

UDDL  
865  
(2)

A. Slob†

Met technische assistentie van mej. P. Los  
en mej. M.M. Bergshoeff

---

CATECHOLAMINENUITSCHIEDING IN RELATIE TOT  
EEN WISSELENDE TAAKBELASTING BIJ PONTYPISTES VAN DE PTT

---

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR PRAEVENTIEVE GENEESKUNDE TNO  
april 1975



## INHOUD

|                                                               | blz. |
|---------------------------------------------------------------|------|
| SAMENVATTING . . . . .                                        | 1    |
| 1. INLEIDING EN VRAAGSTELLING . . . . .                       | 2    |
| 2. PRACTISCHE UITVOERING . . . . .                            | 8    |
| 2.1 Urinesampling . . . . .                                   | 8    |
| 2.2 De bepaling van enkele phenylalcoholen . . . . .          | 8    |
| 2.2.1 Analysevoorschrift . . . . .                            | 9    |
| 2.3 De bepaling van 5-hydroxy-indolazijnzuur (HIAA) . . . . . | 11   |
| 2.3.1 Analysevoorschrift . . . . .                            | 11   |
| 2.4 De bepaling van adrenaline en noradrenaline . . . . .     | 12   |
| 2.4.1 Analysevoorschrift . . . . .                            | 12   |
| 2.5 Bepaling van vanillylmandelzuur (VMA) . . . . .           | 13   |
| 2.5.1 Analysevoorschrift . . . . .                            | 13   |
| 3. RESULTATEN . . . . .                                       | 17   |
| 3.1 Lijst van variabelen bepaald in de urines . . . . .       | 17   |
| 3.2 Uitkomsten . . . . .                                      | 17   |
| 4. STATISTISCHE ANALYSE . . . . .                             | 19   |
| 5. CONCLUSIES . . . . .                                       | 23   |
| REFERENTIES . . . . .                                         | 24   |



## SAMENVATTING

Bij de ponstypistes van het Codeercentrum in Den Haag (cdcGv) werd in de periode van 1 tot 17 mei 1973 de uitscheiding nagegaan van een zevental variabelen van de mono-aminen-stofwisseling in de urine.

Onderzocht werd of de hypothese, dat er verschillen tussen ochtend- en middaguitscheiding zou bestaan, bevestigd kon worden. Dit zou mogelijk kunnen betekenen dat de "vermoeidheid" in de loop van de dag toenam. Er werden evenwel geen duidelijke verschillen gevonden.

Deze variabelen, op deze wijze verkregen, geven geen duidelijke signalering van verschillen. Voor de werkomstandigheden zoals bij de codeersters, lijkt deze methodiek geen indicator op te leveren voor de signalering van vermoeidheid.



## 1. INLEIDING EN VRAAGSTELLING

Fysiologische stressverschijnselen kunnen worden veroorzaakt door een grote verscheidenheid van factoren, die zowel fysiek als psychisch van aard kunnen zijn. Het is daarom van belang om over indicatoren te beschikken, die aangeven of en in welke mate een potentiële stressor ook werkelijk een effect veroorzaakt.

De basis voor het moderne stressconcept werd vooral gelegd door Cannon & Selye. Terwijl Cannon de aandacht vestigde op het bijniermergsysteem, gaf Selye het belang aan van hypofysebijnierschorsregeling. Reeds aan het begin van deze eeuw kwam het bijniermerg als eerste endocriene regelsysteem in de belangstelling te staan en werd het experimenteel bestudeerd in verband met een mogelijk effect van emotionele factoren op de regulatie. Zo vermeldde Cannon & de la Paz (1) in 1911, dat bij een kat, bang gemaakt door een blaffende hond, duidelijk aantoonbare hoeveelheden adrenaline in het bloed van de vena cava inferior aanwezig waren, terwijl onder basale condities hierin geen adrenaline was aan te tonen. In hetzelfde jaar toonde men ook aan (2), dat een kat, die opgewonden raakt, hetzij doordat hij voor het eerst in een kooi wordt opgesloten, hetzij door een blaffende hond, een glycosurie vertoont. Geadenalectomiseerde dieren vertoonden deze respons niet. Mede op grond van deze experimenten kwam Cannon al in 1914 tot de conclusie dat het vrijkomen van adrenaline en de daaropvolgende metabolische consequenties, het organisme in staat stelt meer efficiënt te reageren in situaties waarbij angst, woede of pijn is betrokken.

Een overzicht van het werk verricht op het gebied van bijniermerg gedurende de eerste decennia van deze eeuw geeft het boek van Cannon (3): "Bodily changes in pain, hunger, fear and rage". Evenzo wordt op het gebied van de bijnierschors een overzicht gegeven door het boek van Selye (4): "The physiology and pathology of exposure to stress".

Een differentiatie van responsen is waarneembaar, zowel tussen de systemen alsook binnen de systemen. De ene factor zal meer het ene systeem beïnvloeden, een andere factor meer het andere systeem. Men heeft dit in vele experimenten kunnen constateren, met name voor wat betreft de differentiatie tussen een verhoogde uitscheiding van adrenaline en noradrenaline heeft men veel gegevens verzameld. Reeds in de jaren voor 1955 zag men in dat adrenaline en noradrenaline respons selectief gerelateerd kunnen zijn aan verschillende emotionele stimuli. Een paar voorbeelden uit de literatuur wil ik hierbij aanhalen uit de overzichtsartikelen van



Von Euler (5) en Mason (6). Zo veroorzaakt "emotional discomfort" met name een sterke verhoging van de adrenalineproductie. Men vond bijvoorbeeld een sterke anticipatiestress bij astronauten, gepaard gaande met een verhoogde adrenaline-uitscheiding. Meer specifiek werkend op de noradrenaline-uitscheiding is bijvoorbeeld de belasting van het circulatoire systeem. Men vindt zo een drievoudige toename in noradrenaline-uitscheiding bij rechtopstaan ten opzichte van een liggende houding, terwijl zware spierarbeid zelfs tot een 20-30-voudige toename leidt. Ook centrifugebelasting van enkele g's bij astronauten veroorzaakt een verhoogde noradrenaline-uitscheiding.

Bij luchttransporten van militairen vond men een selectieve toename in uitscheiding van adrenaline, zonder noemenswaardige verandering in de noradrenaline-uitscheiding. De piloten echter gaven een toename in uitscheiding te zien van beide componenten tijdens de vlucht.

In het algemeen zou men kunnen zeggen dat de respons voor wat betreft fysieke stress voornamelijk via de bijnierschors gaat, terwijl meer psychogene factoren de adrenaline- en noradrenaline-uitscheiding beïnvloedt. Een verhoogde adrenaline-uitscheiding zal voornamelijk optreden bij situaties die gekenmerkt worden door onzekerheid, nieuwheid en verandering, dit effect zal verminderen met toenemende gewenning en geoefendheid, waardoor men de opgelegde situatie "meester" wordt. De noradrenaline-uitscheiding zal met name verhoogd worden in situaties waarin het subject zelf nauwelijks enige invloed kan uitoefenen en passief (moet) blijven. Overigens ligt de situatie in de praktijk lang niet altijd zo eenvoudig als hierboven globaal wordt weergegeven. Zo vindt men bij een stress van meer fysieke aard, als verbrandingen, ook een sterk verhoogde adrenaline-uitscheiding en ook een verhoogde noradrenaline-uitscheiding (11). Ook een gebrek aan stimuli, bijvoorbeeld de vigilantietaak bij sterk geautomatiseerde fabrieken, veroorzaakt een duidelijke stijging van zowel A- als NA-uitscheiding (9, 12). Ook de gemoedstoestand is van belang, bij anticipatie vindt men een duidelijke A-verhoging (13). Men zal overigens niet alleen een verhoogde uitscheiding vinden bij onaangename stimuli, zo vond men (7, 8) ook een verhoogde adrenaline-uitscheiding bij het kijken naar zowel komische als agressie-oproepende films, terwijl een rustige natuurfilm het tegenovergestelde effect te zien geeft. Gezien dit voorgaande kan men waarschijnlijk beter spreken van arousal dan van stress.

Om de situatie nog ingewikkelder te maken moet men ook rekening houden met sterke individuele verschillen, men vindt bijvoorbeeld een positieve relatie van de catecholamine-uitscheiding met de mentale efficiency bij



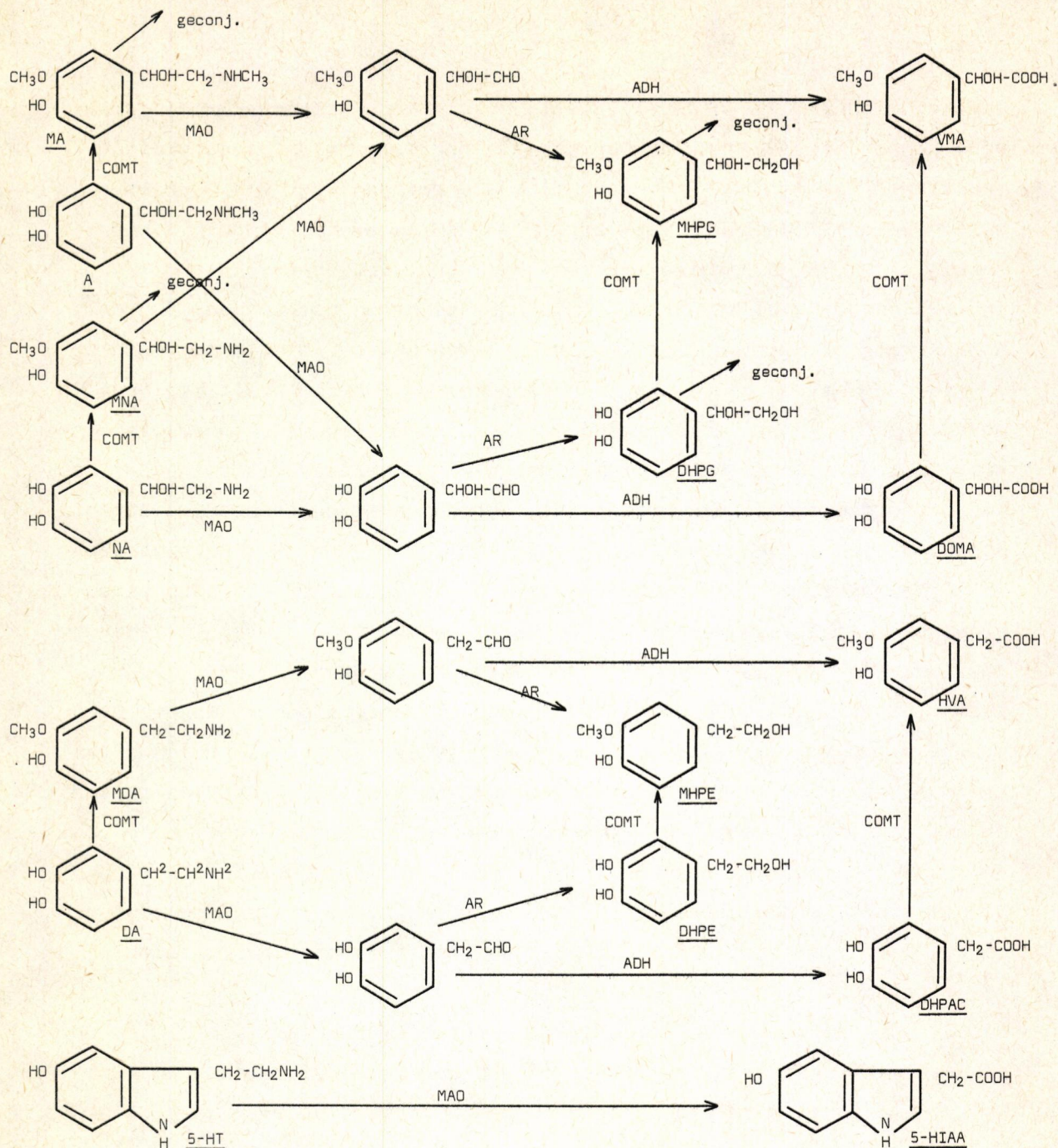
lage of middelmatige arousal (12, 14, 15). Daarnaast moet men nog rekening houden niet alleen met het normale dagritme in de uitscheiding (16), maar ook met het feit dat bij ochtendmensen voor wat betreft de A-uitscheiding 's morgens hoog ligt en evenzo de avondmensen 's avonds, terwijl voor NA geen duidelijk verschil wordt gevonden (17).

Terwijl nu bijna alle geproduceerde adrenaline in het lichaam van de bijniermerg afkomstig is (hoewel ook kleine hoeveelheden door de chromaffine cellen van andere organen geproduceerd worden) ligt dit voor noradrenaline geheel anders. Een deel van de geproduceerde noradrenaline komt inderdaad ook van het bijniermerg, maar daarnaast is een groot deel van het circulerende noradrenaline vrijgekomen als neurotransmittor bij de sympathische zenuwuiteinden. Nu zal ook de "vuringsfrequentie" van deze zenuwuiteinden bij stress verhoogd zijn, wat men met proefdieren heeft kunnen aantonen. Men kan namelijk de "turnover" van de verschillende "neurotransmitters" bepalen doordat men de depletiesnelheid meet bij geremde synthese. Zo vond men bij uitputtingsstress (gedwongen rennen) bij ratten een verhoogde noradrenaline release, gepaard gaande met een versnelde aanmaak van nieuw NA (18). Ook proeven met verschillende groepen muizen, namelijk geïsoleerde, in groepsverband levende en geïsoleerd opgegroeide muizen, die daarna bij elkaar werden gezet, lieten een toenemende turnover-snelheid voor NA zien in de volgorde geïsoleerd, samenlevend, geïsoleerd en later samengebracht (19).

Het is dus van belang te weten of de verhoging van het NA te wijten is aan een verhoogde zenuwactiviteit of aan een verhoogde bijnieractiviteit. Nu is het zo dat van de geproduceerde hoeveelheden A en NA slechts een uiterst gering deel (enkele %) onveranderd in de urine wordt uitgescheiden, terwijl verreweg het grootste deel in de vorm van metaboliëten de urine bereikt. Daar nu de enzymsystemen die hiervoor verantwoordelijk zijn nogal verschillend in activiteit (kunnen) zijn in de verschillende organen (hersenen versus lever) kan men in principe door onderscheid te maken tussen de uitgescheiden hoeveelheden van de metaboliëten de oorsprong van het effect achterhalen. Zo zal in de hersenen door het aanwezige monoaminoxidase (MAO) een andere metabolisatieroute de voorkeur hebben als in de lever waar voornamelijk catechol-o-methyltransferase (COMT) aanwezig is.

Een en ander wordt in figuur 1 verduidelijkt. Men ziet een vrij ingewikkeld verband, waarbij niet alleen verschillende metaboliëten uit één precursor kunnen voortkomen, maar waarin ook één metaboliëet uit ver-





A = adrenaline  
 NA = noradrenaline  
 DA = dopamine  
 MA = methyladrenaline  
 MNA = methylnoradrenaline  
 MDA = methyldopamine  
 MHPG = 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol  
 DHPG = 3, 4-dihydroxyphenylglycol  
 MHPE = 3-methoxy-4-hydroxyphenylethanol  
 DHPE = 3, 4-dihydroxyphenylethanol  
 VMA = vanillylmandelzuur  
 HVA = homovanilinezuur  
 DOMA = dihydroxyamandelzuur  
 DHPAC = dihydroxyphenylazijnzuur  
 5-HT = 5-hydroxytryptamine (serotonine)  
 5-HIAA = 5-hydroxyindolazijnzuur

COMT = catechol-o-methyltransferase (lever)  
 MAO = monoamineoxidase (lever)  
 ADH = aldehyde dehydrogenase  
 AR = aldehyde reductase

Fig. 1 Metabolisme van de bioaminen van de bijnier



schillende precursors kan zijn ontstaan. Toch komt met name als representant van het in de hersenen gevormde NA het 3-methoxy-4-hydrocyphe-nylglycol (MHPG) naar voren (20, 21). Zo is aangetoond dat MHPG het voornaamste eindproduct is van het metabolisme van NA in de hersenen bij verschillende dieren (22, 23, 24). Men beschrijft dat althans bij de hond 50-60% van het endogeen in de hersenen gevormde NA als MHPG wordt uitgescheiden, terwijl het in de urine gevonden MHPG voor + 25% vanuit de hersenen afkomstig NA is. Dit is vergeleken met de + 1% van VMA (vanil-lylamandelzuur) erg hoog.

Gezien nu de differentiatie in respons, afhankelijk van de stressor is het moeilijk aan te geven wat de beste index is in een bepaalde situatie. Uit een pilotonderzoek, door ons verricht bij de NS, bij ponstypis-tes leken de catecholaminen een betere index te vormen dan de cortico-steroiden, zoals in tabel 1 te zien is.

Tabel 1

| Naam   | Verhouding uitscheiding m/o van | A           | NA          | steroiden   |
|--------|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| 1 G    |                                 | 7,33        | 4,15        | 1,85        |
| 2 Z    |                                 | 2,25        | 2,08        | 1,05        |
| 3 M    |                                 | 2,50        | 1,05        | 1,06        |
| 4 V    |                                 | 1,50        | 1,53        | 1,20        |
| 5 R    |                                 | 1,50        | 1,63        | 1,05        |
| 6 N    |                                 | 1,20        | 1,42        | 1,00        |
| 7 J    |                                 | 1,36        | 1,20        | <u>0,81</u> |
| 8 deV  |                                 | <u>1,13</u> | 0,66        | 0,97        |
| 9 B    |                                 | 1,03        | 1,02        | 0,99        |
| 10 vD  |                                 | 0,76        | 0,82        | <u>1,31</u> |
| 11 R   |                                 | 0,82        | <u>1,09</u> | 0,93        |
| 12 K   |                                 | 0,81        | 0,86        | 0,80        |
| 13 L-R |                                 | 0,79        | 0,67        | 0,65        |

In dit onderzoek is de uitscheiding in de urine gemeten bij een 13-tal meisjes van zowel corticosteroiden (bijnierschors) als adrenaline en noradrenaline (bijniermerg + hersenen). Elke pp diende als haar eigen controle, doordat de middaguitscheiding werd vergeleken met de ochtend-uitscheiding. Gezien het biologisch ritme, waardoor men een lagere mid-daguitscheiding (m) zal verwachten dan gedurende de ochtend (o) zal een



verhouding m/o  $>1$  wijzen in de richting van een stress-situatie. Immers een dergelijke situatie zal in de middag harder aankomen dan in de ochtend, wanneer men nog "fris" is. Men ziet in deze groep een goede kwalitatieve overeenstemming tussen de verschillende componenten (de uitkomsten met een iets tegengestelde neiging zijn onderstreept). Op grond van deze waarnemingen kan men de pp's ruwweg in twee groepen verdelen (nl. "low tolerance" en "high tolerance"). Op basis van deze hypothese zal men verwachten dat bij een variatie van de taakbelasting ook het aantal personen met een ratio  $>1$  zal variëren.

Daarbij verdient het de voorkeur gezien de differentiatie in respons met een zo breed mogelijke zeef te werken, d.w.z. zoveel mogelijk verschillende metaboliëten te bepalen, daar ook bij deze specifieke taak een aantal factoren zal samenwerken, zodat op verschillende plaatsen in het lichaam een verhoogde respons i.c. een verhoogde productie kan optreden.



## 2. PRACTISCHE UITVOERING

### 2.1 Urinesampling

Urinesamples zijn verzameld gedurende 6 van de 12 proefdagen, nl.: 2/5, 4/5, 8/5, 10/5, 15/5, 17/5 (genummerd I t/m VI). Om de natuurlijke werksituatie zo weinig mogelijk te verstoren is niet strak vastgehouden aan gelijke sampletijden. In de praktijk blijken veel proefpersonen vergissingen te begaan bij de urinesampling (men vergeet het te verzamelen), waarvoor men zich bovendien schaamt ze te bekennen, laat staan dit te melden. Daarom werd besloten dat gedurende deze zes dagen mej. P. Los (analyste NIPG) toezicht zou houden teneinde een betrouwbare sampling te garanderen. De periode van de ochtendsampling liep vanaf het opstaan (volgens opgave van de pp) tot een geschikt tijdstip waarin de pp zelf een natuurlijke aandrang voelde. De middagperiode liep vanaf deze tijd tot het laatste geregistreerde toiletbezoek. Hierdoor konden de periodes nogal variëren en zal meestal de middagsampling zich lang niet tot het einde van de werktijd uitstrekken. Daar de samenwerking op strikt vrijwillige basis geschiedde kon niet steeds dezelfde populatie gesampled worden. In totaal werden urines verzameld van 19 meisjes, waarvan bij 10 meisjes gedurende 4 of meer dagen. Dit wordt weergegeven in tabel 3, terwijl tevens voor iedere individuele proefpersoon de tijdsperiode van elk sample wordt weergegeven. Iedere avond werden de volumina gemeten en de urines (of een gedeelte hiervan) bij  $-20^{\circ}\text{C}$  ingevroren tot het tijdstip van de bepaling. Bepaald werd:

- |    |                                                                                          |   |                              |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------|---|------------------------------|
| A. | 3-methoxy-4-hydroxyphenylethanol (MHPE)                                                  | } | als metaboliëten van A en NA |
|    | 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG)                                                   |   |                              |
|    | 3, 4-dihydroxyphenylglycol (DHPG)                                                        |   |                              |
|    | vanillyl amandelzuur (VMA)                                                               |   |                              |
| B. | 5-hydroxyindolazijnzuur (5HIAA) als metaboliet van serotonine (ook een neurotransmittor) |   |                              |
| C. | de A- en NA-uitscheiding zelf in de urine.                                               |   |                              |

### 2.2 De bepaling van enkele phenylalcoholen

Hiervoor is door ons een bepaling ontwikkeld, uitgaande van het werk van Dekirmenjian & Maas (25). Zij berust hierop, dat eerst bij pH 6-6,5 eventuele conjugaten worden gehydrolyseerd met  $\beta$ -glucuronidase. Daarna wordt geëxtraheerd met een ethylacetaat/isopropanol mengsel. De organische

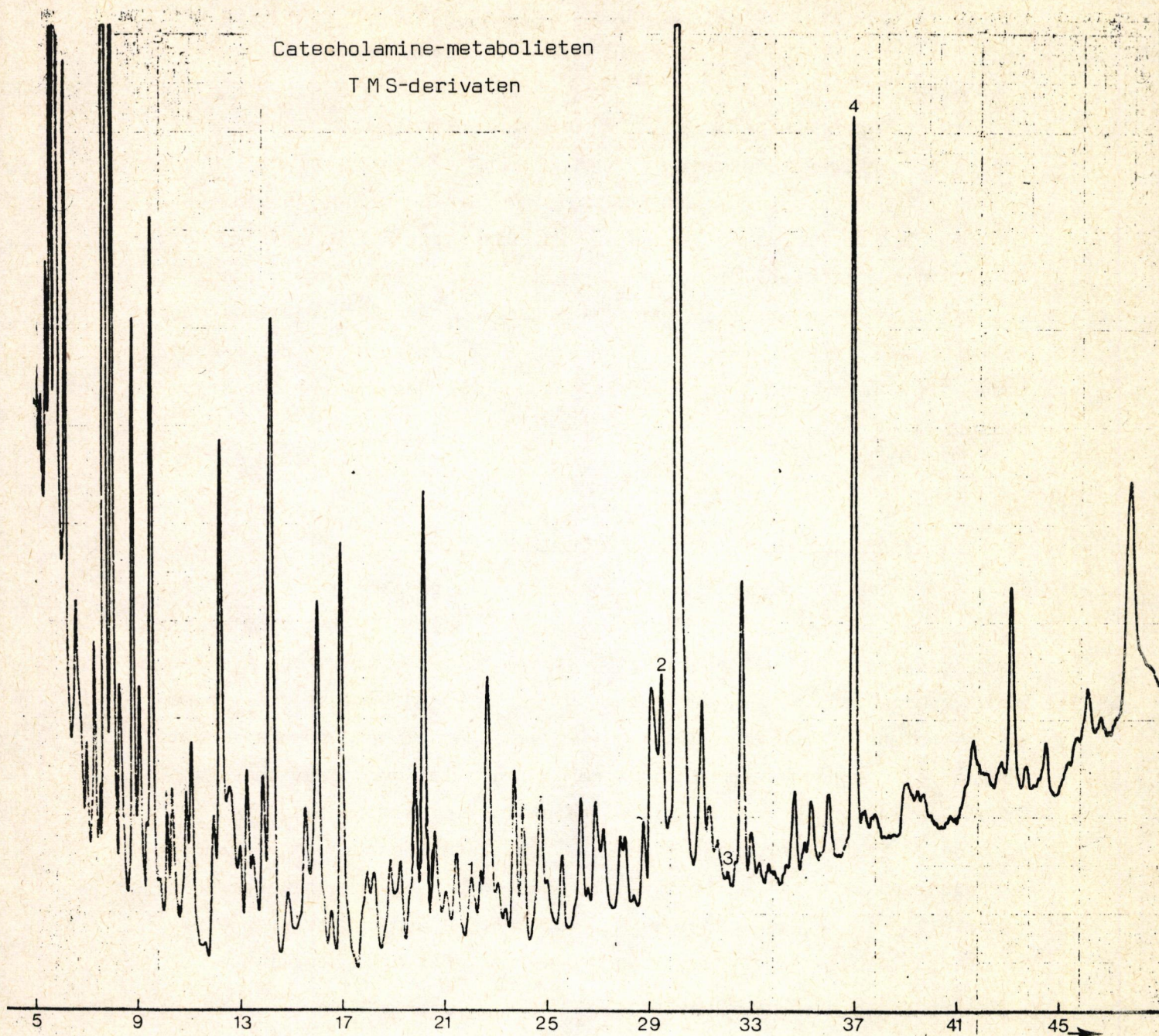


laag wordt met een alkalische waterlaag uitgewassen en gedroogd. Na indampen en opnemen in een klein volume ethanol wordt een deel opgelost in dimethylformamide, een interne standaard toegevoegd en gesileerd met NO<sub>2</sub>-Bis (trimethylsilyl)-acetamide (BSA). Het mengsel wordt dan gaschromatografisch gescheiden en geanalyseerd. Hiervoor is een nieuwe techniek gebruikt, namelijk capillair-glas GLC (26). Daar de recoveries van toegevoegde standaards nogal uiteenliepen voor de verschillende urines (hoewel vrijwel constant voor één urine), een verschijnsel dat wel meer wordt waargenomen bij ingewikkelde mengsels, moest voor elke bepaling er één extra bijkomen met een toegevoegde bekende hoeveelheid standaards. Daar bovendien alle bepalingen in duplo werden uitgevoerd, en de uitkomsten niet meer dan 10% mochten verschillen, moesten voor elke onder het hoofdstuk resultaten vermelde waarde in werkelijkheid tenminste vier bepalingen worden uitgevoerd. Een voorbeeld van een dergelijk gaschromatogram wordt gegeven in figuur 2.

#### 2.2.1 Analysevoorschrift

Na ontdooien en op kamertemperatuur brengen van het urinemonster pipetteert men 4 x 10 ml af in buizen van 25 ml met ingeslepen stop. De pH van de urine in de buizen wordt op 6-6,5 gebracht met 1 N HCl of met 1 N NaOH. Daarna aan alle buizen toevoegen 0,1 ml  $\beta$ -glucuronidase-sulfatase (uit Helixpomatia, Sigma 139000 Fishman units/ml), goed mengen en de buizen gedurende 24 uur bij 37° C incuberen. Daarna aan 2 van de 4 buizen toevoegen 30  $\mu$ g van resp. MHPE, MHPG en DHPG en aan alle buizen 6 gr (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>. Nu alle buizen schudden met 12,5 ml ethylacetaat/isopropanol (4:1) gedurende 10 minuten in de schudmachine, daarna 5 minuten centrifugeren. De bovenstaande (organische) laag overbrengen in een 50 ml buis (slijpstukken). Nog 2 x extraheren met 12,5 ml ethylacetaat/isopropanol en de extracten combineren. Het samengevoegde extract wassen met 2,5 ml 1 M. KHCO<sub>3</sub> door eerst 5 minuten schudden, dan 5 minuten centrifugeren. De onderstaande vloeistoflaag verwijderen en aan de organische laag een mespunt Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> toevoegen om de laatste sporen water te verwijderen en even krachtig schudden. Na 10 minuten staan in de koude wordt de vloeistof via een filter overgebracht in een kolf van 100 ml. De buis wassen met 5 ml ethylacetaat/isopropanol en dit ook door het filter spoelen. Dan het filter nog eens met 5 ml naspoelen. De inhoud van de kolf op een rotavapor droogdampen, dan de wanden spoelen met 2 ml





Figuur 2

Chromatogram van een urine (extract).

Geïnjecteerd 0,2  $\mu$ l op een kolom van 26 m lang  
bij 0,3 mm inwendige doorsnee gecoat met SE-52.

Temperatuur-programmering:

beginnend met 6 minuten isotherm op 145°C,

daarna 2 /min stijgend tot 220°C,

daarna isotherm blijvend op 220°C gedurende 4 minuten.

1 = 4-hydroxy-3-methoxyphenylethanol

2 = 4-hydroxy-3-methoxyphenylglycol

3 = 3, 4-dihydroxyphenylglycol

4 = eicosane (internal standard)



ethanol en opnieuw droogdampen. Het residu in de kolf wordt met 3 x 0,7 ml ethanol overgebracht in een buis van 10 ml met ingeslepen stop en weer ingedampt. De buis goed afsluiten en in diepvries bewaren tot verder opwerken.

Aan de buis wordt toegevoegd 0,2 ml van een oplossing van 200 µg/ml eicosaan (inwendige standaard) in dimethylformamide en 0,1 ml BSA. Na goed mengen van de stevig afgesloten buis wordt deze gedurende 75 minuten bij een temperatuur van 55<sup>o</sup> C geplaatst. Hieruit wordt 0,2 µl geïnjecteerd op de gaschromatograaf. Opmeten van de piekoppervlakken en omrekenen naar een standaard eicosaanoppervlak geeft een vergelijking van de hoeveelheid oorspronkelijk in de urine aanwezige component en de bekende toegevoegde hoeveelheid. Hieruit is dan de uitscheiding per uur te berekenen.

### 2.3 De bepaling van 5-hydroxy-indolazijnzuur (HIAA)

Hierbij is het voorschrift van Goldenberg (27) gevolgd.

De bepaling berust hierop, dat in zuur milieu het HIAA met ethylacetaat wordt geëxtraheerd, dat daarna in neutraal milieu weer in de waterfase wordt overgebracht. Het wordt dan met behulp van nitrosonaphtol en natriumnitriet in zuur milieu omgezet in een paarsblauw chromofoor, dat daarna met mercapto-ethanol wordt gereduceerd tot een blauw complex, wat stabiel is en ongeveer 2 x zo grote extinctie heeft. Bovendien verdwijnen de gekleurde verbindingen van reactieve phenolen en van indolazijnzuur. De kleurintensiteit wordt gemeten bij 590 nm en vergeleken met die van een standaardoplossing, waardoor de concentratie en daaruit de uitscheidingssnelheid berekend kan worden. Ook deze bepaling wordt standaard in duplo uitgevoerd.

#### 2.3.1 Analysevoorschrift

5 ml urine (5 ml aqua bidest. voor blancowaarden, 5 ml standaardoplossing 10 µg/ml) wordt geëxtraheerd met 10 ml ethylacetaat, nadat eerst 4 gr NaCE en 0,5 ml gec. HCE zijn toegevoegd. Na ongeveer 5 minuten schudden en 2 minuten centrifugeren wordt de bovenlaag afgepipetteerd, waarna met 5 ml ethylacetaat de waterige fase nog eens geëxtraheerd wordt. De gecombineerde extracten worden ingedampt en met 5 ml Etac. overgebracht in een buis van 25 ml (slijpstukken). Nu wordt 3 ml van



een fosfaatbufferoplossing pH7 toegevoegd (5 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 16,62 gr  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  per liter  $\text{H}_2\text{O}$ ), geschud en gecentrifugeerd. De organische fase wordt afgezogen en aan 2 ml van de waterige fase wordt toegevoegd 0,5 ml nitrosonaphtol en 1 ml zuurnitriet (2,5 gr  $\text{NaNO}_2$  + 25 ml 1 N HCl in 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ), na schudden wordt gedurende 5 minuten geïncubeerd in een waterbad van  $37^\circ \text{C}$ . Dan wordt 0,2 ml mercaptoethanoloplossing (1 ml 2-mercaptoethanol + 3 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) toegevoegd en 5 minuten in een waterbad van  $100^\circ \text{C}$  gezet. Uitschudden met 2 x 5 ml Etac. (schudden, centrifugeren, afzuigen) en aflezen van de waterfase tegen de blanco bij 590 nm levert de concentratie aan HIAA op.

$$\text{Berekening: } \frac{E}{E_{\text{st}}} \cdot \frac{\text{volume urine}}{5} \cdot \frac{50.60}{\text{aantal min.}} \implies \text{aantal } \mu\text{g/uur.}$$

#### 2.4 De bepaling van adrenaline en noradrenaline

Deze bepalingen werden verricht volgens een combinatie van verschillende methodes (28, 29). Zij berust hierop, dat beide componenten uit de urine worden afgescheiden door middel van adsorptie aan aluminiumoxyde (28). Daarna worden ze door middel van milde oxydatie met jodium overgevoerd in een fluorescerend hydroxy-indolderivaat. Dit derivaat is bijzonder instabiel en wordt gemakkelijk verder geoxydeerd door de luchtzuurstof. Ter stabilisering bleek het best te voldoen natriumsulfiet. Desondanks blijft de fluorescentie sterk veranderen in de tijd, zodat we dit laatste gedeelte hebben moeten mechaniseren, waardoor een constante reactietijd gegarandeerd werd. Door nu bij verschillende reactietijden en golflengten te meten, konden beide componenten apart worden bepaald. Ook hier weer werden alle bepalingen in duplo uitgevoerd.

##### 2.4.1 Analysevoorschrift

Aan 6 ml urine wordt toegevoegd 0,1 ml perchloorzuur 60% en 0,2 ml  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -oplossing; dit wordt met een tricine-oplossing (10,5 gr NaOH + 8,95 gr Tris + 12,5 gr  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  in 500 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) gebracht op pH 8,4. Het mengsel wordt dan gedurende 15 minuten geschud met 400 mg  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Na centrifugatie wordt de bovenstaande vloeistof verwijderd. De achterblijvende  $\text{Al}_2\text{O}_3$  wordt dan 4 x gewassen met 20 ml aqua dest. (pH  $\pm$  7, door aan  $\text{H}_2\text{O}$  enige druppels trisbuffer toe te voegen). Na de laatste keer wassen met water wordt met 5 ml 0,2 M azijnzuur geschud gedurende 15 minuten.



Na centrifugeren wordt het eluaat afgepipetteerd, waarna de  $Al_2O_3$  nog eens dezelfde bewerking ondergaat met 5 ml 0,2 M azijnzuur, echter nu wordt maar 5 minuten geschud. Beide eluaten worden samengevoegd (in de koude enkele dagen houdbaar).

Voor het mechanische deel van de bepaling wordt eerst nog 0,2 ml 5 N NaOH aan de 10 ml eluaat toegevoegd, omdat anders de buffer niet in staat is het eluaat op de juiste pH te brengen.

Het eluaat wordt nu onder twee verschillende omstandigheden gemeten, waarbij namelijk het adrenaline maximaal fluoresceert en waarbij dit voor het noradrenaline het geval is. Deze omstandigheden worden weergegeven in de "flowschema's" in figuur 3 en 4.

De bufferoplossing pH 4,4 is een McIlvaine-buffer, die bestaat uit 35,2 gr citroenzuur en 47,1 gr  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  opgelost in 3 liter water. De buffer pH 7,0 voor NA-max. is een fosfaatbuffer en bevat 53,7 gr  $Na_2HPO_4 \cdot 12 H_2O$  + 8,1 gr  $NaH_2PO_4 \cdot 1 H_2O$  opgelost in 3 liter water. De jodiumoplossing voor zowel A-max. als NA-max. bevat 15,0 gr KJ en 760 mg  $J_2$ , opgelost in 500 ml water.

De sulfietoplossing voor A-max. en NA-max. bevat 2,50 gr  $Na_2SO_3$  en 2,00 gr EDTA (titriplex II) in 100 ml water. Deze oplossing moet iedere dag vers gemaakt worden.

Zowel voor A-max. als NA-max. bepaalt men de blanco urine door in plaats van 10 M azijnzuur nu 5 N NaOH door de tube te pompen. Als standaardoplossingen gebruikt men oplossingen van 100 ng adrenaline of 100 ng noradrenalinebitartraat per ml 0,05 N azijnzuur.

Alle gebruikte water is aqua bidest. nagedestilleerd in kwarts.

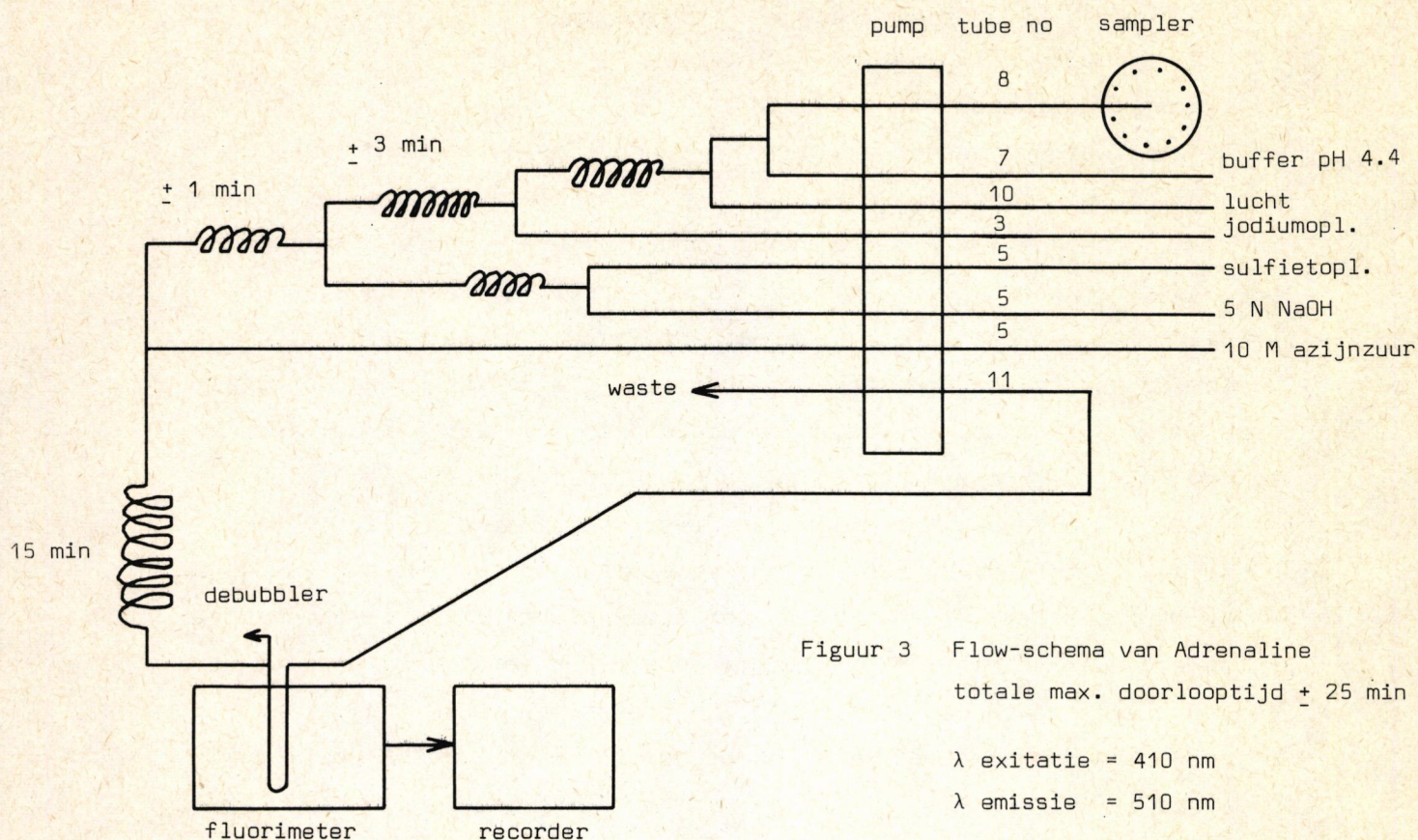
## 2.5 Bepaling van vanillylamandelzuur (VMA)

De zuren worden geëxtraheerd in zuur milieu met een organisch oplosmiddel. Het VMA wordt van de andere zuren gescheiden door middel van papierchromatografie en gekleurd met para-nitro-aniline. Vervolgens wordt het gekleurde complex geëluëerd en het gehalte wordt spectrofotometrisch bepaald.

### 2.5.1 Analysevoorschrift

In een reageerbuis met ingeslepen stop voegt men bij elkaar:

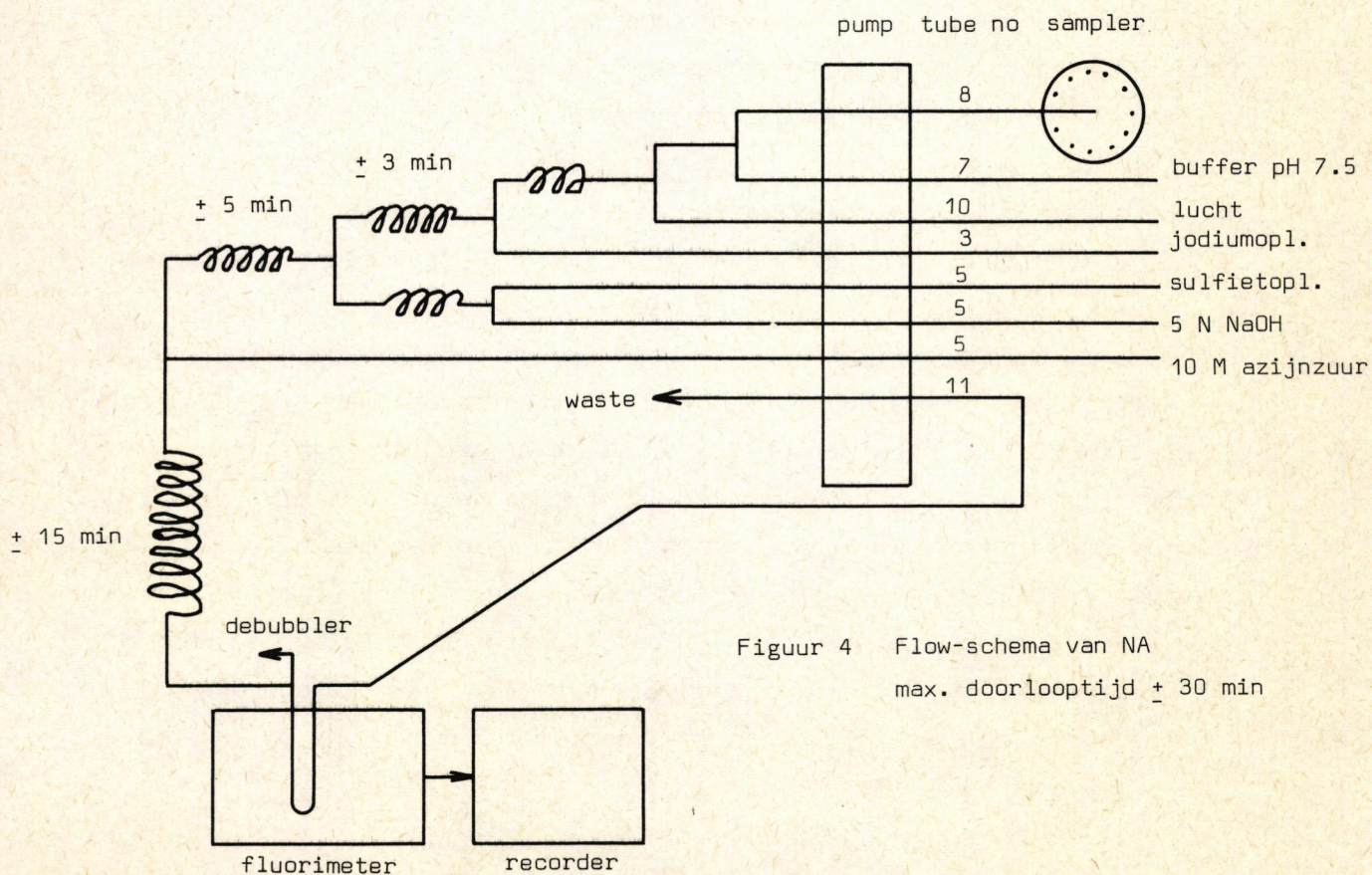




Figuur 3 Flow-schema van Adrenaline  
totale max. doorlooptijd  $\pm$  25 min

$\lambda$  excitatie = 410 nm

$\lambda$  emissie = 510 nm



Figuur 4 Flow-schema van NA  
max. doorlooptijd  $\pm$  30 min



5 ml urine

6 druppels geconcentreerd HCl

een schepje NaCl

10 ml ethylacetaat

Dit mengsel wordt ongeveer 2 minuten geschud. Daarna wordt de ethylacetaatlaag afgepipetteerd en nogmaals 10 ml ethylacetaat toegevoegd en weer 2 minuten geschud. De onderlaag wordt nu verwijderd en het ethylacetaatextract toegevoegd aan het eerste extract. De reageerbuis nog 2 x naspoelen met een beetje ethylacetaat en dit ook bij het extract voegen. De ethylacetaat extracten worden gedroogd met  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  en daarna drooggedampt op de rotavapor. Het extract oplossen in 1 ml 96% ethanol en hiermee het kolfje schoonmaken. Het extract weer droogdampen en nu oplossen in 0,2 ml 96% ethanol. Het maken van de stroken gaat als volgt:

Op een vel Whatman nr. 1 trekt men twee strepen op een afstand van 10 en 11 cm. in horizontale richting. In verticale richting trekt men nu strepen op een afstand van 1,8 en 1,0 cm. De stroken van 1,0 cm breedte worden eruit geknipt. Op de lijn van 11 cm brengt men nu 30  $\mu$  liter extract. Ook neemt men een standaard mee. De standaard bevat 2 mg VMA per 10 ml oplosmiddel.

Het klaarmaken van de tank:

Loopvloeistof: 250 ml chloroform + 50 ml methanol + 50 ml aqua bidest. + 1 ml mierzuur. Na goed schudden wordt de bovenlaag op de bodem van de tank gebracht. In de tank hangt men een vel filtreerpapier dat verzadigd is met de onderlaag. Als de stroken erin hangen, wordt 70 ml van de onderlaag in het bakje gedaan waarin de stroken hangen. Er wordt 16 uur ontwikkeld. Hierna worden de stroken gedroogd en bespoten met een 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -oplossing. De stroken worden gedurende een half uur in een droogstoof van ongeveer  $60^\circ\text{C}$  geplaatst en hierna bespoten met het kleurreagens dat op de volgende wijze is gemaakt:

2,5 ml 0,2% p. nitroaniline in 1 N HCl verdunnen met 25 ml 0,1 N HCl.

Dit mengsel wordt gedurende 5 minuten in het vriesvak van een koelkast geplaatst. Hierna voegt men er 0,5 ml 5%  $\text{NaNO}_2$  aan toe en het geheel wordt nog 3 minuten in het vriesvak gezet. Dan wordt er 5 ml 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bijgedaan en na omschudden kan men de stroken hiermee bespuiten. Het kleurreagens blijft ongeveer 3 à 4 minuten goed. Alle voor het kleurreagens gebruikte oplossingen zijn gekoeld tot een temperatuur van  $0-4^\circ\text{C}$ . Als de stroken droog zijn worden de vlekken eruit geknipt en gewogen. Dan in kleine stukjes geknipt en geëluëerd met 2 ml 2 N  $\text{NH}_4\text{OH}$  en 2 ml



butanol-1. Na schudden worden de oplossingen gecentrifugeerd. De butanol-laag wordt eraf gepipetteerd en gemeten op de Beckman bij 540 mμ. Een blanco bestaat uit een stukje blanco strook van de standaardstrook dat ook geëluëerd is.

Berekening:

Eerst wordt een correctie voor het papier berekend:

$$\frac{\text{gewicht vlek}}{\text{gewicht blanco}} \times \text{ext. blanco} = \text{corr.}$$

De correctie wordt afgetrokken van de extinctie van de bepaling. De laatste berekening is dan:

$$\frac{\text{ext. bepaling}}{\text{ext. stand.}} \times 20 \times \frac{20}{3} \times 6\gamma = \text{aantal } \gamma/100 \text{ ml urine.}$$



### 3. RESULTATEN

#### 3.1 Lijst van variabelen bepaald in de urines

De volgende variabelen werden bestudeerd:

- 1 = N = adrenaline
- 2 = NA = noradrenaline
- 3 = HMPE = hydroxy-methoxy-phenyl-ethanol
- 4 = HMPG = hydroxy-methoxy-phenylglycol
- 5 = DHPG = dihydroxyphenylglycol
- 6 = VMA = vanillylmandelic acid
- 7 = 5-HIAA = 5-hydroxyindol acetic acid

#### 3.2 Uitkomsten

De uitkomsten van de meting van de zeven variabelen worden hieronder weergegeven:

Tabel 2

| aard der bepaling |          |                                    |        |         |        |         |        |         |        |         |        |         |        |         |        |
|-------------------|----------|------------------------------------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|
|                   |          | 1                                  |        | 2       |        | 3       |        | 4       |        | 5       |        | 6       |        | 7       |        |
|                   |          | uitscheidingswaarden $\gamma$ /uur |        |         |        |         |        |         |        |         |        |         |        |         |        |
| datum             | pers.nr. | ochtend                            | middag | ochtend | middag | ochtend | middag | ochtend | middag | ochtend | middag | ochtend | middag | ochtend | middag |
| 0205              | 03       | 0,41                               | 0,23   | 2,16    | 2,03   | 9,8     | 10,2   | 136,0   | 133,4  | 19,7    | 23,5   | 249,9   | 159,4  | 90,6    | 95,9   |
|                   | 04       | 0,28                               | 0,07   | 1,09    | 0,82   | 35,6    | 10,2   | 92,1    | 93,1   | 30,9    | 15,7   | 193,9   | 225,0  | 114,4   | 112,9  |
|                   | 05       | 0,90                               | 0,85   | 1,97    | 1,57   | 7,6     | 12,1   | 86,5    | 102,1  | 12,6    | 24,4   | 197,0   | 170,5  | 94,9    | 101,0  |
|                   | 06       | 0,36                               | 0,68   | 0,90    | 1,34   | 5,3     | 12,3   | 44,7    | 72,2   | 13,1    | 15,0   | 91,0    | 196,8  |         | 52,2   |
|                   | 07       | 0,04                               | 0,33   | 0,66    | 1,84   | 7,0     | 13,6   | 29,7    | 100,0  | 6,1     | 15,5   | 53,6    | 158,3  | 36,8    | 294,4  |
|                   | 08       |                                    |        |         |        | 24,5    | 12,0   | 79,1    | 33,3   | 19,1    | 11,5   | 169,4   | 101,0  | 109,0   | 30,1   |
|                   | 12       | 0,31                               | 0,22   | 0,60    | 0,25   | 10,5    | 22,1   | 37,9    | 50,2   | 13,0    | 19,9   | 118,4   | 159,9  | 78,2    | 81,2   |
| 0405              | 01       | 0,40                               | 0,44   | 1,62    | 1,71   | 7,4     | 9,4    | 138,5   | 102,2  | 24,4    | 26,3   | 233,2   | 283,6  | 96,9    | 96,9   |
|                   | 02       | 0,44                               | 0,72   | 1,74    | 1,26   | 18,6    | 51,1   | 92,0    | 105,6  | 28,7    | 40,6   | 272,4   | 275,4  | 146,2   | 134,4  |
|                   | 03       | 0,42                               | 0,84   | 1,09    | 2,37   | 21,5    | 27,2   | 90,2    | 226,0  | 16,9    | 46,3   | 289,4   | 457,2  | 101,4   | 145,0  |
|                   | 04       | 0,63                               | 0,40   | 1,14    | 0,98   | 23,0    | 42,8   | 93,5    | 74,4   | 40,7    | 22,5   | 278,6   | 204,7  | 134,3   | 98,3   |
|                   | 05       | 0,62                               | 0,43   | 1,64    | 0,78   | 10,1    | 9,1    | 113,3   | 128,3  | 14,7    | 45,5   | 236,2   | 273,0  | 110,3   | 93,5   |
|                   | 06       | 1,26                               | 0,96   | 0,82    | 0,62   | 9,9     | 33,8   | 87,1    | 101,0  | 31,2    | 28,0   | 195,8   | 180,8  | 78,4    | 61,8   |
|                   | 07       | 0,30                               | 0,36   | 0,68    | 0,77   | 39,8    | 39,9   | 126,3   | 132,8  | 24,7    | 36,6   | 151,7   | 133,6  | 82,6    | 92,0   |
|                   | 08       | 0,46                               | 0,28   | 2,41    | 1,25   | 18,7    | 13,2   | 72,6    | 81,1   | 20,8    | 16,1   | 255,7   | 152,6  | 132,5   | 71,3   |
|                   | 09       | 0,59                               | 0,60   | 2,55    | 2,46   | 50,7    | 37,3   | 110,2   | 85,0   | 80,9    | 43,7   | 243,7   | 205,0  | 139,3   | 128,0  |
|                   | 10       | 0,53                               | 0,64   | 1,67    | 1,31   | 14,4    | 19,6   | 87,4    | 91,6   | 30,4    | 30,2   | 249,2   | 225,9  | 142,4   | 133,3  |
|                   | 11       | 0,93                               | 1,08   | 1,57    | 1,61   | 20,9    | 29,0   | 111,5   | 140,8  | 23,8    | 28,4   | 191,1   | 203,4  | 96,9    | 36,5   |
|                   | 12       | 0,48                               | 0,29   | 0,74    | 1,06   | 26,1    | 18,9   | 86,4    | 88,7   | 22,1    | 26,7   | 133,2   | 111,1  | 106,0   | 159,4  |



Tabel 2 (vervolg)

| aard der bepaling          |          |         |       |         |       |         |       |         |       |         |       |         |       |         |       |  |
|----------------------------|----------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|--|
| 1                          |          |         | 2     |         |       | 3       |       | 4       |       | 5       |       | 6       |       | 7       |       |  |
| uitscheidingswaarden γ/uur |          |         |       |         |       |         |       |         |       |         |       |         |       |         |       |  |
| datum                      | pers.nr. | ochtend | midag | ochtend | midag | ochtend | midag | ochtend | midag | ochtend | midag | ochtend | midag | ochtend | midag |  |
| 0805                       | 01       | 0,78    | 0,72  | 1,32    | 1,08  | 11,7    | 16,0  | 77,7    | 105,8 | 27,8    | 31,7  | 209,5   | 456,6 | 80,8    | 89,3  |  |
|                            | 02       | 0,60    | 0,62  | 1,68    | 1,08  | 14,7    | 15,3  | 96,2    | 84,0  | 28,4    | 22,6  | 274,4   | 234,2 | 92,0    | 70,1  |  |
|                            | 03       | 0,27    | 0,55  | 2,02    | 1,99  | 15,6    | 19,7  | 127,6   | 112,3 | 17,1    | 12,8  | 297,9   | 208,3 | 121,9   | 450,0 |  |
|                            | 04       | 0,25    | 0,33  | 1,71    | 1,31  | 33,8    | 24,4  | 75,4    | 95,0  | 27,5    | 19,3  | 260,3   | 186,0 | 105,1   | 329,4 |  |
|                            | 05       | 0,97    | 0,42  | 1,84    | 0,89  | 16,1    | 19,1  | 86,2    | 100,8 | 24,6    | 26,2  | 171,3   | 249,0 | 129,6   | 141,2 |  |
|                            | 06       | 0,70    | 0,29  | 1,27    | 0,86  | 19,4    | 22,9  | 77,2    | 112,8 | 11,2    | 20,1  | 189,5   | 127,4 | 90,7    | 75,0  |  |
|                            | 07       | 1,22    | 0,79  | 1,69    | 1,20  | 25,7    | 36,4  | 102,1   | 116,5 | 18,6    | 26,0  | 162,5   | 219,2 | 140,4   | 112,9 |  |
|                            | 08       | 0,87    | 0,60  | 1,71    | 2,69  | 35,4    | 38,3  | 142,9   | 156,9 | 33,2    | 52,8  | 364,7   | 336,5 | 163,4   | 142,8 |  |
|                            | 11       | 1,29    | 0,87  | 1,59    | 1,22  | 26,2    | 25,2  | 122,4   | 101,5 | 22,9    | 17,3  | 193,2   | 232,4 | 182,8   | 154,1 |  |
|                            | 12       | 1,01    | 0,41  | 1,13    | 0,53  | 60,9    | 35,3  | 106,3   | 83,8  | 21,8    | 18,7  | 107,2   | 70,3  | 135,8   | 68,0  |  |
|                            | 14       | 1,01    | 0,69  | 1,67    | 1,23  | 22,1    | 18,5  | 81,4    | 125,2 | 32,9    | 31,8  | 363,9   | 324,1 | 142,8   | 136,7 |  |
|                            | 15       | 0,55    | 0,76  | 2,06    | 1,64  | 10,4    | 14,2  | 89,2    | 97,4  | 26,5    | 20,1  | 162,6   | 300,0 | 94,1    | 132,7 |  |
| 1005                       | 03       | 0,77    | 0,74  | 1,45    | 2,17  | 45,3    | 26,2  | 189,9   | 126,1 | 46,1    | 20,1  | 214,2   | 216,8 | 99,1    | 83,4  |  |
|                            | 05       |         |       |         |       | 10,4    | 25,8  | 101,1   | 94,5  | 22,3    | 25,4  | 201,2   | 173,6 | 127,3   | 143,6 |  |
|                            | 06       | 0,68    | 0,67  | 0,55    | 0,82  | 11,4    | 13,9  | 59,5    | 111,1 | 25,1    | 21,1  | 148,6   | 257,8 | 66,1    | 76,0  |  |
|                            | 07       | 0,64    | 0,29  | 1,19    | 1,34  | 19,3    | 32,8  | 69,4    | 98,2  | 11,5    | 27,2  | 152,2   | 177,7 | 94,1    | 295,9 |  |
|                            | 08       | 0,17    | 0,71  | 1,06    | 1,84  | 36,9    | 24,8  | 69,7    | 86,5  | 24,6    | 15,9  | 114,4   | 280,0 | 60,4    | 140,0 |  |
|                            | 10       | 0,48    | 0,29  | 1,67    | 0,92  | 12,4    | 21,4  | 93,8    | 127,2 | 20,1    | 84,5  | 301,7   | 343,1 | 121,0   | 143,0 |  |
|                            | 11       | 0,20    | 0,21  | 2,14    | 3,25  | 30,1    | 32,4  | 195,8   | 156,3 | 21,5    | 23,4  | 223,1   | 269,1 | 138,5   | 143,3 |  |
|                            | 12       | 0,39    |       | 0,82    |       | 39,3    | 28,6  | 86,9    | 96,6  | 26,5    | 41,9  | 99,6    |       | 117,5   | 183,7 |  |
|                            | 13       | 0,17    | 0,44  | 0,78    | 1,57  | 41,0    | 27,1  | 80,8    | 103,3 | 24,8    | 25,0  | 156,0   | 254,8 | 84,2    | 525,9 |  |
|                            | 14       | 0,72    | 0,44  | 1,34    | 2,18  | 24,9    | 38,5  | 71,7    | 101,1 | 35,7    | 35,5  | 344,0   | 422,0 | 90,5    | 166,5 |  |
|                            | 15       | 1,18    | 1,23  | 2,21    | 1,82  | 22,7    | 27,4  | 117,5   | 95,5  | 26,3    | 39,2  | 251,4   | 287,0 | 128,7   | 135,0 |  |
|                            | 16       | 0,09    |       | 1,24    |       | 11,3    | 20,6  | 96,7    | 138,3 | 15,4    | 21,4  | 117,5   | 233,7 | 49,7    | 77,9  |  |
| 1505                       | 04       | 0,30    | 0,47  | 1,24    | 1,15  | 59,8    | 23,2  | 91,3    | 94,2  | 26,8    | 31,0  | 161,9   | 183,3 | 112,1   | 119,2 |  |
|                            | 05       | 0,29    | 0,67  | 1,25    | 1,67  | 19,9    | 26,5  | 164,6   | 110,9 | 31,8    | 24,4  | 154,4   | 183,7 | 122,7   | 112,2 |  |
|                            | 06       | 0,52    | 0,37  | 1,24    | 1,02  | 16,6    | 16,6  | 100,1   | 107,9 | 14,9    | 18,8  | 212,9   | 159,3 | 103,1   | 85,9  |  |
|                            | 07       | 0,23    | 0,30  | 1,84    | 1,21  | 15,5    | 15,4  | 97,6    | 64,9  | 19,7    | 12,0  | 132,1   | 175,7 | 107,0   | 513,7 |  |
|                            | 08       | 0,98    | 0,59  | 1,57    | 0,45  | 47,9    | 16,7  | 109,9   | 38,2  | 25,4    | 10,5  | 333,2   | 102,6 | 437,1   | 47,9  |  |
|                            | 09       | 0,77    | 0,69  | 1,09    | 1,04  | 37,0    | 36,9  | 63,6    | 83,5  | 19,3    | 27,9  | 178,5   | 148,3 | 94,5    | 108,9 |  |
|                            | 10       | 0,38    | 0,91  | 2,46    | 1,98  | 10,2    | 17,0  | 84,4    | 100,3 | 33,5    | 20,8  | 271,5   | 263,3 | 135,4   | 116,2 |  |
|                            | 12       | 0,60    | 1,22  | 0,79    | 1,15  | 24,9    | 37,7  | 107,4   | 85,8  | 26,1    | 36,7  | 110,8   | 136,6 | 112,1   | 136,3 |  |
|                            | 13       |         |       |         |       | 12,7    | 28,7  | 68,4    | 101,1 | 11,0    | 17,9  | 235,4   | 233,7 | 85,9    | 383,2 |  |
|                            | 14       | 0,59    | 0,57  | 1,53    | 2,46  | 31,5    | 67,8  | 60,3    | 163,2 | 19,3    | 31,2  | 265,4   | 347,0 | 97,6    | 170,2 |  |
|                            | 15       | 0,36    | 0,51  | 2,63    | 1,66  | 26,6    | 46,6  | 123,3   | 91,9  | 27,2    | 34,4  | 245,7   | 264,8 | 125,4   | 136,2 |  |
|                            | 16       | 0,17    | 0,56  | 0,95    | 2,02  | 11,1    | 20,8  | 72,3    | 106,7 | 22,3    | 30,1  | 150,1   | 193,3 | 75,2    | 90,4  |  |
|                            | 17       | 0,52    | 0,73  | 0,74    | 0,79  | 20,2    | 14,2  | 64,8    | 57,7  | 26,9    | 9,6   | 217,6   | 108,9 | 83,4    | 39,6  |  |
|                            | 18       |         |       |         |       | 15,3    | 19,9  | 135,2   | 113,5 | 15,8    | 7,7   | 166,5   | 109,5 | 90,3    | 32,0  |  |
| 1705                       | 04       | 0,09    | 0,23  | 0,75    | 0,42  | 37,7    | 22,4  | 96,2    | 95,2  | 42,8    | 54,2  | 294,6   | 306,7 | 128,7   | 122,5 |  |
|                            | 06       | 0,75    | 0,29  | 1,86    | 1,40  | 8,3     | 6,5   | 81,6    | 71,0  | 14,9    | 16,0  | 232,1   | 188,8 | 111,4   | 67,8  |  |
|                            | 07       | 0,14    |       | 0,68    |       | 17,2    |       | 46,0    |       | 7,7     |       | 46,4    |       | 225,3   |       |  |
|                            | 08       | 0,54    | 0,36  | 0,50    | 1,12  | 15,5    | 19,4  | 95,1    | 85,6  | 17,0    | 16,9  | 109,2   | 124,6 | 72,6    | 70,1  |  |
|                            | 10       | 0,72    | 1,20  | 1,97    | 1,75  | 27,3    | 20,2  | 79,5    | 98,9  | 28,1    | 40,5  | 258,2   | 333,4 | 155,7   | 160,2 |  |
|                            | 12       | 0,86    | 0,63  | 0,73    | 0,46  | 30,5    | 47,2  | 90,7    | 112,3 | 37,9    | 23,1  | 177,9   | 186,3 | 144,7   | 111,9 |  |
|                            | 13       | 0,09    | 0,16  | 0,53    | 1,44  | 22,3    | 16,0  | 96,5    | 88,4  | 22,4    | 18,0  | 213,3   | 283,9 | 93,9    | 317,5 |  |
|                            | 14       | 0,21    | 0,81  | 1,74    | 1,73  | 40,4    | 19,0  | 71,1    | 106,7 | 22,4    | 38,9  | 282,5   | 692,6 | 131,2   | 164,0 |  |
|                            | 15       | 0,30    | 0,86  | 2,93    | 2,72  | 36,3    | 51,8  | 114,4   | 157,0 | 30,8    | 46,2  | 237,5   | 320,8 | 111,8   | 113,2 |  |
|                            | 16       |         | 1,18  |         | 4,02  |         | 31,0  |         | 98,6  |         | 30,4  |         | 211,8 |         | 114,5 |  |
|                            | 17       |         |       |         |       | 5,3     |       | 17,5    |       | 5,3     |       | 56,4    |       | 13,5    |       |  |
|                            | 19       | 0,86    | 1,02  | 1,19    | 1,09  | 40,2    | 28,6  | 82,4    | 106,2 | 37,2    | 34,0  | 208,4   | 236,5 | 149,2   | 122,5 |  |



#### 4. STATISTISCHE ANALYSE

De statistische analyse<sup>\*)</sup> werd uitgevoerd op de gegevens, zoals weergegeven in tabel 3.

Tabel 3

| per-<br>soon | dagen |    |   |   |   |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | to-<br>taal |
|--------------|-------|----|---|---|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------------|
|              | 2     | 4  | 5 | 6 | 7 | 8  | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |    |             |
| 1            |       | 1  |   |   |   | 1  |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2  |             |
| 2            |       | 1  |   |   |   | 1  |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2  |             |
| 3            | 1     | 1  |   |   |   | 1  |   | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    | 4  |             |
| 4            | 1     | 1  |   |   |   | 1  |   |    |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 5  |             |
| 5            | 1     | 1  |   |   |   | 1  |   | 1  |    |    |    |    | 1  |    |    |    | 5  |             |
| 6            | 1     | 1  |   |   |   | 1  |   | 1  |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 6  |             |
| 7            | 1     | 1  |   |   |   | 1  |   |    |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 6  |             |
| 8            | 1     | 1  |   |   |   | 1  |   | 1  |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 6  |             |
| 9            |       | 1  |   |   |   |    |   |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    | 2  |             |
| 10           |       | 1  |   |   |   |    |   | 1  |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 4  |             |
| 11           |       | 1  |   |   |   | 1  |   | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    | 3  |             |
| 12           |       | 1  |   |   |   | 1  |   | 1  |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 5  |             |
| 13           |       |    |   |   |   |    |   | 1  |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 3  |             |
| 14           |       |    |   |   |   | 1  |   | 1  |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 4  |             |
| 15           |       |    |   |   |   | 1  |   | 1  |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 4  |             |
| 16           |       |    |   |   |   |    |   | 1  |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 3  |             |
| 17           |       |    |   |   |   |    |   |    |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 2  |             |
| 18           |       |    |   |   |   |    |   |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    | 1  |             |
| 19           |       |    |   |   |   |    |   |    |    |    |    |    |    |    | 1  |    | 1  |             |
| totaal       | 6     | 12 |   |   |   | 12 |   | 12 |    |    |    |    | 14 |    | 12 |    | 68 |             |

Hierin is aangegeven bij welke proefpersonen op welke dagen werd gesampled. De voorlaatste rij geeft het aantal urinesamples, dat per proefpersoon werd verkregen. De laatste rij geeft aan welke gegevens voor de statistische analyse hierna werden gekozen.

In tabel 4 zijn voor de zeven variabelen (zie lijst 3.1) de gemiddelde

<sup>\*)</sup> door P. van Leeuwen, afd. Statistiek NIPG/TNO



waarden weergegeven. Daaronder staan de correlatiecoëfficiënten van de ochtend- en middag-waarden over de dagen per proefpersoon en over de personen per dag. In het onderste gedeelte van tabel 4 zijn de verschillen tussen ochtend- en middag-waarden weergegeven en tenslotte het aantal + en - tekens per rij verschillen. Alleen voor variabele 5 geldt een significant verschil met een toevalskans van 1 op 10.

In tabel 5 zijn de correlatiecoëfficiënten weergegeven naar de personen per dag volgens de dagen per persoon.

Uit de tabellen 2, 4 en 5 blijkt dat de individuele variabiliteit hoog is. De metingen op één dag leveren grote verschillen, er is een grote spreiding.

Uit de correlaties tussen ochtend- en middag-waarden blijken binnen de personen grotere verschillen te bestaan dan binnen de dagen. Bepaalde variabelen hangen samen, vertonen een interne correlatie.



| persoon          | n | variabele 1 |      | variabele 2 |       | variabele 3 |       | variabele 4 |      | variabele 5 |       | variabele 6 |      | variabele 7 |      |
|------------------|---|-------------|------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|------|-------------|-------|-------------|------|-------------|------|
|                  |   | O           | M    | O           | M     | O           | M     | O           | M    | O           | M     | O           | M    | O           | M    |
| 1                |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
| 2                |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
| 3                | 4 | 46,8        | 59,0 | 168,0       | 214,0 | 230,5       | 208,3 | 1359        | 1494 | 249,5       | 256,8 | 2628        | 2604 | 1032        | 1935 |
| 4                | 5 | 31,0        | 30,0 | 118,6       | 93,6  | 379,8       | 246,0 | 897         | 904  | 337,4       | 285,4 | 2379        | 2211 | 1189        | 1564 |
| 5                | 4 | 69,5        | 59,3 | 167,5       | 122,8 | 134,3       | 167,0 | 1126        | 1105 | 209,3       | 301,3 | 1897        | 2191 | 1144        | 1120 |
| 6                | 5 | 78,2        | 51,6 | 114,8       | 94,4  | 131,2       | 187,4 | 811         | 1007 | 194,6       | 208,0 | 1958        | 1828 | 899         | 733  |
| 7                | 5 | 48,6        | 41,4 | 121,2       | 127,2 | 214,6       | 276,2 | 850         | 1024 | 161,2       | 234,6 | 1304        | 1729 | 922         | 2618 |
| 8                | 5 | 60,4        | 50,8 | 145,0       | 147,0 | 308,8       | 224,8 | 980         | 897  | 242,0       | 224,4 | 2354        | 1993 | 1732        | 944  |
| 9                |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
| 10               | 4 | 52,8        | 76,0 | 194,3       | 149,0 | 160,8       | 195,5 | 862         | 1045 | 280,3       | 440,0 | 2702        | 2914 | 1386        | 1381 |
| 11               | 3 | 80,7        | 72,0 | 176,7       | 202,7 | 257,3       | 288,7 | 1432        | 1329 | 227,3       | 230,3 | 2025        | 2350 | 1394        | 1113 |
| 12               | 5 | 65,2        | 55,4 | 79,8        | 69,0  | 305,8       | 322,4 | 867         | 841  | 241,8       | 250,2 | 1295        | 1328 | 1154        | 1114 |
| 13               |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
| 14               | 4 | 63,3        | 62,8 | 157,0       | 190,0 | 297,3       | 359,5 | 711         | 1240 | 275,8       | 343,5 | 3140        | 4464 | 1155        | 1594 |
| 15               | 4 | 59,8        | 84,0 | 245,8       | 196,0 | 240,0       | 350,0 | 1111        | 1104 | 277,0       | 349,8 | 2243        | 2932 | 1150        | 1293 |
| 16               |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
| 17               |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
| 18               |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
| 19               |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
| over dagen/p.p.  |   | +0,45       |      | +0,24       |       | +0,32       |       | +0,11       |      | 0,05        |       | +0,11       |      | -0,05       |      |
| over pers./p.dag |   | +0,51       |      | +0,55       |       | +0,38       |       | +0,30       |      | +0,16       |       | +0,48       |      | -0,12       |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |
|                  |   |             |      |             |       |             |       |             |      |             |       |             |      |             |      |



Tabel 5

| dagen<br>për<br>persoon | personen / per dag |           |            |            |            |           |            |            |            |            |           |           |           |            |
|-------------------------|--------------------|-----------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|------------|
|                         | 1 - 2              |           | 3 - 4      |            | 5 - 6      |           | 7 - 8      |            | 9 - 10     |            | 11 - 12   |           | 13 - 14   |            |
| 1                       | <u>51</u>          |           | 04         | <u>-24</u> | 00         | 15        | 01         | -09        | 07         | 00         | 06        | -18       | <u>34</u> | <u>-47</u> |
| +                       |                    |           |            |            |            |           |            |            |            |            |           |           |           |            |
| 2                       | <u>45</u>          |           | 19         | 19         | -04        | 16        | 00         | 17         | 16         | 15         | 03        | <u>23</u> | 07        | <u>-22</u> |
| 3                       | 04                 | -15       |            | <u>55</u>  | -04        | 05        | 33         | 15         | 20         | 20         | <u>47</u> | <u>27</u> | <u>27</u> | -01        |
| +                       |                    |           |            |            |            |           |            |            |            |            |           |           |           |            |
| 4                       | <u>-34</u>         | 04        | <u>24</u>  |            | 01         | <u>23</u> | <u>37</u>  | <u>58</u>  | 15         | 14         | <u>29</u> | <u>40</u> | -10       | 16         |
| 5                       | 14                 | 18        | 07         | 05         |            | <u>38</u> | 19         | 00         | <u>43</u>  | 6          | 00        | -09       | <u>33</u> | -01        |
| +                       |                    |           |            |            |            |           |            |            |            |            |           |           |           |            |
| 6                       | 17                 | <u>20</u> | -07        | <u>30</u>  | <u>52</u>  |           | 05         | <u>33</u>  | <u>22</u>  | <u>28</u>  | 03        | 06        | 00        | 00         |
| 7                       | 08                 | -03       | +14        | 19         | <u>50</u>  | <u>31</u> |            | <u>30</u>  | <u>23</u>  | 05         | 16        | -09       | <u>26</u> | -11        |
| +                       |                    |           |            |            |            |           |            |            |            |            |           |           |           |            |
| 8                       | -08                | 08        | -16        | <u>43</u>  | 17         | <u>50</u> | 11         |            | -13        | <u>44</u>  | <u>22</u> | <u>43</u> | -19       | 02         |
| 9                       | <u>30</u>          | <u>31</u> | -12        | -02        | <u>29</u>  | <u>34</u> | <u>56</u>  | 03         |            | 16         | <u>26</u> | 06        | 18        | -13        |
| +                       |                    |           |            |            |            |           |            |            |            |            |           |           |           |            |
| 10                      | 03                 | 03        | <u>-22</u> | 03         | 13         | <u>29</u> | 19         | <u>61</u>  | 05         |            | <u>38</u> | <u>46</u> | 02        | -12        |
| 11                      | <u>31</u>          | -05       | <u>41</u>  | -04        | 02         | 16        | <u>29</u>  | 15         | <u>20</u>  | <u>38</u>  |           | <u>48</u> | <u>44</u> | -47        |
| +                       |                    |           |            |            |            |           |            |            |            |            |           |           |           |            |
| 12                      | -19                | 19        | -14        | 19         | 07         | 00        | -11        | <u>39</u>  | 03         | <u>50</u>  | 11        |           | -05       | +05        |
| 13                      | <u>39</u>          | 10        | <u>+28</u> | <u>-33</u> | <u>36</u>  | -01       | <u>+28</u> | <u>-27</u> | 16         | -10        | <u>57</u> | -12       |           | -12        |
| +                       |                    |           |            |            |            |           |            |            |            |            |           |           |           |            |
| 14                      | <u>-28</u>         | -10       | <u>+24</u> | <u>21</u>  | <u>-24</u> | -15       | -15        | <u>-22</u> | <u>-22</u> | <u>-10</u> | 04        | 05        | -05       |            |

Critieke waarde voor personen/per dag

$r = 0,32$ ,  $df = 37$  bij eenzijdige toetsing en

$r = 0,27$  bij tweezijdige toetsing

Controlewaarde voor dagen/per persoon

resp.  $0,27$  en  $0,22$ ,  $df = 52$



## 5. CONCLUSIES

Uit deze niet-uitputtende globale statistische analyse blijkt dat er geen duidelijke systematische significante verschillen tussen ochtend- en middag-waarden van de geobserveerde monoamine variabelen bestaan. Het ontbreken van verschillen tussen de ochtend en middag in deze vorm maakt het onmogelijk een zekere uitspraak te doen over verschillen in "vermoeidheid" die zouden bestaan bij het ponstypistewerk, zoals dat in het Codeercentrum te Den Haag (cdcGv) werd uitgevoerd.

Deze variabelen geven op deze wijze verkregen, geen duidelijke signalering van verschillen, zoals die in de literatuur werden beschreven tijdens gevechtstoestanden en landingen van vliegers op een vliegkampschip. Voor de werkomstandigheden, zoals bij de codeersters, lijkt deze methode weinig duidelijke verschillen op te leveren.



# REFERENTIES

- 1) CANNON, W.B. & D. DE LA PAZ. Emotional stimulation of adrenal secretion. *Amer.J.Physiol.* 27 (1911) 64
- 2) CANNON, W.B., A.T. SHOHL & W.S. WRIGHT. Emotional glycosuria. *Amer.J.Physiol.* 29 (1911) 280
- 3) CANNON, W.B. Bodily changes in pain, hunger, fear and rage. Brandford, Boston 1953
- 4) SELYE, H. The physiology and pathology of exposure to stress. ACTA Inc.Med.Publ., Montreal 1950
- 5) EULER, U.S. VON. Quantitation of stress by catecholamine analysis. *Clin.Pharmacol.Ther.* 5 (1964) 398
- 6) MASON, J.W. A review of psychoendocrine research on the sympathetic-adrenal medullary system. *Psychosom.Med.* 30 (1968) 631
- 7) LEVI, L. The urinary output of adrenaline and noradrenaline during different experimentally induced pleasant and unpleasant emotional states. *J.psychosom.Res.* 8 (1964) 197
- 8) LEVI, L. In: Psychosomatics in essential hypertension, ed. M. Koster e.a. *Bibl.psychiat.* no. 144, Karger, Basel 1970  
Emotional stress and sympatho-adrenomedullary and related physiological reactions with particular reference to cardiovascular pathology
- 9) FRANKENHAUSER, M. Catecholamines and behaviour. *Brain Res.* 24 (1970) 541
- 10) FRANKENHAUSER, M. Behaviour and circulating catecholamines. *Brain Res.* 31 (1971) 241
- 11) BIRKE, G., L.A. CARLSON, U.S. VON EULER, S.O. LILJEDAHL & L.O. PLANTIN. Studies on burns XII. *Acta Chir.Scand.* 138 (1972) 321
- 12) FRANKENHAUSER, M., B. NORDHEDEN, A.L. MYRSTEN & B. POST. Psycho-physiological reactions to understimulation and overstimulation. *Acta Psychologica* 35 (1971) 298
- 13) FRANKENHAUSER, M., & A. RISSLER. Catecholamine output during relaxation and anticipation. *Perc.Motor Skills* 30 (1979) 745
- 14) JOHANSSON, G., M. FRANKENHAUSER & D. MAGNUSSON. Catecholamine output in schoolchildren as related to performance and adjustment. *Scand.J.Psychol.* 14 (1973) 20
- 15) LAMBERT, W.W., G. JOHANSSON, M. FRANKENHAUSER & I. KLOCHENBERG-LARSSON. Catecholamine excretion in young children and their parents as related to behaviour. *Scand.J.Psychol.* 10 (1969) 306
- 16) LEVI, L. Physical and mental stress reactions during experimental conditions simulating combat. *Forsvarmedizin* 2 (1966) 3



- 17) PATKAI, P. The diurnal rythm of adrenaline secretion in subjects with different working habits. *Acta physiol.Scand.* 81 (1971) 30
- 18) STONE, E.A. Accumulation and metabolism of norepinephrine in rat hypothalamus after exhaustive stress. *J.Neurochem.* 21 (1973) 589
- 19) MODIGH, K. Effects of social stress on the turnover of brain catecholamines and 5-hydroxytryptamine in mice. *Acta pharmacol. toxicol.* 34 (1974) 97
- 20) CHASE, T.N., E.K. GORDON & L.K. YNG. Norepinephrine metabolism in the central nervous system of man; studies using 3-methoxy-4 hydroxyphenylethylene glycol levels in cerebrospinal fluid. *J.Neurochem.* 21 (1973) 581
- 21) WILK, S. e.a. Determination of MHPG in cerebrospinal fluid. *Anal. Biochem.* 39 (1971) 498
- 22) MAAS, J.W., & D.H. LANDIS. A technique for assaying the kinetics of morepinephrine metabolism in the central nervous system in vivo. *Psychosom.Med.* 28 (1966) 247
- 23) MAAS, J.W., & D.H. LANDIS. In vivo studies of the metabolism of norepinephrine in the central nervous system. *J.Pharmacol.Exptl.Therap.* 163 (1968) 147
- 24) SCHANBERG, S.M., J.J. SCHILDKRAUT, G.R. BREESE & I.J. KOPIN. Metabolism of normetanephrine -H<sup>3</sup> in rat brain. *Biochem.Pharmacol.* 17 (1968) 247
- 25) DEKIRMENJIAN, H. & J.W. MAAS. An improved procedure of 3-methoxy-4-hydroxyphenyl-ethylene glycol determination by gas-liquid chromatography. *Anal.Biochem.* 35 (1970) 113
- 26) SLOB, A., & I. LUTEYN. Glass capillary gas chromatography in bioanalysis; some practical aspects. *Pharm.Weekbl.* 109 (1974) 901
- 27) GOLDENBERG, H. Specific photometric determination of 5-hydroxyindoleacetic acid in urine. *Clin.Chem.* 19 (1973) 38
- 28) GRIFFITHS, J., F.Y.T. LEUNG & T.J. McDONALD. Fluorimetric determination of plasma catecholamines; normal human epinephrine and norepinephrine levels. *Clin.Chim.Acta* 30 (1970) 395
- 29) LAVERTY, R., & T.K.M. TAYLOR. The fluorometric assay of catecholamines and related compounds; improvements and extensions to the hydroxyindole technique. *Anal.Biochem.* 22 (1967) 269