

# 活性氧对疟原虫的杀伤作用\*

李 明

(第一军医大学疟疾免疫研究室)

活性氧族 (Reactive oxygen species, 简称为 ROS) 是一组包括过氧化氢 ( $H_2O_2$ )、超氧化物阴离子 ( $O_2^-$ )、单线态氧 ( $^1O_2$ )、羟自由基 ( $\cdot OH$ ) 在内的具有杀伤作用的细胞氧化代谢产物。免疫系统的多种效应细胞在受到合适刺激时均能产生和释放 ROS。自 1982 年 8 月 Clark 在多伦多第五届国际寄生虫学大会上提出毒性氧自由基 (Toxic oxygen radicals) 对疟原虫具有杀伤作用的实验资料后, ROS 在疟疾非特异性免疫中的作用日益受到人们的重视。近几年来,人们对 ROS 在体内、体外杀伤疟原虫的现象、可能机制以及将其作为一种抗疟药应用于临床的可能性做了广泛的研究,有争议的实验资料使 ROS 的杀伤作用成为目前疟疾非特异性免疫研究中富有挑战性和吸引力的课题之一。本文拟就这方面的研究近况作一综述。

## 一、外源 ROS 对疟原虫的杀伤作用

1950 年 Rigdon 观察到给感染诺氏疟原虫 (*Plasmodium knowlesi*) 的恒河猴注射苯胍之后,循环红细胞内出现变性原虫。但这一现象并未引起人们的注意,未做任何解释地搁置了三十年。近年来人们重新选用外源 ROS 发生剂 (Exogenous ROS generator),即在体外能产生 ROS 的底物-酶系统以及在体内能转变为 ROS 的外源物,对 ROS 的杀伤作用及其可能的杀伤机制做了系统的研究。

(一)  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  的杀伤作用 激活的巨噬细胞 ( $M\phi$ ) 能释放  $H_2O_2$ 、 $O_2^-$  导致细胞内寄生原虫如弓浆虫、锥虫和利什曼原虫的死亡,

并可介导对肿瘤细胞的杀伤。 $10^6$  个激活的  $M\phi$  每分钟可释放  $2\text{nmol } H_2O_2$ <sup>[27]</sup>, 而一个感染疟原虫小鼠的肝脏至少有  $10^8$  个  $M\phi$ <sup>[11]</sup>, 每分钟能释放  $200\text{nmol } H_2O_2$ 。在感染红细胞通过肝脾血窦时,  $M\phi$  释放的  $H_2O_2$  可能是一个重要的杀伤因素。

将感染疟原虫的小鼠红细胞在体外与  $H_2O_2$  孵育后静脉注入正常小鼠,当用于孵育的  $H_2O_2$  浓度对  $10^{-2}$  至  $10^{-4}\text{mol/L}$  时,能完全抑制伯氏疟原虫 (*Plasmodium berghei*)、约氏疟原虫 (*Plasmodium yoelii* 17X)、夏氏疟原虫 (*Plasmodium chabaudi*) 和 *P. yoelii* 17X 的一个稳定的致死变异株在鼠体内的增殖<sup>[12]</sup>。给感染鼠注射  $H_2O_2$  也具有明显的抑制作用<sup>[5,12]</sup>。但在体内各种疟原虫对  $H_2O_2$  的敏感性有很大差异。注射  $1\text{mg } H_2O_2$  后 4 小时,致死的 *P. yoelii* 和 *P. chabaudi* 原虫血症下降最为明显,非致死的 *P. yoelii* 次之,感染 *P. berghei* 小鼠的原虫血症无明显下降<sup>[12]</sup>。给感染文氏疟 (*Plasmodium vinckei*) 的小鼠每隔 12 小时注射  $200\mu\text{l } 1\%$  的  $H_2O_2$ , 在四天内能使原虫血症保持在一个稳定的水平<sup>[5]</sup>。

葡萄糖-葡萄糖氧化酶系统 (G-GO 系统) 产生  $H_2O_2$  的方式更近似于体内的吞噬细胞。当葡萄糖氧化酶的活性为  $10\text{mu/ml}$  (毫单位/毫升) 时, 30 分钟能产生  $10\text{nmol/ml}$  以上的  $H_2O_2$ <sup>[13]</sup>。G-GO 系统对 *P. yoelii* 的体内、体外增殖<sup>[13,28]</sup> 以及恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*) 的体外增殖<sup>[13]</sup> 均具有明显的抑制作用。过

\* 本文经李英杰教授审阅。

氧化氢酶能够完全<sup>[13,28]</sup>或部分<sup>[36]</sup>逆转此系统对疟原虫的杀伤作用。

黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶系统(X-XO系统)在将黄嘌呤转变为尿酸的过程中同时伴有 $O_2^-$ 以及随后而来的 $H_2O_2$ 、 $\cdot OH$ 、 $^1O_2$ 的生成。X-XO系统在体外和*P. yoelii*及*P. falciparum*孵育1—2小时后能完全抑制*P. yoelii*在体内增殖<sup>[33]</sup>、非常显著地抑制体外培养*P. yoelii*对 $[^3H]$ -亮氨酸<sup>[28]</sup>以及*P. falciparum*对 $[^3H]$ -次黄嘌呤的摄取<sup>[36]</sup>。过氧化氢酶能完全<sup>[13]</sup>或部分<sup>[28]</sup>逆转此系统对*P. yoelii*的杀伤。其它ROS清除剂如甘露醇、苯甲酸盐( $\cdot OH$ 清除剂)、超氧化物歧化酶(SOD)( $O_2^-$ 清除剂)和组氨酸( $^1O_2$ 清除剂)均不能抑制此系统对*P. yoelii*和*P. falciparum*的杀伤作用<sup>[13,28,36]</sup>。

虽然不同ROS清除剂的作用提示了 $H_2O_2$ 作为杀伤介质的重要性,但现有的资料并不能排除 $O_2^-$ 和 $\cdot OH$ 的作用。Allison等推测 $O_2^-$ 的杀伤作用可能较 $H_2O_2$ 强<sup>[1]</sup>,但尚未取得直接的证据。 $O_2^-$ 除了可能具有直接的杀伤作用之外,在其清除剂SOD的存在下尚能转化为 $H_2O_2$ <sup>[2]</sup>发挥其作用。在铁离子的催化下, $H_2O_2$ 和 $O_2^-$ 能通过Haber-Weiss反应生成 $\cdot OH$ 。Clark等的实验表明,注射特异的铁离子络合剂阻断Haber-Weiss反应后,即能抑制静脉注射 $H_2O_2$ 对疟原虫的杀伤作用<sup>[5]</sup>。因此在单用各种ROS清除剂估价ROS各组分的作用时应考虑到ROS各组分间存在的这种相互转化的关系。

(二) 自由基的杀伤作用 阿脲(Alloxan)、香碗豆嘧啶(Divicine)在体内均能通过与其尿酸的氧化还原循环持续产生 $H_2O_2$ ,并在非蛋白结合铁的催化下生成 $\cdot OH$ 以及阿脲酸、仲班酸等对疟原虫亦具有毒性的产物。给感染*P. vinckei*的小鼠静脉注射阿脲或香碗豆嘧啶后,循环红细胞内出现危象型(Crisis form)<sup>D</sup>原虫,同时伴有原虫血症下降和溶血。铁离子络合剂desferroxamine能完全阻断阿脲和香碗豆嘧啶对疟原虫的杀伤和溶血作用<sup>[5,6]</sup>。

叔丁基氢过氧化物(t-butyl hydroperoxide,

简称为t-BHP)在铁离子的参与下通过二个降解步骤分解为烷氧自由基(t-BuO $\cdot$ )和过氧自由基(t-BuOO $\cdot$ )这种有机氢过氧化物不同于阿脲,除了生成具有和 $\cdot OH$ 相似活性的t-BuO $\cdot$ 和t-BuOO $\cdot$ 之外,无其它毒性产物的产生。Allison和Clark等先后报道t-BHP对*P. yoelii*、*P. chabaudi*<sup>[1,2]</sup>*P. vinckei*<sup>[7]</sup>等鼠疟原虫以及体外培养的*P. falciparum*<sup>[8]</sup>都具有明显的杀伤作用。将t-BHP或香碗豆嘧啶与来自感染*P. vinckei*小鼠的红细胞在体外孵育后,两者均使感染鼠红细胞丙二醛(MDA)<sup>2)</sup>含量大幅度增强,并耗尽红细胞内还原型谷胱甘肽(GSH)。在注射t-BHP或香碗豆嘧啶之前或同时注射desferroxamine则完全抑制两者的杀伤和溶血作用,并阻止MDA在红细胞内堆积。被铁饱和的desferroxamine则无上述作用<sup>[6,7]</sup>由于t-BHP尚能进入红细胞作为谷胱甘肽过氧化物酶的底物将GSH转变为氧化型,因而desferroxamine在抑制t-BHP的杀伤和溶血作用的同时并不能阻止GSH的消耗。虽然有证据表明,G-6-PD缺乏的红细胞在受到异乌拉米尔(isouramil)的作用耗尽GSH后,不能支持*P. falciparum*的生长<sup>[9]</sup>,但GSH的耗竭显然不足以解释t-BHP和香碗豆嘧啶对疟原虫的杀伤。由于阿脲、t-BHP以及香碗豆嘧啶的杀伤作用均可被desferroxamine所阻断,提示这些外源ROS发生剂在非蛋白结合铁的催化下生成的自由基可能是介导杀伤的直接原因。

(三) 多胺氧化产物的杀伤作用 多胺(polyamine)从分裂细胞和死细胞中释放,存在于体液中。多胺氧化酶(Polyamine oxidase,简称为PAO)催化多胺氧化脱氨基生成氨、醛类和ROS( $H_2O_2$ 、 $O_2^-$ 、 $\cdot OH$ )。激活的Mφ PAO活性增高,并可释放于培养基中。

将感染*P. chabaudi*的红细胞在体外用

1) 危象型是指各种因素特别是非特异免疫因素作用之后在循环红细胞内出现的变性原虫。

2) MDA是脂质过氧化反应的中间产物,也是反映脂质过氧化程度的公认指标。

PAO 和精胺处理后注入正常鼠,受血鼠不出现原虫血症;用相同的方法处理 *P. yoelii* 感染血得到相似的结果<sup>[26]</sup>。Ferrante 等报道体外培养的 *P. falciparum* 在 PAO 和精胺或亚精胺存在时增殖受到抑制,并出现危象型原虫<sup>[16]</sup>。Rzepcyk 等在此基础上进一步研究了 PAO-多胺对恶性疟原虫的杀伤机制,其实验结果表明,过氧化氢酶、SOD、金属离子络合剂(可抑制·OH 的形成)均不能抑制多胺氧化产物对 *P. falciparum* 的杀伤;氯化铵对 *P. falciparum* 的增殖亦无抑制作用。在多胺氧化代谢产物中,  $H_2O_2$ 、 $O_2^-$ 、·OH 以及  $NH_3$  均不是杀伤 *P. falciparum* 的主要因素。已被证明对原核细胞和真核细胞均具有毒性的丙烯醛可能是介导此系统对 *P. falciparum* 杀伤的主要因子<sup>[31]</sup>。

## 二、细胞氧化代谢产物的作用

应用外源 ROS 发生剂的研究表明,循环红细胞内出现的变性原虫与由于细胞介导的免疫而康复的疟疾感染中所观察到的危象型原虫极为相似<sup>[2]</sup>,免疫系统的多种效应细胞如中性粒细胞、单核-巨噬细胞、NK 细胞、嗜酸粒细胞在受到适合刺激时均能产生和释放 ROS,有理由认为 ROS 是疟疾细胞免疫的一个重要效应机制。

(一) 巨噬细胞 化学发光技术是检测吞噬细胞产生 ROS 水平的一项敏感指标。Makimura 等用鲁米诺 (luminol) 化学发光系统首先观察到,在特异抗体的参与下,溶解的伯氏疟寄生红细胞 (PE) 能刺激正常小鼠腹腔 M $\phi$  产生化学光 (Chemiluminescence, 简称为 CL)。正常 M $\phi$  在体外用免疫鼠脾细胞的培养上清激活后,溶解的 PE 可激发更强的 CL 反应。CL 值的高低与 M $\phi$  对 *P. berghei* 的吞噬相关<sup>[24]</sup>。对 *P. berghei* 和 *P. yoelii* 感染鼠脾细胞产生 ROS 能力的动态观察表明,来自感染这两种疟原虫的小鼠的脾细胞对补体调理酵母多糖激发的 CL 反应在感染后第 3 天达最高峰,第 5 天即开始下降。值得注意的是,毒性不同的疟原虫株感染的同系小鼠其效应细胞产生 ROS 的

能力有所不同。在非致死的 *P. yoelii* 感染的整个过程中,小鼠脾细胞的 CL 反应较来自致死的 *P. berghei* 感染鼠的脾细胞强。在 *P. berghei* 感染后期,感染鼠脾粘附细胞的 CL 反应受到显著的抑制,而 *P. yoelii* 感染鼠则能保持于正常水平<sup>[3]</sup>。上述现象提示,对感染鼠产生 ROS 能力的抑制可能是高毒性株原虫得以逃避免疫杀伤的机制之一。

Ockenhouse 用微孔滤膜在 Adaps 室中将淋巴因子激活的小鼠腹腔 M $\phi$  与 *P. yoelii* 感染红细胞隔开,在 M $\phi$  室中加入白细胞氧化代谢刺激物 (PMA)、调理的酵母多糖或 *P. yoelii* 感染红细胞后, M $\phi$  释放的可溶性因子即可透过微孔滤膜介导对 *P. yoelii* 的杀伤。M $\phi$  的杀伤作用与其还原 NBT 的能力相一致,并可被过氧化氢酶所部分逆转,灭活的过氧化氢酶则无此作用<sup>[28]</sup>。

(二) 多形核白细胞 多形核白细胞 (Polymorphonuclear leucocytes, 简称为 PMNL) 除了吞噬作用之外尚可通过分泌可溶性因子介导对疟原虫的杀伤<sup>[4]</sup>,但杀伤介质的属性尚不明了。在 *P. vinckei* 感染过程中,感染鼠的全血化学光反应显著增高,但是在单个细胞水平上从 *P. vinckei* 感染鼠分离的 PMNL 的 CL 反应与正常鼠 PMNL 无明显区别<sup>[32]</sup>。Khara-zmi 等报道,在细胞氧化代谢刺激物 PMA 的刺激下,PMNL 对 *P. falciparum* 体外增殖的抑制作用明显加强。但这种抑制作用不能被过氧化氢酶、SOD 以及叠氮钠(髓过氧化物酶抑制剂)所逆转<sup>[21]</sup>。经化学发光、NBT 还原试验和  $O_2^-$  产生试验证实为氧化代谢缺陷的慢性肉芽肿病人的 PMNL 在 PMA 刺激下,其抑制 *P. falciparum* 体外增殖的活性也明显增强,与具有中等氧化代谢活性的 PMNL 及正常 PMNL 的抑制活性无明显区别<sup>[22]</sup>。在 PMNL 杀伤疟原虫的过程中,非氧化机制可能起较为重要的作用。在 PMA 的刺激下,PMNL 脱颗粒释放的酸性水解酶、中性蛋白酶, Lactoferrin 等可能是杀伤原虫的介质<sup>[21,22]</sup>。

(三) NK 细胞 ROS 作为 NK 细胞的杀

伤介质之一,其重要性还难以估价。NK 细胞和靶细胞结合后能释放 ROS,其杀伤活性与 CL 反应的强度相关<sup>[39]</sup>。但氧化代谢缺陷的慢性肉芽肿病人具有正常的 NK 活性的实验事实不支持 ROS 作为 NK 细胞重要杀伤介质的假说<sup>[29]</sup>。Allison 等推测,在对疟原虫的氧化杀伤中,以释放 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 为主的 NK 细胞可能较 Mφ 更为重要<sup>[2]</sup>,但迄今尚未得到证实。

### 三、红细胞抗氧化能力 对疟原虫增殖的影响

寄生于不同宿主的不同种疟原虫对 ROS 的敏感性受到宿主细胞抗氧化能力的影响。不同宿主细胞内过氧化氢酶、SOD、谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽还原酶的活性、还原型谷胱甘肽的含量、血红蛋白的类型均能不同程度地影响疟原虫在宿主细胞内的增殖以及受 ROS 作用后的预后。

(一) 过氧化氢酶和 SOD 在致死的 *P. berghei* 感染过程中,小鼠红细胞内过氧化氢酶含量较正常鼠高 5 倍<sup>[39]</sup>,*P. berghei* 滋养体和裂殖体感染的小鼠红细胞 SOD 活性较正常或环状体感染的红细胞高 2 倍,游离的疟原虫也具有较低的 SOD 活性<sup>[34]</sup>。然而在大鼠的非致死 *P. berghei* 感染过程中,肝组织内过氧化氢酶和 SOD 活性均降低<sup>[9]</sup>。这两种酶活性的降低使 ROS 清除速度减慢,有可能在限制 *P. berghei* 感染中起部分作用。反之,过氧化氢酶和 SOD 的活性增高则有可能缓冲 ROS 对疟原虫的杀伤。

(二) G-6-PD 活性的影响 *P. falciparum* 在 G-6-PD 缺乏的男性半合子和女性杂合子红细胞中的寄生率均较在正常人红细胞中的寄生率低<sup>[30]</sup>。来自同一 G-6-PD 缺乏的女性杂合子红细胞中,酶正常红细胞的寄生率远较缺陷红细胞高<sup>[34]</sup>。由于疟原虫侵入正常或缺陷红细胞的机率相同,在酶缺陷红细胞中的低寄生率可能是由于这些细胞抗氧化能力降低难以维持疟原虫生长的合适条件所致<sup>[34]</sup>。寄生于 G-6-PD 缺乏红细胞内的 *P. falciparum* 对外来

氧化压力更为敏感<sup>[19,16]</sup>。

(三) 血红蛋白质和量的异常 血红蛋白(Hb)质和量的异常常造成红细胞抗氧化能力的降低。镰状红细胞(含 HbS)中谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶含量较正常红细胞低<sup>[10]</sup>;HbF 易转变为高铁 Hb,在此过程中伴随着超氧化物的产生<sup>[25]</sup>;HbE 对氧化不稳定<sup>[18]</sup>;地中海贫血对自身氧化作用和过氧化物均比正常红细胞敏感<sup>[33]</sup>。具有这些缺陷的人群,其疟疾的发病率和死亡率均较正常人低。

### 四、ROS 的杀伤机制

G-GO 和 X-XO 介导对 *P. falciparum* 的杀伤时,培养上清中不出现血红蛋白,用 G-GO 和 X-XO 处理的红细胞被 *P. falciparum* 侵入的机率与未处理的正常红细胞无异<sup>[36]</sup>,表明 ROS 未使红细胞膜出现破裂或严重改变。虽然阿脉、t-BHP、香碗豆嘧啶等在杀伤疟原虫时伴随严重的溶血,但电镜观察表明,在大量形态完整的红细胞内出现变性原虫<sup>[6,7]</sup>,可见原虫的死亡并非继发于溶血。

目前还难以肯定红细胞内出现变性原虫是由于 ROS 的直接作用还是继发于红细胞的代谢变化。由于 ROS 的作用使红细胞内还原型谷胱甘肽耗竭<sup>[6,7]</sup>;细胞膜通透性改变, K<sup>+</sup> 流失<sup>[27]</sup>;以金属离子为激活物或辅基的酶(如 Fe-Cu, Fe-Mo)不可逆的失活<sup>[2]</sup>;以及由 ·OH<sup>[5]</sup> 或铁氧化系统<sup>[2]</sup> 起始的链式反应所导致的脂质过氧化;均可能造成疟原虫寄生微环境的变化而导致疟原虫的死亡。MDA 在细胞内堆积使红细胞变形能力降低<sup>[6,7]</sup> 造成原虫在成熟前释放,也是造成疟原虫死亡的原因之一。由于 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 能通过阴离子通道进入红细胞<sup>[23]</sup>,有可能直接作用于疟原虫,导致原虫的死亡。

### 参 考 文 献

- [1] Allison, A. C. and Eugui, E. M. 1982 A radical interpretation of immunity to malaria parasites. *Lancet* 2: 1431—1433.
- [2] Aelison, A. C. and Eugui, E. M. 1983 The role of cell-mediated immune responses in resistance to malaria, with special reference to oxidant stress. *Annu.*

- [3] Brinkmann, V. et al. 1984 Role of macrophages in malaria: O<sub>2</sub> metabolite production and phagocytosis by splenic macrophages during lethal *Plasmodium berghei* and self-limiting *Plasmodium yoecii* infection in mice. *Infect. Immun.* 44: 743—746.
- [4] Brown, J. and Smalley, M. E. 1981, Inhibition of the *in vitro* growth of *Plasmodium falciparum* by human polymorphonuclear leukocytes, *Clin. exp. Immunol.* 46: 106—108.
- [5] Clark, I. A. et al. 1983 Evidence for reactive oxygen intermediates causing hemolysis and parasite death in malaria *Infect Immun.* 39: 1—6.
- [6] Clark, I. A. et al. 1984 Activity of divicine in *Plasmodium vinckei* infected mice has implications for treatment of favism and epidemiology of G-6-PD deficiency. *Br. J. Haematol.* 57: 479—487.
- [7] Clark, I. A. et al. 1984 Radical-mediated damage to parasites and erythrocytes in *Plasmodium vinckei* infected mice after injection of t-butyl hydroperoxide. *Clin. exp. Immunol.* 58: 524—530.
- [8] Clark, I. A. et al. 1983 Free oxygen radical generators as antimalarial drugs. *Lancet* 1: 234.
- [9] Cox, F. E. G. 1983 Oxidant killing of the malaria parasites. *Nature* 302: 19.
- [10] Das, S. R. and Nair, R. C. 1980 Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxidation of normal and sickled erythrocytes. *Br. J. Haematol.* 44: 87—92.
- [11] Dockrell, H. M. et al. 1980 The role of the liver in immunity to blood stage murine malaria. *Immunology* 41: 421—430.
- [12] Dockrell, H. M. et al. 1983 Killing of blood-stage murine malaria parasites by hydrogen peroxide. *Infect. Immun.* 39: 456—459.
- [13] Dockrell, H. M. and Playfair, J. H. L. 1984 Killing of *Plasmodium yoelii* by enzyme-induced products of the oxidative burst. *Infect. Immun.* 43: 451—456.
- [14] Eaton, J. W. et al. 1976 Suppression of malaria infection by oxidant-sensitive host erythrocytes. *Nature* 264: 758—760.
- [15] Etkin, N. L. and Eaton, J. W. 1975 Malaria-induced erythrocyte oxidant sensitivity. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1: 219—230.
- [16] Ferrante, A. et al. 1983 Polyamine oxidase mediates intra-erythrocytic death of *Plasmodium falciparum*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 77: 789—791.
- [17] Friedman, M. J. 1979 Oxidant damage mediates variant red cell resistance to malaria. *Nature* 280: 245—247.
- [18] Frischer, H. and Bowman, J. 1975 Hemoglobin E, an oxidatively unstable mutation. *J. Lab. Clin. Med.* 85: 531—539.
- [19] Golenser, J. et al. 1983 Inhibitory effect of a fava bean component on the *in vitro* development of *Plasmodium falciparum* in normal and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient erythrocytes. *Blood* 61: 507—510.
- [21] Kharazmi A and Jepsen, S. 1984 Enhanced inhibition of *in vitro* multiplication of *Plasmodium falciparum* by stimulated human polymorphonuclear leucocytes. *Clin. exp. Immunol.* 57: 287—292.
- [22] Kharazmi, A. et al. 1984 Polymorphonuclear leucocytes defective in oxidative metabolism inhibit *in vitro* growth of *Plasmodium falciparum*: Evidence against an oxygen-dependent mechanism. *Scand. J. Immunol.* 20: 93—96.
- [23] Lynch, R. E. et al. 1978 Permeation of the erythrocyte stroma by superoxide radical. *J. Biol. Chem.* 253: 4697—4699.
- [24] Makimura, S. et al. 1982 Chemiluminescence response of peritoneal macrophages to parasitized erythrocytes and lysed erythrocytes from *Plasmodium berghei*-infected mice. *Infect. Immun.* 37: 800—804.
- [25] Misra, H. P. and Fridovich, I. 1977 The generation of superoxide radical during autoxidation of hemoglobin. *J. Biol. Chem.* 247: 6960—6962.
- [26] Morgan, D. M. L. et al. 1981 Polyamine oxidase and the killing of intracellular parasites. *Biochem. Soc. Trans.* 9: 563—564.
- [27] Nathan, C. F. and Root, R. R. 1977 Hydrogen peroxide release from mouse peritoneal macrophages. *J. Exp. Med.* 146: 1648—1662.
- [28] Ockenhouse, C. F. and Shear, L. H. 1984 Oxidative killing of the intraerythrocytic malaria parasite *Plasmodium yoelii* by activated macrophages. *J. Immunol.* 132: 424—431.
- [29] Pierre, A. H. 1985 Mechanism of lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Ann. Rev. Immunol.* 3: 31—58.
- [30] Roth, E. F. et al. 1983 Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency inhibits *in vitro* growth of *Plasmodium falciparum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 298—299.
- [31] Rzepczyk, C. M. et al. 1984 Polyamine oxidase-mediated intraerythrocytic killing of *Plasmodium falciparum*: Evidence against the role of reactive oxygen metabolites. *Infect. Immun.* 43: 238—244.
- [32] Stocker, R. et al. 1984 Production of luminol-reactive oxygen radicals during *Plasmodium vinckei* infection. *Infect. Immun.* 45: 708—712.
- [33] Stocks, J. et al. 1972 The susceptibility to autoxidation of human red cell lipids in health and disease. *Br. J. Haematol.* 23: 713—724.
- [34] Suthpark, U. et al. 1982 Superoxide dismutase (SOD) in mouse red blood cells infected with *Plasmodium berghei*. *J. Parasitol.* 68: 337—339.
- [35] Werkmeister, J. et al. 1983 The chemiluminescence response of human natural killer cells. II. Association of a decreased response with low natural killer activity. *Eur. J. Immunol.* 13: 514—518.
- [36] Wozencraft, A. O. et al. 1984 Killing of human malaria parasites by macrophage secretory products. *Infect. Immun.* 43: 664—669.