen mittels eines Protokolls erfasst. Ein Basispaket mit validierten Fragebogen zum Gesundheitsverhalten, psychosozialen Aspekten, ausgewählten Persönlichkeitszügen sowie verschiedenen Kontrollvariablen wurde anschliessend an den ersten Untersuchungstag eingesetzt. Weitere Selbsteinschätzungsinstrumente zum momentanen emotionalen Befinden füllten die Teilnehmer

unmittelbar vor den akademischen Testsituationen am zweiten und vierten Untersuchungstag aus. Unter dem Aufwachen wurde der individuelle Zeitpunkt verstanden, der dem morgendlichen Aufstehen unmittelbar vorherging. Die Kortisol-Aufwachreaktion wurde als die Saliva-Kortisolkonzentration 30 Minuten nach dem Aufwachen minus die Konzentration beim Aufwachen definiert.

Ein derartiger frühmorgendlicher Kortisolanstieg wurde in 78.6% ( $n = 419$ ) aller Fälle ( $n = 533$ , 148 Studierende) registriert. Konsistente Anstiege an allen vier Untersuchungstagen wurden bei 46% aller Studierenden beobachtet. Anstiege sowie individuell konsistente Muster von Anstiegen waren häufiger bei Frauen als bei Männern. Der Einschluss des individuell höheren der beiden frühmorgendlichen Kortisolwerte resultierte in maximaler intrapersoneller Stabilität ( $0.40 < r < 0.62$ ). Wie vermutet, sank die Stabilität der frühmorgendlichen Kortisolwerte mit zunehmendem Zeitintervall zwischen den Untersuchungstagen. Erstaunlicherweise aber zeigte auch ein viermonatiger Abstand, verbunden mit einem Umgebungswechsel, noch moderate Stabilität ( $r = 0.40$ , höherer der beiden Morgenwerte). Die Kortisolkonzentrationen 30 Minuten nach dem Aufwachen korrelierten mit dem Geschlecht, dem Body Mass Index (BMI), dem Persönlichkeitszug Neurotizismus und dem Gebrauch oraler Kontrazeptiva bei Frauen. Die Kortisolspiegel beim Aufwachen als auch die intraindividuelle Stabilität der frühmorgendlichen Kortisolwerte erwiesen sich hingegen als unabhängig von allen untersuchten Kovariablen.

Die Männer zeigten vor den akademischen Aufgaben um 17.00 Uhr höhere Kortisolspiegel als die Frauen (Mittelwerte aller Untersuchungstage: 9.2 nmol/l versus 6.0 nmol/l,  $F = 53.1$ ,  $df = 1/146$ ,  $p < 0.001$ ). Die schriftliche Prüfung induzierte einen antizipatorischen relativen Kortisolanstieg von 85.6% (Kortisol-Konzentration unmittelbar vor der Prüfung dividiert durch den Mittelwert der tageszeitgleichen Kortisol-Konzentrationen an den anderen Untersuchungstagen). Jeder zweite Studierende wies einen antizipativen Anstieg von mehr als 50% auf. Psychosoziale Daten erklärten 16.1% der Varianz dieses relativen Anstiegs. Die Berücksichtigung unstimulierter zirkadianer Kortisolmarker erhöhte die Vorhersagekraft dieses Modells nicht wesentlich. Währenddem der relative prüfungsbedingte Kortisol-Anstieg geschlechtsunabhängig war, zeigten Männer einen höheren absoluten Anstieg als Frauen (5.2 versus 2.8 nmol/l; Kortisol-Konzentration unmittelbar vor der Prüfung minus Mittelwert der tageszeitgleichen Kortisol-Konzentrationen an den anderen Untersuchungstagen). Das Geschlecht sowie psychosoziale Variablen erklärten 17.6% der Varianz dieses absoluten Anstiegs. Der Einschluss individueller Marker der zirkadianen Kortisolaktivität erhöhte die erklärte Varianz auf 29.7%.

Es ergaben sich keine bedeutsamen Assoziationen zwischen der Leistung in der untersuchten kriteriumsorientierten Prüfung und individuellen Markern der adrenokortikalen (Re)aktivität. Weder der prüfungsbedingte antizipatorische Kortisolanstieg noch unstimulierte zirkadiane Kortisolspiegel oder Indikatoren individueller früherer kognitiver Leistungen erklärten einen bedeutsamen Anteil der Varianz der Prüfungsleistung. Das beste Vorhersagemodell für das Prüfungsergebnis enthielt psychologische Variablen sowie das Geschlecht und erklärte 12% der beobachteten Varianz. Marker der adrenokortikalen Reaktivität und Indikatoren früherer Leistungen vermochten dieses Vorhersagemodell für die Prüfungsleistung nicht zu verbessern. Offensichtlich wirkte sich die beobachtete antizipatorische Kortisolreaktion nicht auf die erbrachte höher-kognitive Leistung in der kriteriumsorientierten Prüfung aus.

Bei zukünftigen Untersuchungen der frühmorgendlichen Kortisolreaktion sollte der Zeitpunkt des individuellen Aufwachens als erstes Stadium des Aufwachprozesses definiert und klar von eventuellen späteren Aufwach- und Aufstehphasen unterschieden werden. Die höhere der beiden Kortisolkonzentrationen innerhalb der ersten halben Stunde nach dem Aufwachen sollte in die Analyse der individuellen Stabilität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-(HHN)-Achse einbezogen werden. Prüfungsbedingte absolute und relative Kortisolreaktionen müssen separat analysiert werden.