

УДК 577.1:577.3:577.117:577.121:577.13

©Сирота

## **НОВЫЙ ПОДХОД В ИССЛЕДОВАНИИ РЕАКЦИИ АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА: ВОЗМОЖНОСТЬ ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ РАЗЛИЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

*Т.В. Сирота*

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и  
экспериментальной биофизики РАН, ул. Институтская 3, г. Пущино, 142290,  
Московская область; тел.: 8-4967-739170; эл. почта: sirotatv@rambler.ru

Реакция автоокисления адреналина в щелочном карбонатном буфере, связанная с образованием супероксидных радикалов и адrenoхрома (продукта его окисления) и моделирующая хиноидный путь превращения адреналина, сопровождается потреблением кислорода. Данная реакция может использоваться для полярографического определения активности супероксиддисмутазы и выявления антиоксидантных свойств биологических материалов и химических веществ по таким параметрам как: величина латентного периода и скорость потребления кислорода, определяемых в присутствии исследуемых соединений.

Сделано предположение, что известная нейро- и кардиотоксичность хиноидных продуктов окисления адреналина может быть связана не только с их “собственными” свойствами и образующимися активными формами кислорода (АФК), но и с локальной гипоксией тех участков клетки и ткани, где происходит хиноидное окисление адреналина.

**Ключевые слова:** адреналин, адrenoхром, супероксид, кислород, полярография, супероксиддисмутаза.

**ВВЕДЕНИЕ.** Адреналин - гормон, участвующий в регуляции многочисленных функций организма, вырабатываемый хромоаффинной тканью мозгового слоя надпочечников, метаболизируется, как и другие катехоламины, несколькими путями. Основные пути его превращения – о-метилирование с образованием метанефрина и окислительное дезаминирование с участием моноаминоксидазы. Кроме того, в определенных условиях, окисление адреналина может происходить по так называемому хиноидному пути с образованием хинонов до адrenoхрома [1-5] (рис. 1). Специфические ферменты этого пути окисления адреналина не выявлены, но образующиеся продукты идентифицированы, и известны ферменты их утилизирующие [3-7]. Удаление продуктов хиноидного окисления адреналина и других аминохромов происходит с участием ферментов глутатион-S-трансферазы [3, 4] и хинонредуктаз [5]. Такой адреналиновый тест может использоваться для анализа активности эпоксид гидролаз, липаз, эстераз [6] и ксантиноксидазы [7]. Согласно химической структуре и, соответственно своим свойствам, адреналин является донором электронов [8] и эта его функция реализуется именно в процессе хиноидного окисления. Окисление адреналина до адrenoхрома происходит в результате внутримолекулярных перестроек молекулы адреналина путём дегидрирования и циклизации с образованием промежуточных продуктов, таких как радикал семихинон, адреналинхинон и др. [9, 10] (рис. 1). Этот процесс сопровождается, как известно, одноэлектронным

## АВТООКИСЛЕНИЕ АДРЕНАЛИНА И ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОД

восстановлением кислорода и, таким образом, связан с образованием супероксидных радикалов ( $O_2^{\cdot-}$ ): высвобождающийся электрон восстанавливает растворенный в среде кислород [9-14]. Описанный много лет назад хиноидный путь окисления адреналина в настоящее время активно обсуждается в литературе именно в связи с его способностью генерировать активные формы кислорода (АФК). Интерес к этой теме обусловлен также и тем, что продукты окисления адреналина, белки-хиноны (quinoproteins), глутатионовые конъюгаты адреналина и адренохрома (GSH adduct) влияют на редокс состояние клетки и ткани [15-18]. Их действие обусловлено, вероятно, участием в митохондриальных процессах [18, 19], в регуляции NO-зависимой гуанилатциклазы [20] и регуляции функционирования тиреоидных гормонов [21].

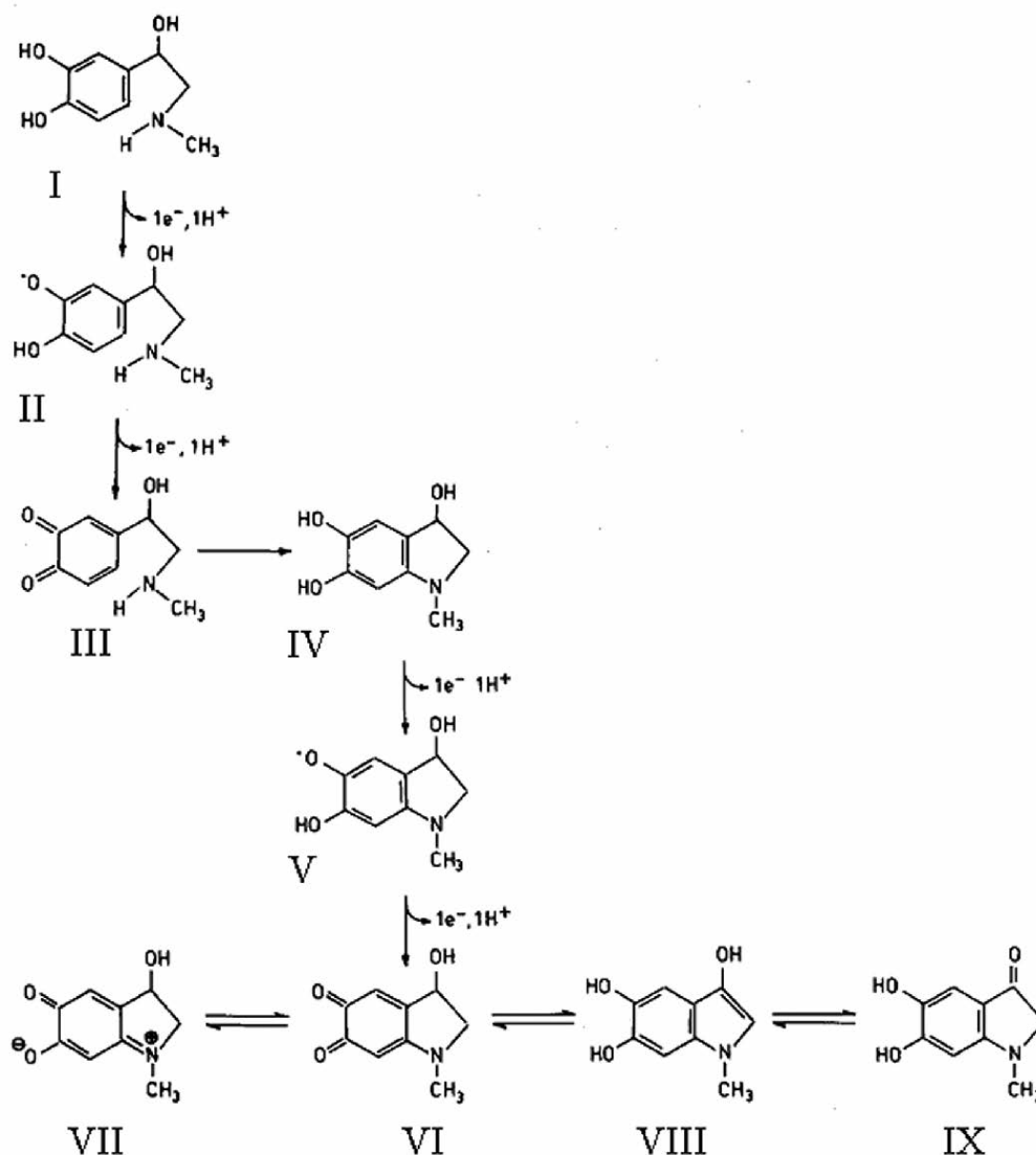


Рисунок 1.

Образование адренохрома и его производных в процессе автоокисления адреналина по хиноидному пути (по [9, 10] с некоторыми изменениями):

I - адреналин, II - адреналинсемихинон, III - адреналинхинон, IV - лейкоадренохром, V - адренохромсемихинон, VI - адренохром, VII - адренохром(цвиттер-ион), VIII - адренолутин, IX - адренолутин (кето-форма).

Известна кардио- и нейротоксичность продуктов окисления катехоламинов [2, 9, 14-17, 22-24]. Предполагается, что кардиотоксичность адреналина обусловлена не только адренохромом, но и в большей степени АФК, образующимися в процессе окисления адреналина [14]. Нейротоксическое действие адренохрома и последующего продукта окисления адренохрома адренолютина, связывают с так называемой “адренохромной” гипотезой этиологии шизофрении [2, 16, 17, 22, 23]. Они известны также как адреномиметики, обладающие галлюциногенными свойствами [25]. Участие аминохромов обсуждается и в этиологии болезни Паркинсона [23, 24]. Выявлена интересная особенность: больные шизофренией практически не имеют онкологических заболеваний [26].

В условиях *in vitro* хиноидное окисление адреналина без участия ферментов происходит в щелочной среде: в карбонатном буфере при низкой концентрации  $\text{H}^+$  в результате внутримолекулярных перестроек инициируется превращение адреналина в адренохром с образованием  $\text{O}_2^{\cdot-}$  (рис. 1).  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , имея один неспаренный электрон, может быть и окислителем и восстановителем: в реакции автоокисления адреналина, образующийся  $\text{O}_2^{\cdot-}$  как окислитель участвует в последующем окислении адреналина - развивается цепная реакция. Супероксиддисмутаза (СОД), перехватывая  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , тормозит накопление адренохрома, измерение количества которого проводят спектрофотометрически при длине волны 480 нм [27]. Таким способом [27] или с некоторыми модификациями [28] определяют активность СОД, а именно по её способности ингибировать скорость образования адренохрома. Ранее нами было установлено, что образование адренохрома в реакции автоокисления адреналина можно регистрировать и в иной области спектра - в диапазоне 330-365 нм [29]; используемая длина волны определена как 347 нм – средняя величина в этом диапазоне. Интенсивность нарастания оптической плотности в выявленном диапазоне существенно выше (почти на порядок), чем при 480 нм [29, 30]. Кинетические кривые образования адренохрома, представленные на рисунке 2А, подобны тем, что описаны нами ранее [29], но, зарегистрированные на современном спектрофотометре, более наглядно иллюстрируют преимущество использования длины волны 347 нм для регистрации адренохрома в сравнение с длиной волны 480 нм (см. также рис. 2Б). СОД и анти/прооксиданты ингибировали или активировали процесс автоокисления адреналина при регистрации реакции на этой длине волны [29-31]. Поскольку предложенная длина волны находится в видимой области спектра и выявлен достаточно широкий диапазон поглощения адренохрома в виде “плеча” (shoulder), можно использовать для регистрации образования адренохрома не только спектрофотометр, но и фотоэлектроколориметр (ФЭК).

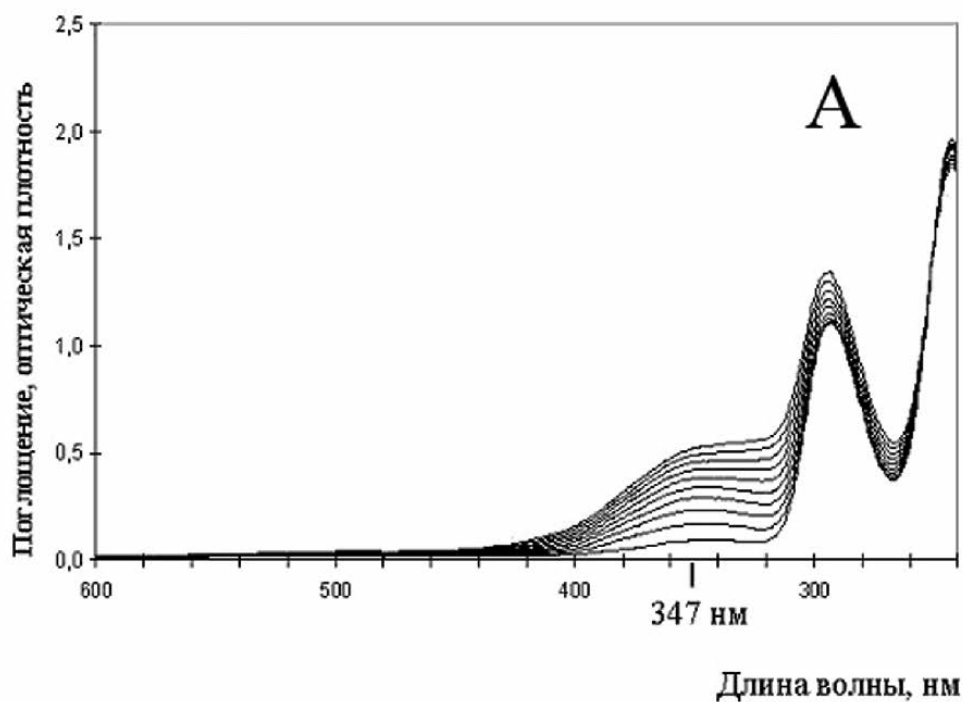
В настоящем исследовании предлагается новый подход к анализу реакции автоокисления адреналина, связанный с известным, но недостаточно применяемым показателем этой реакции – регистрацией потребления кислорода в процессе окисления адреналина. Цель работы: используя полярографический метод, исследовать этот процесс и выявить возможности его применения для оценки антиоксидантной активности различных препаратов.

**МЕТОДИКА.** Спектральные исследования автоокисления адреналина проводили в 0,2 М карбонатном буфере, рН 10,55 в термостатированной кювете при температуре 22°C на спектрофотометре UV/VIS Uvikon – 923 (Италия) в режиме “time driver” при 347 и 480 нм или “wavelength scan”. Регистрацию реакции автоокисления адреналина начинали с момента внесения 0,23 мМ адреналина гидрохлорида в буфер при постоянном его перемешивании.

Потребление кислорода измеряли полярографическим методом с помощью закрытого платинового электрода Кларка в термостатированной (37°C) кювете, объёмом 1 мл, при постоянной фиксированной скорости перемешивания в том же буфере и при той же концентрации адреналина, как и в спектральных исследованиях. Возможна двоякая постановка эксперимента: исследуемые препараты можно добавлять в буфер до внесения адреналина или после

## АВТООКИСЛЕНИЕ АДРЕНАЛИНА И ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОД

адреналина по ходу развившейся реакции. Регистрацию потребления кислорода проводили автоматически, используя АЦП и программное обеспечение, разработанное В.А. Шлектаревым (ИТЭБ РАН) и В. Семеновым (ИБК РАН), на установке, которая нами применяется для исследования классических параметров дыхания митохондрий [32]



оптическая  
плотность

1 - 480 нм  
2 - 347 нм

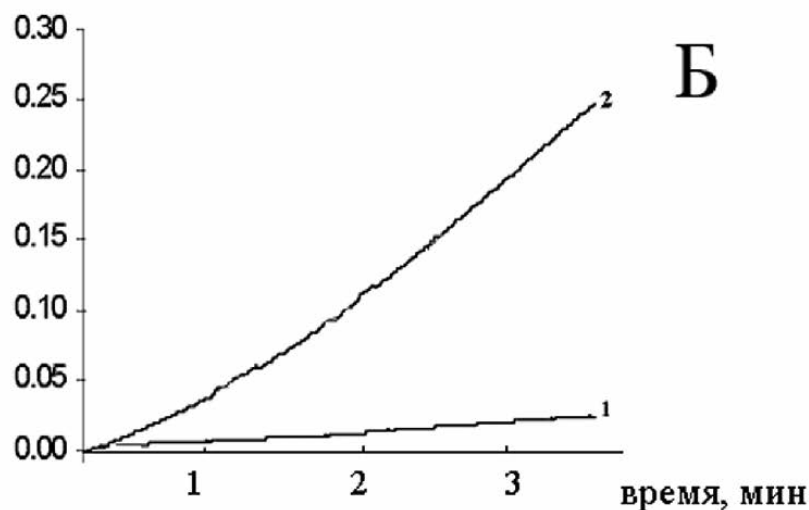


Рисунок 2.

Кинетические кривые образования адренохрома. Реакция проводилась в 0,2 М карбонатном буфере, pH-10,55, 0,23 мМ адреналин добавлен в буфер, время регистрации - 10 мин:

А - динамика спектрофотометрической регистрации автоокисления адреналина;

Б - измерение оптической плотности при 480 нм (1) и 347 нм (2).

В данном сообщении представлены средние значения, полученные в независимых экспериментах при 3-6 параллельных измерениях в каждом опыте.

В работе использовались реактивы: 0,1% раствор адреналина гидрохлорида (фармакопейная форма);  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ("Sigma", США);  $\text{NaHCO}_3$  ("J.T.Baker", Голландия); ферменты супероксиддисмутаза и каталаза ("Sigma"). Гемолизат крови получали как описано ранее [30-31]. 0,2 М карбонатный буфер готовили из  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , pH устанавливали добавлением к раствору сухого  $\text{NaHCO}_3$  до необходимой величины pH. Все растворы готовили на бидистиллированной воде.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** На рисунке 3 представлено компьютерное изображение полярографической регистрации процесса автоокисления адреналина со всеми возможностями расчета, которые можно делать с помощью программного обеспечения, разработанного для полярографической установки [32]. После внесения адреналина в буфер происходит интенсивное потребление кислорода. Полярографическая кривая имеет некоторый латентный период (лаг период) и хорошо выраженный линейный участок (рис. 3). Наличие лаг периода соответствует времени индукция, характерному для цепных реакций, после которого начинается потребление кислорода. Тонкие вертикальные линии, которые можно "выстроить" самому экспериментатору, позволяют определить параметры процесса автоокисления адреналина на заданном участке кривой. Наиболее информативными показателями являются: величина лаг периода, измеряется в сек или мин, и скорость поглощения кислорода в любой указанный период времени, измеряемая в нг атом  $\text{O}_2$ /мин. Также можно определить количество поглощенного кислорода ( $\Delta\text{O}$ ) в заданный период времени и время ( $\Delta t$ ) в секундах, в течение которого происходит потребление кислорода. Эти показатели параметров полярографической кривой видны на экране монитора, когда используется "окно", активируемое при включении функции "Просмотр" (рис. 3).

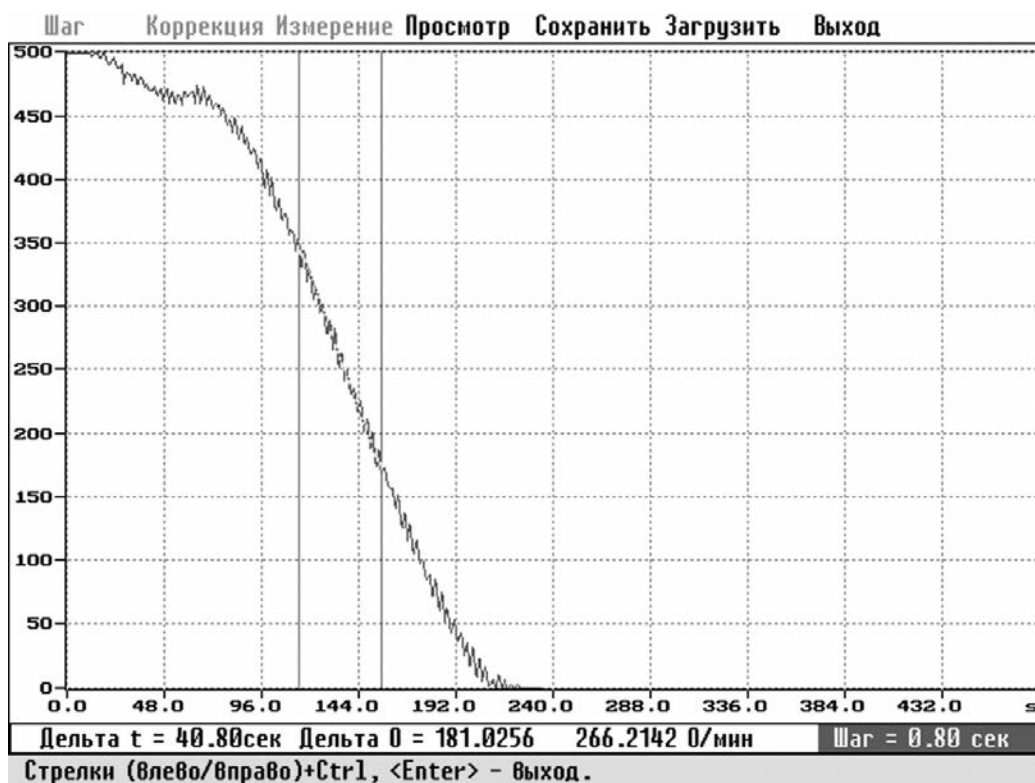


Рисунок 3.

Полярографическая регистрация потребления кислорода при автоокислении 0,23 мМ адреналина в 0,2 М карбонатном буфере, pH 10,55, температура 37°C. Представлена запись полярограммы и возможности расчета ее параметров с помощью разработанного программного обеспечения (см. "Методы").

## АВТООКИСЛЕНИЕ АДРЕНАЛИНА И ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОД

На рисунке 4 показана регистрация потребления кислорода при добавках разных концентраций адреналина. Следует отметить, что величины лаг периода и скорости реакции могут быть скорректированы условиями проведения эксперимента: концентрацией добавляемого адреналина, температурой, молярностью буфера и др. так, чтобы не был затянутым, например, лаг период.

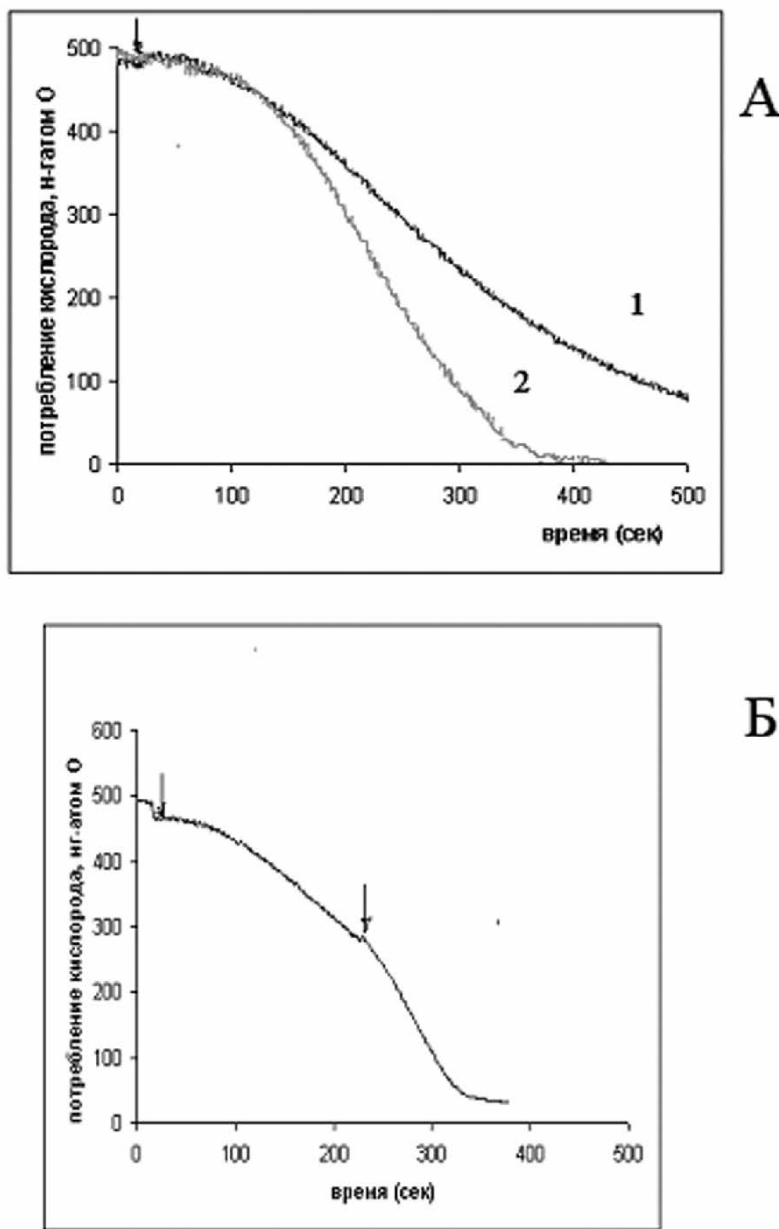
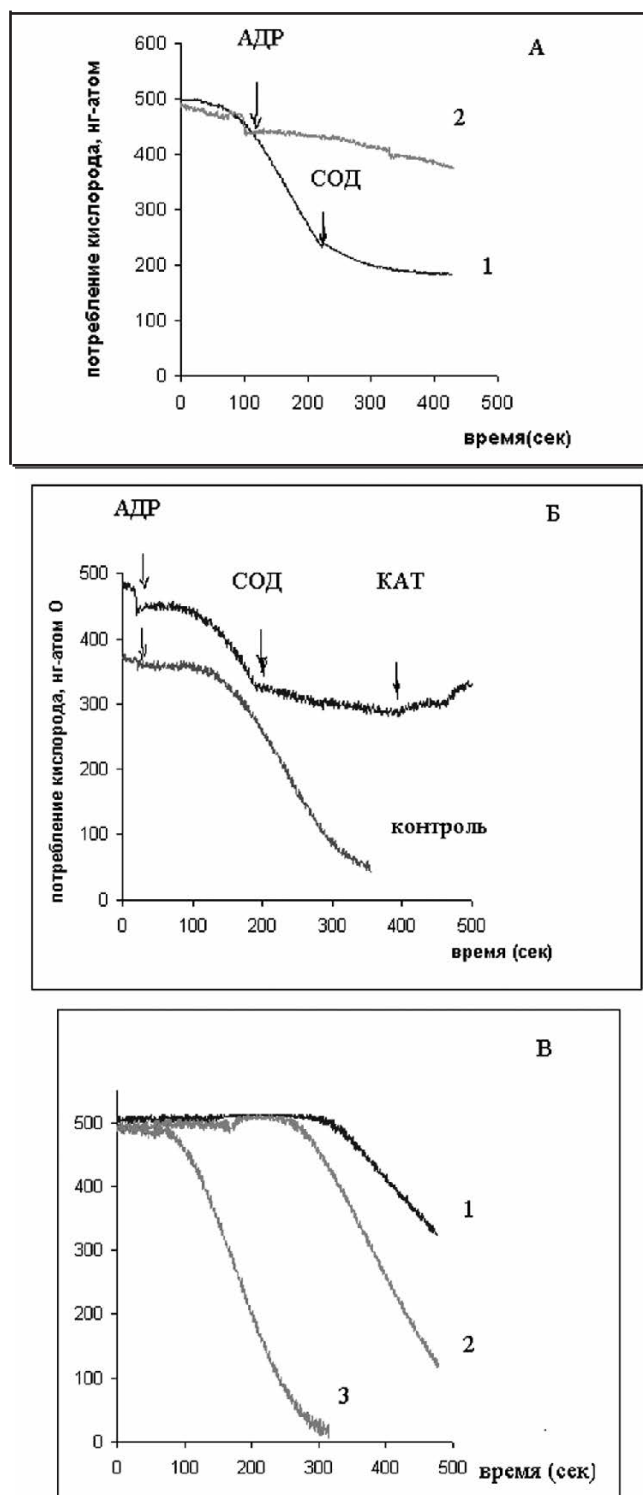


Рисунок 4.

Потребление кислорода в процессе автоокисления адреналина при разных добавках адреналина: А - 0,115 мМ (1) и 0,23 мМ адреналина (2); Б - две последующие добавки адреналина по 0,115 мМ. Условия проведения реакции как на рисунке 3. Стрелками указаны добавления адреналина.

Не зависимо от способа внесения СОД в буфер (до или после добавления адреналина) в любом случае наблюдается торможение потребления кислорода (рис. 5А, кривая 1 и 2, и рис. 5Б). Добавленная каталаза разлагает пероксид, образовавшийся под действием СОД (рис. 5Б): наблюдается появление кислорода в пробе (рис. 5Б).



**Рисунок 5.**

Влияние коммерческого препарата СОД (А и Б) и СОД гемолизата цельной крови человека (В) на реакцию автоокисления адреналина. Условия проведения реакции как на рисунке 3;  
 А - разные способы добавки коммерческой СОД (5,5 мкг/мл): 1 - СОД добавлена по ходу реакции; 2 - СОД добавлена в буфер до внесения адреналина (АДР);  
 Б - добавление СОД и каталазы (КАТ) (50 мкг/мл) в процессе автоокисления адреналина;  
 В - разные количества СОД гемолизата в пересчете на мкл цельной крови, добавленной в измерительную кювету до внесения адреналина:  
 1 - 5,0 мкл крови/мл; 2 - 2,5 мкл крови/мл; 3 - контроль (без гемолизата).

## АВТООКИСЛЕНИЕ АДРЕНАЛИНА И ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОД

Гемолизат цельной крови, содержащий эритроцитарную СОД, дозозависимо ингибирует потребление кислорода (рис. 5В, кривая 1 и 2), о чём свидетельствует значительное увеличение лаг периода по сравнению с контролем (рис. 5В, кривая 3). Следует отметить, что для исследования антиоксидантной активности гемолизата крови, необходимо вносить гемолизат в буфер до добавления адреналина. При иной постановке опыта: добавление гемолизата после внесения адреналина – не всегда проявляется его ингибирующее действие, а наблюдается даже некоторое ускорение потребления кислорода, вероятно, за счет привносимого в карбонатный буфер кислорода от гемоглобина.

Исследуя анти/прооксидантную активность биологических препаратов, следует рассчитывать их удельную активность, определяемую как скорость потребления кислорода относительно количества добавленного материала: нг-атом  $O_2$ /мин/мг белка или на мкл гемолизата, или на мкл цельной крови, или на мг гемоглобина (Hb).

Продукт реакции автоокисления адреналина, образующийся в полярографической кювете, имеет “розовый” цвет, его спектр представлен на рисунке 6. Сравнивая его с кривой на рисунке 2А, видно, что эти продукты близки по своим спектральным характеристикам. Следует отметить, что процессы потребления кислорода (полярографическая регистрация) и образование адренохрома (появление “розового” цвета – спектральные исследования) происходят не одновременно: так, при более низкой температуре (15-26°C) наблюдается сильно затянутый лаг период, в продолжение которого ещё не регистрируется потребление кислорода, однако содержимое кюветы уже приобретает розовое окрашивание.

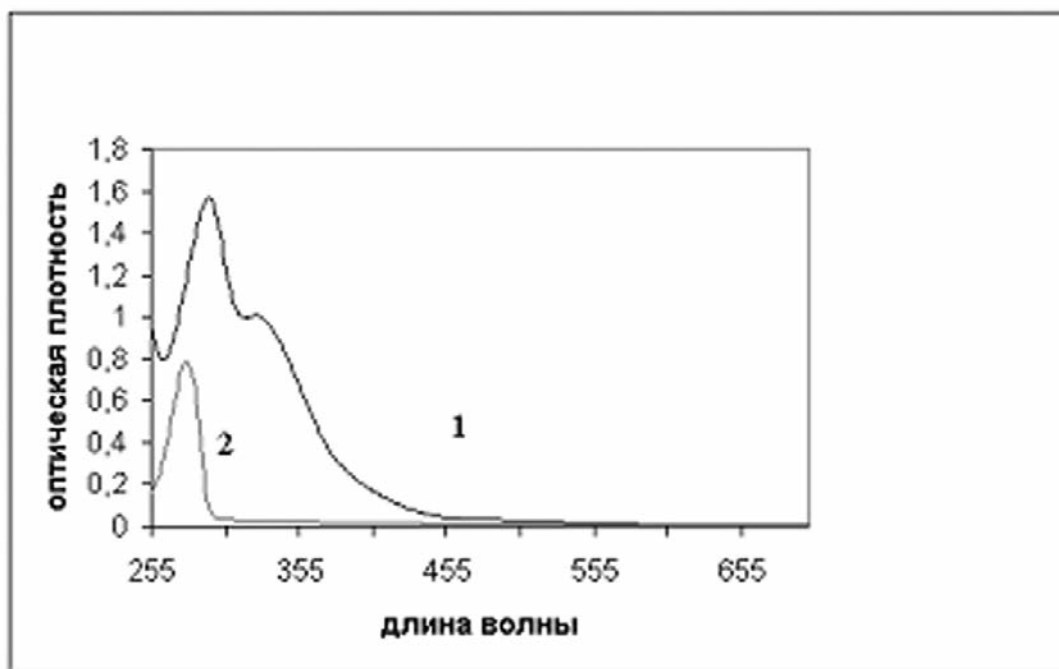


Рисунок 6.

Спектр "продукта" (адренохрома) реакции автоокисления адреналина, взятого из полярографической кюветы;  
кривая 1: в карбонатный буфер добавляли 0,46 мМ адреналин;  
кривая 2 - 0,23 мМ фармакопейный адреналин.

В буфере, насыщенном аргоном, где, таким образом, специально снижено содержание кислорода, процесс автоокисления адреналина происходит значительно медленнее (данные не приводятся).

Ионы меди ингибируют поглощение кислорода в процессе автоокисления адреналина (рис. 7), однако, действующие концентрации были существенно выше, чем в спектральных исследованиях проведенных ранее [29]. Это связано с более интенсивной скоростью реакции в условиях полярографических экспериментов в сравнение со спектральными (температура 37°C и 22°C, соответственно), потому и требуются более высокие концентрации ингибитора. Это известная ситуация для цепных реакций: соотношение концентрации ингибитора и интенсивности развития цепного процесса [33, 34].

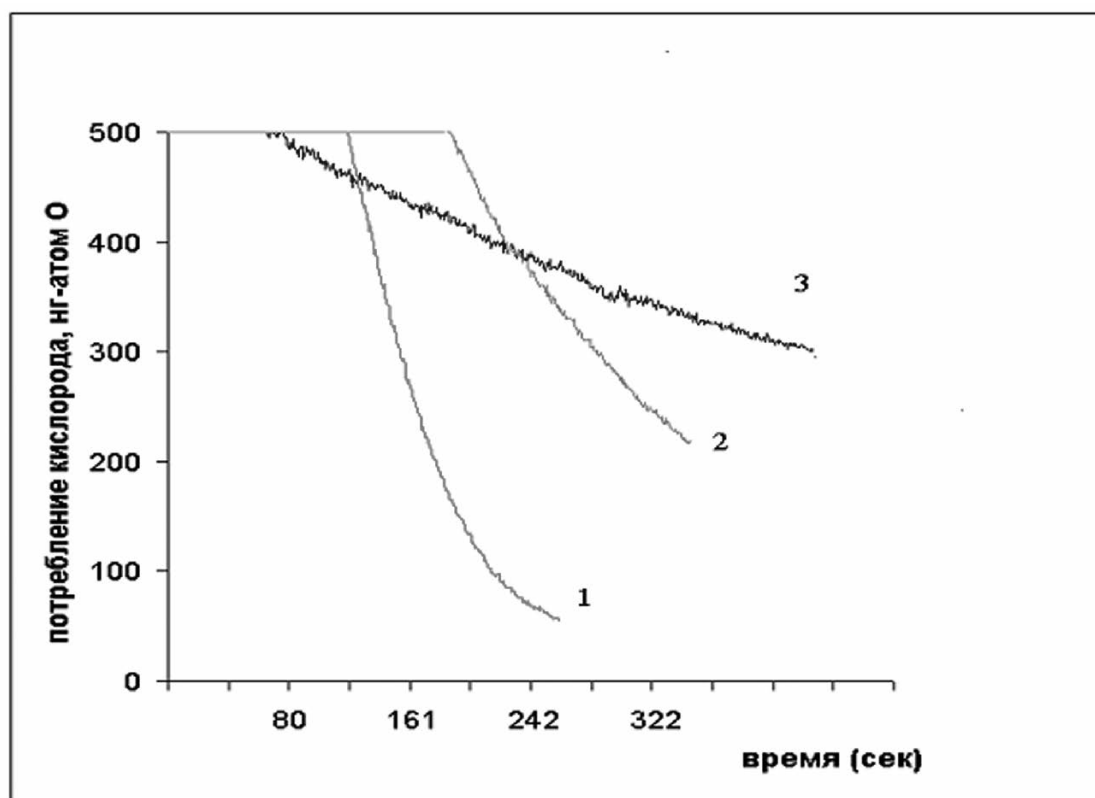


Рисунок 7.

Влияние ионов меди ( $\text{CuSO}_4$ ) на процесс автоокисления адреналина:  
1 - контроль; 2 - 100 мкМ; 3 - 500 мкМ. Условия проведения реакции как на рисунке 3.

Таким образом, показано, что полярографический метод регистрации реакции автоокисления адреналина может быть использован для выявления антиоксидантных свойств различных препаратов и позволяет проводить скрининг различных веществ, претендующих на подобную роль. Представленные результаты важны и для понимания сути самого происходящего процесса окисления адреналина: происходит не только образование адrenoхрома и АФК (супероксид аниона и пероксида), но и исчерпание кислорода, что приводит к снижению его содержания в среде. Можно предположить, что нейро- и кардиотоксичность при хиноидном окислении катехоламинов может быть связана не только с “собственными” токсическими свойствами аминохромов и образующимися АФК, но и с локальной гипоксией в тех участках клетки и ткани, где имеет место процесс хиноидного окисления, поскольку, как показано в настоящей работе, он происходит с потреблением кислорода.

Следует отметить, что супероксидгенерирующую и супероксиддетектирующую реакцию автоокисления адреналина можно использовать преимущественно как модельную тест-систему. В сложной биологической системе, содержащей клеточные органеллы (например, микросомальная или митохондриальная фракции) использовать адреналин для регистрации АФК не рекомендуется, поскольку как адреналин так и адренохром могут метаболизироваться в этих органеллах соответствующими ферментами (см. "Введение") и интерпретация полученных результатов затруднена [35]. Кроме того, согласно современным литературным данным, адренохром обладает высокой биологической активностью (см. "Введение"), механизм которой может быть связан, как показано в настоящей работе, с полифункциональностью процесса превращения адреналина в адренохром.

Работа выполнена при поддержке государственного контракта № 01.647.11.3011.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Меньшиков В.В., Большакова Т.Д.* (1964) В кн. Адреналин и норадреналин. М.: Наука, сс. 284-293.
2. *Колпаков В.Г.* (1974) Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, **74**(8), 1254-1263.
3. *Baez S., Segura-Aguilar J., Widersten M., Johansson A.S., Mannervik B.* (1997) *Biochem J.*, **324**(Pt 1), 25-28.
4. *Rigobello M.P., Scutari G., Boscolo R., Bindoli A.* (2001) *Nitric. Oxide*, **5**(1), 39-46.
5. *Fu Y., Buryanovsky L., Zhang Z.* (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**(35), 23829-23835.
6. *Fluxá V.S., Wahler D., Reymond J.L.* (2008) *Nat. Protoc.*, **3**(8), 1270-1277.
7. *Foppoli C., Coccia R., Cini C., Rosei M.A.* (1997) *Biochim. Biophys. Acta*, **1334**(2-3), 200-206.
8. *Филимонов И.С., Вржец П.В.* (2007) *Биохимия*, **72**(9), 1161-1171.
9. *Bindoli A., Rigobello M.P., Galzigna L.* (1989) *Toxicol. Lett.*, **48**, 3-20.
10. *Marques F., Duarte R.O., Moura J.J., Bicho M.P.* (1996) *Biopl. Signals.*, **5**, 275-282.
11. *Bindoli A., Rigobello M.P., Deeble D.J.* (1992) *Free Radic. Biol. Med.*, **13**(4), 391-405.
12. *Polewski K.* (2000) *Biochim. Biophys. Acta*, **1523**, 56-64.
13. *Baez S., Segura-Aguilar J.* (1995) *Biochem. Mol. Med.*, **56**, 37-44.
14. *Rump A.F., Schierholz J., Rösen R., Güttler K., Klaus W.* (2001) *Arzneimittelforschung*, **51** (12), 964-970.
15. *Costa V.M., Silva R., Ferreira L.M., Branco P.S., Carvalho F., Bastos M.L., Carvalho R.A., Carvalho M., Remião F.* (2007) *Chem. Res. Toxicol.*, **20**(8), 1183-1191.
16. *Smythies J., Galzigna L.* (1998) *Biochim. Biophys. Acta*, **1380**(2), 159-162.
17. *Smythies J.* (2000) *Antioxid. Redox. Signal.*, **2**(3), 575-583.
18. *Genova M.L., Abd-Elsalam N.M., Mahdy el S.M., Bernacchia A., Lucarini M., Pedulli G.F., Lenaz G.* (2006) *Arch. Biochem. Biophys.*, **447**(2), 167-173.
19. *Танбергенов С.О.* (1982) *Вопр. мед. химии*, **28**(2), 52-58.
20. *Северина И.С., Пятакова Н.В., Щеголев А.Ю., Сидорова Т.А.* (2008) *Биомед. химия*, **54**(6), 679-686.
21. *Утевский А.М., Танбергенов С.О.* (1982) *Укр. Биохим. ж.*, **54**(3), 307-310.
22. *Smythies J.* (2002) *Neurotox. Res.*, **4**(2), 147-150.
23. *Smythies J., De Iuliis A., Zanatta L., Galzigna L.* (2002) *Neurotox. Res.*, **4**(1), 77-81.
24. *Segura-Aguilar J., Metodiewa D., Baez S.* (2001) *Neurotox. Res.*, **3**(2), 157-165.

25. Шелыгин К.В. [http://psychoshell.narod.ru/HTMLs/Gallucinogens\\_2.htm](http://psychoshell.narod.ru/HTMLs/Gallucinogens_2.htm)
26. Foster H.D., Hoffer A. (2004) Medical Hypotheses, **62**, 415-419.
27. Misra H.P., Fridovich I. (1972) J. Biol. Chem., **247**, 3170-3175.
28. Брусев О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. (1976) Бюлл. экспер. биол. мед., **81**(1), 33-35.
29. Сирота Т.В. (1999) Вопр. мед. химии, **45**(3), 263-272.
30. Sirota T.V., Lange N.V., Kosjakova N.I., Vanichkin A.V., Kondrashova M.N. (2000) Current Top. Biophysics, **24**(2), 185-189.
31. Сирота Т.В., Сафронова В.Г., Амелина С.Е., Мальцева В.Н., Авхачева Н.В., Софин А.Д., Янин В.А., Мубаракишина Э.К., Романова Л.К., Новоселов В.И. (2008) Биофизика, **53**(5), 886- 893.
32. Сирота Т.В., Елисеева О.П., Хундерякова Н.В., Каминский Д.В., Махотина О.А., Кондрашова М.Н. (2007) Укр. Биохим. ж., **79**(5), 196-203.
33. Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Майзус З.К. (1965) Цепные реакции окисления углеводов в жидкой фазе, М.: Наука, сс. 13, 203-204.
34. Денисов Е.Т., Саркисов О.М., Лихтенштейн Г.И. (2000) Химическая кинетика, М.: Химия, сс. 397-413, 510-512.
35. Chen C., Thakker D.R. (2002) J. Pharmacol. Exp. Ther., **300**(2), 417-420.

Поступила: 15. 01. 2010.

**A NEW APPROACH TO STUDYING THE AUTOXIDATION OF ADRENALINE:  
POSSIBILITY OF THE DETERMINATION OF SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY AND  
THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF VARIOUS PREPARATIONS BY POLAROGRAPHY**

*T.V. Sirota*

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul., 3,  
Pushchino, Moscow region, 142290 Russia; tel.: (7)(4967) 739170; e-mail: sirotatv@rambler.ru

The reaction of adrenaline autoxidation in an alkaline buffer with the formation of superoxide radicals and the product of its oxidation, adrenochrome, which models the quinoid pathway of adrenaline conversion in the body, is accompanied by oxygen consumption. This reaction is applicable for polarographic determination of the activity of superoxide dismutase and the antioxidant properties of biological and chemical compounds, it is based on evaluation of the latent period and the rate of oxygen consumption, which are measured in the presence of the compounds examined. It was assumed that the neuro- and cardiotoxicity of quinone products of adrenaline oxidation is related not only to their "own" properties and reactive oxygen species formed but also the hypoxia of those regions of the cell and tissue where the quinoid oxidation of adrenaline occurs.

**Key words:** adrenaline, adrenochrome, superoxide, oxygen, polarography, superoxide dismutase.