

# Fluctuations de la sérotonine et de ses métabolites au niveau du poumon et du mucus intestinal chez le rat infesté par *Nippostrongylus brasiliensis*.

J. M. Grosclaude (1), F. Goudey-Perrière (2), P. Gayral (2, 3), C. Jacquot (1) & H. Barreteau (2) (4)

(1) Laboratoire de pharmacodynamie, Faculté de pharmacie, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France.

(2) Laboratoire de biologie et contrôle des organismes parasites, Faculté de pharmacie, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France.

(3) Hôpital Sainte-Anne, 1 rue Cabanis, 75014 Paris, France. Tél.:01 45 65 89 19, fax:01 45 65 89 36

(4) Communication MR1996/119 présentée au congrès SPEde novembre 1996 à l'île Maurice. Article accepté le 4 novembre 1997.

**Summary:** Fluctuations of The Serotonergic Pathway in The Lung And The Intestinal Mucus in *Nippostrongylus brasiliensis* Infested Rats.

The influence of parasitism on host biogenic amine levels was investigated in *Nippostrongylus brasiliensis* infected rats. Amine levels were estimated in tissues surrounding Nematodes in their biological environment: the lung and intestinal mucus. DO being the day of infestation, tissues were obtained at 24, 30 and 45 hrs, and every day between D4 and D14 (when the rat was completely deparasited by the self-cure phenomenon). Biogenic amines belonging to the serotonergic pathway were quantified by HPLC with electrochemical detection.

In the lungs and mucus, parasitism resulted in an important decrease in serotonin (5-HT) and 5-hydroxyindolacetic acid (5-HIAA) levels, as opposed to the immediate 5-HT precursor, the 5-hydroxytryptophane (5-HTP).

Host response to parasitism is translated by serotonergic pathway levels. This leads to two hypotheses: 5-HT turn-over may be accelerated, but the inhibition of 5-HT synthetic enzyme, 5-hydroxytryptophane hydroxylase, by the parasite present in the host seems more probable.

**Résumé :**

L'influence du parasitisme sur les taux des amines biogènes a été appréciée chez le rat parasité par le Nématode *Nippostrongylus brasiliensis*. Les dosages ont porté sur les poumons et l'intestin, organes directement concernés par les parasites. Les prélèvements ont été effectués à partir de J1, J0 étant le jour de l'infestation, puis à 30 h, 45 h, J4 et tous les jours jusqu'à J14, date de l'élimination complète des vers par le rat. Les amines biogènes ont été dosées par chromatographie liquide à haute performance couplée à la détection électrochimique. La voie sérotoninergique a été principalement étudiée. Dans les poumons et l'intestin du rat parasité, une diminution importante de sérotonine (5-HT) et de son dérivé de dégradation (5-HIAA) est notée, alors que le 5-hydroxytryptophane (5-HTP), son précurseur, augmente.

La réponse de l'hôte au parasitisme se traduit par une modification dans les taux des composés de la voie sérotoninergique. Deux hypothèses sont posées en fonction de la diminution de 5-HT et de l'accumulation de 5-HTP: le renouvellement de la 5-HT pourrait être accéléré, mais il semble plus probable que l'enzyme de synthèse de la 5-HT, la 5-hydroxytryptophane décarboxylase, soit inhibée par la présence du parasite.

**Key-words:** Serotonergic pathway - *Nippostrongylus brasiliensis* - Nematoda - Rat - Lung - Intestinal mucus

**Mots-clés :** Voie sérotoninergique - *Nippostrongylus brasiliensis* - Nématode - Rat - Poumon - Mucus intestinal

## Introduction

*Nippostrongylus brasiliensis*, parasite intestinal du rat blanc, a un cycle direct et rapide, ce qui permet de répéter les séries expérimentales nécessaires à l'interprétation statistique des résultats. Après infestation par voie transcutanée, suivie d'un passage pulmonaire, les larves atteignent l'intestin en 4 jours, muent en adultes qui se reproduisent. Les rats se déparasitent spontanément et, dans nos conditions expérimentales, aucun ver ne subsiste dans l'intestin 15 jours après l'infestation (21).

Le parasitisme perturbe les paramètres biologiques des animaux parasités, sans que les mécanismes soient toujours bien établis. Ainsi, les réponses immunitaires ont fait l'objet de très nombreux travaux et souvent, pour le diagnostic des helminthiases, l'un des éléments est l'augmentation du nombre

des granulocytes éosinophiles dans le sang, liée à la réponse immunitaire.

A partir des données concernant l'évolution des taux des amines biogènes dans les populations de *Nippostrongylus brasiliensis* au cours de la phase parasitaire de leur cycle (10), il est intéressant de connaître les fluctuations de ces amines chez les hôtes parasités, qui n'ont, à notre connaissance, jamais été recherchées.

La chromatographie liquide à haute pression couplée à la détection électrochimique (HPLC-ED) a été utilisée (10). Lors des prélèvements, des échantillons de tissus parasités ont été retenus. Il s'agit du poumon et du mucus intestinal, milieux dans lesquels ont évolué les vers. Au cours de ce travail, nous analyserons plus précisément les variations du taux de tryptophane (Trp), de 5-hydroxytryptophane (5-HTP), d'acide 5-hydroxyindoleacétique (5-HIAA) et de sérotonine (5-HT).

## Matériel et méthodes

### Cycle de *Nippostrongylus brasiliensis* et récolte des parasites

*Nippostrongylus brasiliensis* est maintenu au laboratoire sur le rat mâle (Wistar, Iffa Credo, France). Les rats sont isolés et alimentés *ad libitum*. Ils sont entièrement dépourvus d'infections helminthiques. Les fèces de rats parasités sont recueillies de J6 à J9 après l'infestation et utilisées pour réaliser des cultures fécales dans des boîtes de PETRI. Les boîtes sont incubées à 25° C dans une étuve en chambre humide. Dans ces conditions, après une semaine d'incubation, les larves infestantes de troisième stade (L3) sont recueillies en mettant à profit leur thermotropisme positif ; les boîtes sont remplies avec de l'eau à 37° C et les larves migrent vers le bord du papier filtre. Elles sont ensuite rincées 2 à 3 fois avec du NaCl 0,15M, puis la suspension est centrifugée à 1000 rpm pendant 5 minutes et injectée aussitôt au rat par voie sous-cutanée (2500 L3 dans 0,4 ml de NaCl stérile pour un rat de 250 g). Le premier jour d'infestation est dénommé J0. Les larves infestantes migrent par le flux sanguin, puis elles se dirigent vers les poumons où elles subissent une mue larvaire (larves de quatrième stade, L4). Poursuivant leur migration de la trachée à l'œsophage puis à l'intestin, elles muent en adultes vers J4 (20). A J6, les vers sont capables de se reproduire ; les œufs sont éliminés dans les fèces (21) et permettent d'entretenir le cycle. Finalement, les vers sont totalement expulsés de l'intestin vers J15 dans nos conditions expérimentales. Le rat, immunisé, ne se reparasitera plus.

### Obtention et préparation des échantillons biologiques

Les rats sont tués par asphyxie à l'éther. Après prélèvement des différents stades parasitaires étudiés antérieurement (10), les poumons, le mucus intestinal des rats, sont préparés pour l'analyse. Les poumons sont découpés finement et mis à tremper dans du NaCl 0,15 M à 37° C dans des boîtes de PETRI. Les larves sont éliminées le plus possible du tissu pulmonaire. La muqueuse intestinale est grattée, puis débarrassée des adultes. Chaque échantillon est rincé (NaCl 0,15M), épongé sur du papier filtre pour enlever l'excès de liquide et congelé à - 80° C. Des échantillons sont prélevés de façon identique chez des rats non parasités servant de témoins.

Toutes les préparations des échantillons sont faites à 4° C. Après décongélation, les échantillons sont homogénéisés (1mg/ 50 µl de solution antioxydante) dans de l'acide perchlorique HClO<sub>4</sub> 0,4 N contenant des antioxydants (v/v : 0,1 % de cystéine ; 0,1 % de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ; 0,1 % de Na<sub>2</sub>EDTA). Les échantillons sont broyés (Ultraturrax, 30 secondes) et soumis aux ultrasons (Sonifier, Cell Disruptor, B-15 Branson). Les protéines sont précipitées par l'acide perchlorique. Après deux centrifugations successives [4500 rpm, 15 minutes et 10 000 rpm, 5 minutes (microfuge BECKMAN)], les surnageants sont injectés dans la colonne.

### Dosages

Le système chromatographique est constitué d'une pompe BECKMAN 116 réglée sur un débit continu de 0,9 ml/minute, une boucle d'injection Rheodyne de 20 µl (TOUZART et MATIGNON), une colonne en phase inverse (Ultrasphere ODS 5 µm, 150\*4,5 mm, BECKMAN) et un détecteur électrochimique 641 VA Metrohm (ROUCAIRE, France) comportant une électrode au carbone vitreux fixée à un potentiel de 0,86 volts et une électrode de référence Ag/AgCl/c(KCl). La phase

mobile est un tampon phosphate (100 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) contenant 5 mM d'acide heptane sulfonique et 10 % de méthanol (v/v). Le pH est ajusté à 3,8 en utilisant du KOH 3M. La solution étalon est complètement éluée en 25 minutes. Les amines biogènes sont indiquées ci-après dans l'ordre de leur élution : 5-hydroxytryptophane (5-HTP), acide 5-hydroxyindoleacétique (5-HIAA), tryptophane (Trp) et sérotonine (5-HT). L'identité de chaque pic a été déterminée en comparant les temps de rétention des échantillons avec ceux de l'étalon (1, 6) et en surchargeant chaque pic avec un volume défini d'étalon. La technique est reproductible et sensible.

### Produits chimiques

Tous les produits chimiques sont de qualité analytique. Le méthanol utilisé pour l'HPLC provient de chez MERCK. Les substances étalons, 5-hydroxytryptophane, (5-HTP), acide 5-hydroxyindoleacétique (5-HIAA), tryptophane (Trp) et sérotonine (5-HT) sont obtenues chez Sigma Co.

### Expression des résultats et analyse statistique

Les résultats sont exprimés en ng/g de tissu. Chaque point des courbes représente la valeur d'au moins 5 déterminations jusqu'à J10 et 3 à partir de J11. Dans quelques échantillons, les amines étant en dessous du seuil de détection, leur concentration est considérée comme étant égale à 0 dans nos calculs. Les moyennes sont comparées par une analyse de variance (test de FISHER) grâce à un programme Statview sur MacIntosh, cette analyse est suivie par une comparaison de moyennes (test de STUDENT).

## Résultats

Les poumons et les mucus de rat ont été prélevés à J1, J1,25 (30 h), J1,8 (45 h), J4, J5, J6, J7, J8, J9, J10, J11, J12, J13 et J14. Les échantillons proviennent des mêmes rats. Les résultats donnés dans le texte correspondent aux différences significatives à p < 0,05 observées entre les témoins et les traités, les variations entre les stades parasitaires ne seront pas débattues. Dans la suite des commentaires, les témoins seront notés T et les parasités P. Etant données les fluctuations de l'échantillonnage, les valeurs observées chez les rats témoins ne peuvent être considérées comme significativement différentes.

### Concentrations des amines biogènes dans les poumons

Les taux moyens globaux ont été calculés par amine entre J1 et J14, ils permettent d'établir un certain nombre de constatations : aucun changement significatif n'est remarqué pour le tryptophane (T : 5369 ± 640 vs P : 5524 ± 467 ng/g). Le taux moyen de 5-HTP est augmenté chez les rats parasités (T : 0,28 ± 0,2 vs P : 5,5 ± 1,6 ng/g). Au contraire, les taux moyens de 5-HIAA (T : 56,9 ± 9,4 vs P 15,5 ± 3,4 ng/g) et de 5-HT (T : 234,8 ± 44 vs P : 35,9 ± 9 ng/g) s'effondrent chez les rats parasités.

Pour les variations journalières du Trp (figure 1a), les seules variations significatives sont enregistrées à 30 heures (T : 4314 vs P : 12869 ng/g) et à J12 (T: 3559 ± 265 vs P : 7887 ± 1357 ng/g) sans modifications aux autres dates. Une augmentation significative du 5-HTP (figure 1b) est notée à J4 (T : non détecté vs P : 10,22 ± 2,13 ng/g). Les variations de 5-HT (figure 1c) sont toutes dans le même sens et montrent une diminution importante, les plus significatives étant notées lorsque la majo-

rité des vers a quitté les poumons : à J6 (T :  $188 \pm 49$  vs P :  $48 \pm 18$  ng/g), J7 (T :  $495 \pm 160$  vs P :  $14 \pm 13$  ng/g), J9 (T :  $171 \pm 33$  vs P :  $55 \pm 28$  ng/g), J10 (T :  $317 \pm 212$  vs P :  $14 \pm 13$  ng/g), J11 (T :  $248 \pm 70$  ng/g vs P : non détecté), J12 (T :  $245 \pm 81$  ng/g vs P : non détecté). Une diminution des taux de 5-HIAA (figure 1d) est enregistrée chez les rats parasités dès J1 (T :  $48 \pm 19$  vs P :  $1 \pm 0,2$  ng/g), J6 (T :  $46 \pm 15$  vs P :  $13 \pm 6$  ng/g), J7 (T :  $128 \pm 53$  vs P :  $20 \pm 12$  ng/g), J11 (T :  $47 \pm 3$  ng/g vs P : non détecté) et J12 (T :  $65 \pm 11$  vs P :  $22 \pm 11$  ng/g).

Figure 1.

Variations des composés de la voie sérotoninergique dans le tissu pulmonaire de rats parasités ou non, de J1 à J14 (J0 étant le jour de l'infestation).  
1a:tryptophane;1b:5-hydroxytryptophane;  
1c:sérotinine;1d:acide 5-hydroxyindolacétique.

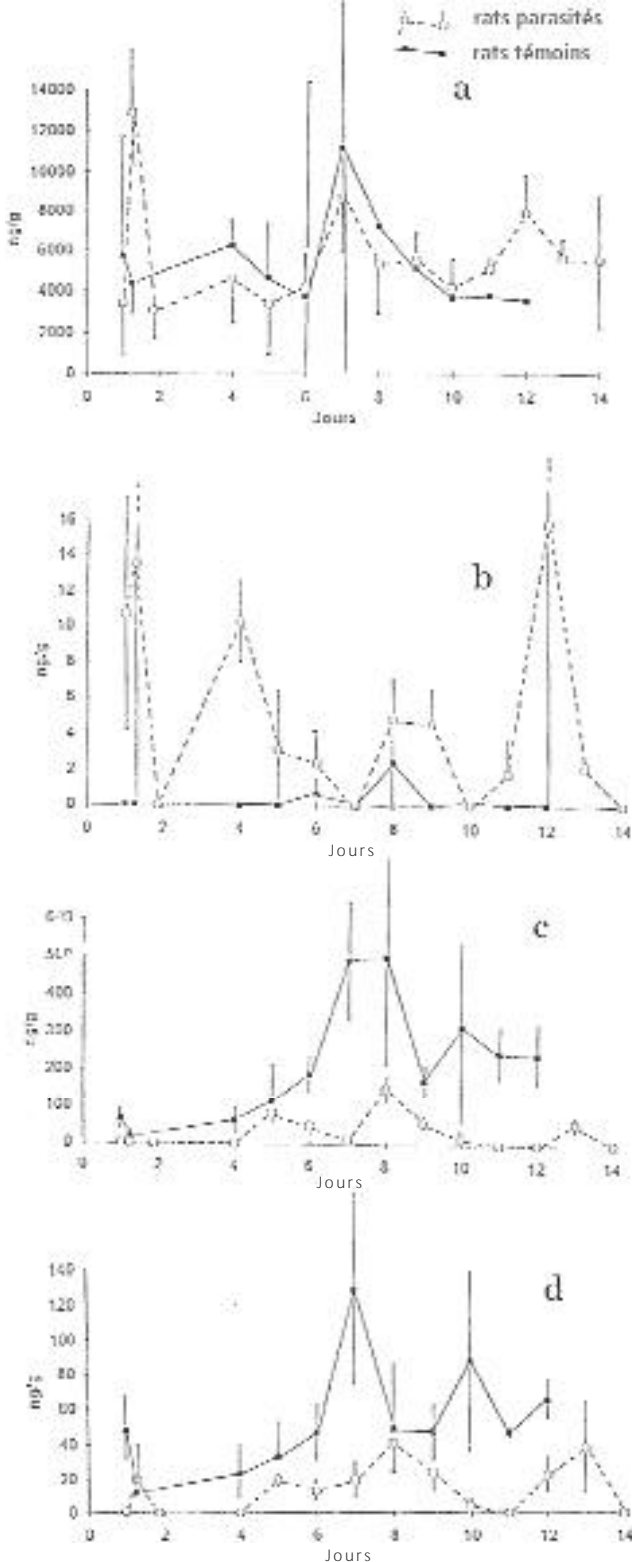
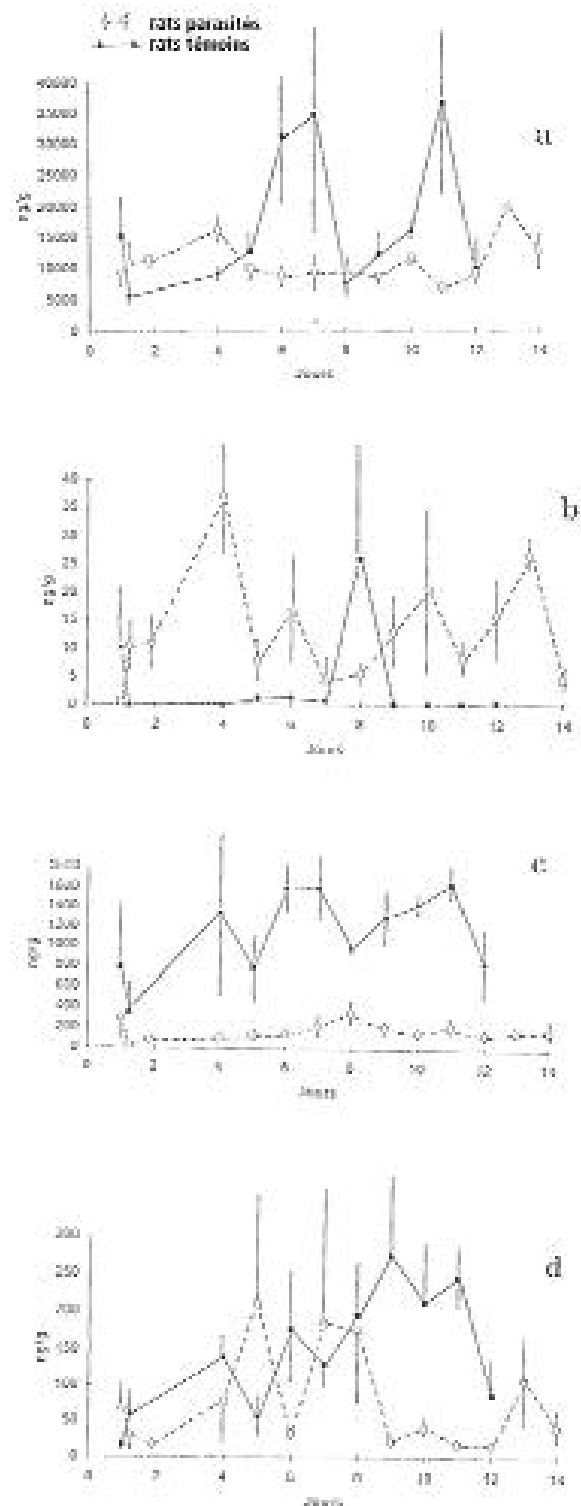


Figure 2.

Variations des composés de la voie sérotoninergique dans le mucus intestinal de rats parasités ou non, de J1 à J14 (J0 étant le jour de l'infestation).  
2a:tryptophane;2b:5-hydroxytryptophane;  
2c:sérotinine;2d:acide 5-hydroxyindolacétique.



### Concentrations des amines biogènes dans le mucus intestinal

Les taux moyens globaux ont été calculés de la même façon pour le mucus intestinal : une diminution des taux est remarquée pour le tryptophane (T :  $18158 \pm 2957$  vs P :  $10733 \pm 669$  ng/g), le 5-HIAA (T :  $150,8 \pm 19,4$  vs P :  $79,6 \pm 21,3$  ng/g) et la 5-HT (T :  $1191,4 \pm 109$  vs P :  $182 \pm 26$  ng/g) où les taux moyens s'effondrent chez les rats parasités. Au contraire, le taux moyen de 5-HTP est augmenté chez les rats parasités (T :  $3,07 \pm 2,1$  vs P :  $12 \pm 2,2$  ng/g).

Les analyses des données journalières montrent des variations significatives de Trp (figure 2a) à J4 (T : 9016 ± 1246 vs P : 16037 ± 2286 ng/g), puis à J6 (T : 30784 ± 10455 vs P : 8597 ± 1561 ng/g), J7 (T : 34467 ± 17140 vs P : 9340 ± 2950 ng/g), J10 (T : 15796 ± 1501 vs P : 11821 ± 1413 ng/g) et J11 (T : 36417 ± 15131 vs P : 6641 ± 594 ng/g). Les taux de 5-HTP (figure 2b) sont augmentés chez les rats parasités comparativement aux rats témoins : à J4 (T : non détecté vs P : 37 ± 10 ng/g), J11 (T : non détecté vs P : 8 ± 3 ng/g) et J12 (T : 0,2 ± 0,2 vs P : 15,7 ± 7 ng/g), le 5-HTP est quasiment indétectable dans tous les échantillons témoins sauf à J5, J6 et J8. Dans le cas de la 5-HT (figure 2c), toutes les moyennes calculées sont inférieures chez les rats parasités, par exemple à J7 (T : 1605 ± 312 vs P : 221 ± 142 ng/g). Une diminution est également évidente pour le 5-HIAA (figure 2d) des rats parasités : à J6 (T : 176 ± 67 vs P : 30 ± 9 ng/g), J9 (T : 274 ± 95 vs P : 23 ± 5 ng/g), J10 (T : 212 ± 70 vs P : 40 ± 11 ng/g) et J11 (T : 244 ± 34 vs P : 18 ± 5 ng/g).

Des variations significatives enregistrées dans le taux des amines n'interviennent qu'au terme de quatre jours d'infestation, au moment où les vers sont présents dans l'intestin.

## Discussion

Pendant la phase pulmonaire du Nématode, entre J0 et J2 dans nos séries expérimentales, les taux de Trp et de 5-HTP sont élevés dans les poumons dès J1. A l'inverse, les valeurs moyennes de 5-HT et de 5-HIAA diminuent déjà. Ces données vont dans le sens d'une réaction locale tissulaire en réponse à la présence des parasites. Mais lorsque la majorité des vers a quitté les poumons durant la phase intestinale après J4, le 5-HTP reste élevé alors que les taux de 5-HT et 5-HIAA diminuent. Au niveau de l'intestin, il n'y a pas de variation des amines biogènes avant la phase intestinale. Cependant, dès J5, toutes les amines sont affectées, le Trp et la 5-HT diminuent pendant que le 5-HTP augmente.

Globalement, nos résultats montrent une augmentation des taux de 5-HTP, alors que la 5-HT et la 5-HIAA diminuent dès que les tissus sont au contact des parasites. Deux hypothèses peuvent être formulées :

- la synthèse de 5-HT pourrait être diminuée par le parasitisme, l'enzyme 5-HTP décarboxylase étant alors un facteur limitant, puisque le taux de 5-HTP augmente ;

- le renouvellement de la 5-HT serait au contraire accéléré.

A la suite d'une infestation par *Nippostrongylus brasiliensis*, des réponses locales sont enregistrées au niveau du poumon et de l'intestin :

- apparition d'immunoglobulines E (IgE) spécifiques ou non (25, 30-32) dont l'augmentation est associée, chez la souris, à une stimulation de la production d'interleukines provenant des cellules muqueuses de l'intestin (IL-4) ou des éosinophiles sanguins (IL-5), 10 jours après l'infestation (27). Elles apparaissent localement dès le sixième jour et sont impliquées dans l'expulsion des parasites (23),

- augmentation de la réponse immunitaire, avec production de médiateurs puissants tels que le PAF (Platelet Activating Factor) dont la sécrétion est corrélée avec l'augmentation du nombre des mastocytes et des éosinophiles tissulaires, avec la synthèse de leucotriènes (LTB4 ou LTC4) et de la myéloperoxydase (11) 15 jours après l'infestation. Le Nématode, présent dans l'intestin, inactive le PAF (4).

Tous ces facteurs, qui caractérisent une réaction allergique et inflammatoire, apparaissent plusieurs jours après le début de l'infestation et participent à la réaction générale de l'hôte au parasitisme.

Au niveau pulmonaire, le métabolisme de la sérotonine, qui maintient l'intégrité de l'épithélium pulmonaire et assure les échanges de liquides entre les alvéoles, a été étudié dans les poumons de rat (3). La sérotonine est immédiatement utilisée sur son lieu de synthèse et dégradée par la MAO. En réponse à une infestation de larves de *Nippostrongylus brasiliensis*, les tissus pulmonaires sont endommagés et une inflammation s'installe. En parallèle, le nombre de macrophages, d'éosinophiles et de lymphocytes T et B (notamment les CD8+) augmentent dès J2 et, dans le liquide broncho-alvéolaire, au moins jusqu'à J16 (25). Cette réaction locale à long terme est en accord avec notre observation, mais n'apporte aucun argument en faveur de l'une ou de l'autre de nos hypothèses. En effet, le tissu parasite peut requérir un besoin accru de 5-HT pour maintenir son intégrité, ce qui conduit à une augmentation du renouvellement. Les vers peuvent, par ailleurs, synthétiser un inhibiteur de l'enzyme 5-HTP décarboxylase, ce qui se traduirait par la diminution constatée de la 5-HT et du 5-HIAA, et par une demande de l'organisme satisfaite par l'apport des amines produites par les cellules présentes dans le liquide alvéolaire, dans un milieu bien oxygéné; la production de la 5-HT serait alors bloquée par un facteur émanant du parasite.

Au niveau intestinal, la sérotonine présente dans le compartiment endoluminal provient des cellules chromaffines de la muqueuse, des éosinophiles, des mastocytes ou, dans une moindre proportion, des neurones entériques (5, 7-9, 28, 29). La sérotonine régule la motilité intestinale (12, 17). Les effets du parasitisme par *Nippostrongylus brasiliensis* modifient les taux des composés sérotoninergiques du mucus dans le même sens que dans les poumons ; c'est après 5 jours, c'est-à-dire dès le début de la phase intestinale, et durant toute la période d'observation (jusqu'à J14) que les taux locaux sont affectés. Divers auteurs se sont attachés à la relation qui existe entre le taux luminal de sérotonine et l'expulsion du parasite : après 15 jours, date retenue pour éviter les interférences entre la sérotonine de rat et celle des vers, les taux augmentent lorsque la taille des populations des parasites diminue (29) en corrélation avec ceux de l'histamine (28). En fait, le taux de sérotonine commence à augmenter quand les vers sont éliminés (19, 24) ; les mastocytes ne seraient pas impliqués dans les processus conduisant à cette expulsion (15, 26). Les données concernant l'histamine appuient nos propos : l'histamine présente dans le tractus digestif est libérée par les mastocytes. Chez les rats mâles parasités par *Nippostrongylus brasiliensis*, le nombre de mastocytes est réduit jusqu'à 8 jours et augmente à partir de 13 jours, lorsque la population des vers adultes diminue d'un facteur 10 (19). D'après BEFUS *et al.* (2), le nombre de mastocytes et le taux d'histamine sont faibles jusqu'à 15 jours, puis augmentent brutalement. Selon les souches utilisées, l'augmentation du nombre de mastocytes se manifeste au cours de la phase d'expulsion des vers (13, 18, 19) ou lorsque leur élimination est achevée (14-16). Ces effets seraient liés à des stimuli émanant des vers (19). Rappelons que selon OGILVIE et JONES (22), les vers sont d'abord endommagés par les anticorps de l'hôte, présents au niveau intestinal, puis expulsés par un processus non spécifique. Nous noterons qu'avant 15 jours, le nombre de cellules productrices de 5-HT n'augmente pas dans l'intestin, ce qui montre que le besoin en 5-HT du tissu parasité n'augmente pas. Dans ces conditions, il semble que les vers présents au niveau du mucus intestinal contribuent à diminuer le taux de 5-HT dans leur environnement, plutôt qu'à accélérer le renouvellement.

Finalement, l'ensemble de nos résultats nous conduit à formuler l'hypothèse que, pour survivre, le ver doit inhiber les

réactions inflammatoires et tissulaires de l'hôte. Ceci pourrait se traduire, aux niveaux étudiés, par un blocage de l'activité de la 5-HTP décarboxylase, puisque le taux de 5-HTP augmente quand celui de 5-HT diminue et que le renouvellement intestinal ne semble pas accéléré. Cette inhibition, levée après l'expulsion des parasites, sous-entend la présence d'un facteur inhibiteur émanant du ver qui intervient dans les interactions hôte parasite.

#### Remerciements

Nous remercions B. NEMBO pour sa collaboration technique.

## Références bibliographiques

1. BARRETEAU H - Amines biogènes et GABA chez des nématodes et des blattes : cibles pharmacologiques potentielles. Thèse de l'Université Paris-Sud, 1991, 209 p.
2. BEFUS AD, JOHNSTON N & BIENENSTOCK J - *Nippostrongylus brasiliensis*: mast cells and histamine levels in tissues of infected and normal rats. *Exp Parasitol*, 1979, **48**, 1-8.
3. BEN HARARI RR, PARENT ERMINI A & KLEINERMAN J - Metabolism of 5-hydroxytryptophan in the isolated perfused rat lung. *Pharmacology*, 1990, **41**, 272-279.
4. BLACKBURN CC & SELKIRK ME - Inactivation of platelet-activating factor by a putative acetylhydrolase from the gastrointestinal Nematode parasite *Nippostrongylus brasiliensis*. *Immunology*, 1992, **75**, 41-46.
5. DAHLSTROM A & AHLMAN H - Immunocytochemical evidence for the presence of tryptaminergic nerves of blood vessels, smooth muscle cells and myenteric plexus of the rat small intestine. *Acta Physiol Scand*, 1983, **117**, 589-591.
6. ELKIHIL L, GROSCLAUDE JM, NEMBO B, JACQUOT C, GAYRAL P et al. - Synthesis and assay of N-acetyltyptopamine by HPLC with electrochemical detection. Bioassay in *Nippostrongylus brasiliensis* (Nematoda). *J Liq Chromatogr*, 1994, **17**, 3421-3435.
7. ERSPAMER V - Occurrence of indolealkyl amines in nature. In: EICHLER O & FARAH A ed., *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*. Berlin: Springer, 1966, **19**, 132-181.
8. FURNESS JB & COSTA M - Identification of gastro-intestinal neurotransmitters. *Handbook Exp Pharmacol*, 1982, éd. BERTACCINI G, Berlin Springer, **59**, 383-462.
9. GERSHON MD, MAWE GM & BRANCHEK TA - 5-hydroxytryptamine and enteric neurones. In: *Peripheral actions of 5-hydroxytryptamine*. Ed. FOZARD Jr, Oxford University Press, 1989, 247-273.
10. GOUDEY-PERRIÈRE F, GROSCLAUDE J.M, NEMBO B, BARRETEAU H, JACQUOT C & GAYRAL P - Levels of biogenic amines in larvae and adults of the rat hookworm, *Nippostrongylus brasiliensis* (Nematoda). *Comp Biochem Physiol*, A, 1997, **118**, 615-623.
11. HOGABOAM CM, BEFUS AD & WALLACE JL - Intestinal platelet-activating factor synthesis during *Nippostrongylus brasiliensis* infection in the rat. *J Lipid Mediators*, 1991, **4**, 211-224.
12. JAFFE BM - Serotonin in intestinal function. In: *Serotonin: from cell biology to pharmacology and therapeutics*. 1990, PAOLETTI R et al., Eds, 235-239.
13. JARRETT WFH, JARRETT EEE, MILLER HRP & URQUHART GM - Quantitative studies on the mechanism of self cure in *Nippostrongylus brasiliensis* infections. Proc. Conf. WAAVP in: The reaction of the host to Parasitism, 1968, Ed. SOULSBY E.J.L, 191-197.
14. KELLER R - *Nippostrongylus brasiliensis* in the rat: failure to relate intestinal histamine and mast cell levels with worm expulsion. *Parasitology*, 1971, **63**, 473-481.
15. KELLER R & KEIST R - Protective immunity to *Nippostrongylus brasiliensis* in the rat. *Immunology*, 1972, **22**, 767-773.
16. KELLY JD & OGILVIE BM - Intestinal mast cell and eosinophil numbers during worm expulsion in nulliparous and lactating rats infected with *Nippostrongylus brasiliensis*. *Int Arch Allergy App Immunology*, 1972, **43**, 497-509.
17. MEARIN F - Enteric nervous system: Importance of 5-hydroxytryptamine in the control of digestive motility. *Rev Esp Enferm Dig*, 1992, **82**, 104-108.
18. MILLER HRP & JARRETT WFH - Immune reactions in mucous membranes. 1. Intestinal mast cell response during helminth expulsion in the rat. *Immunology*, 1971, **20**, 277-288.
19. MURRAY M, MILLER HRP, SANFORD J & JARRETT WFH - 5-hydroxytryptamine in intestinal immunological reactions. *Int Arch Allergy*, 1971, **40**, 236-247.
20. NEMBO B, GOUDEY-PERRIÈRE F, GAYRAL P, PERRIÈRE C & BROUSSE-GAURY P - Microtopography of *Nippostrongylus brasiliensis* (Nematoda, Heligmosomatidae): parasitic larval stages and adults. *J Morphol*, 1993, **217**, 273-285.
21. NEMBO B, DUIE P, GARCIA M, BRETON P, GAYRAL P et al. - Levels of ecdysteroid-like material in adults of *Nippostrongylus brasiliensis* during the intestinal phase. *J Helminthol*, 1993, **67**, 305-315.
22. OGILVIE BM & JONES VE - *Nippostrongylus brasiliensis*: a review of immunity and the Host/Parasite relationship in the Rat. *Experimental Parasitology*, 1971, **29**, 138-177.
23. POULAIN J, LUFFAU G & PERY P - *Nippostrongylus brasiliensis* in the rat: immune response in serum and intestinal secretions. *Ann Immunol (Inst Pasteur)*, 1976, **127 C**, 215-224.
24. RACKE K & SCHWORER H - Regulation of serotonin release from the intestinal mucosa. *Pharmacological Research*, 1991, **23**, 13-25.
25. RAMASWAMY K & BEFUS D - IgE antibody responses in bronchoalveolar spaces of rats infected with *Nippostrongylus brasiliensis*. *Exp Parasitol*, 1993, **76**, 23-31.
26. UBER CL, ROTH RL, & LEVY DA - Expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* by mice deficient in mast cells. *Nature*, 1980, **287**, 226-228.
27. URBAN JF, MADDEN KB, CHEEVER AW, TROTTA PP, KATONA IM & FINKELMAN FD - IFN inhibits inflammatory responses and protective immunity in mice infected with the Nematode parasite, *Nippostrongylus brasiliensis*. *J Immunol*, 1993, **151**, 7086-7094.
28. WINGREN U, ENERBACK L, AHLMAN H, ALLENMARK S & DAHLSTROM A - Amines of the mucosal mast cell of the gut in normal and nematode-infected rats. *Histochemistry*, 1983, **77**, 145-158.
29. WINGREN U, AHLMAN H, DAHLSTROM A & ENERBACK L - Endoluminal secretion of serotonin and histamine into the small intestine of normal and nematode-infected rats. *Biogenic amines*, 1988, **5**, 297-306.
30. YAMADA M, NAKAZAWA M, MATSUMOTO Y & ARIZONO N - IgE antibody production in rats against multiple components of excretory-secretory products in the Nematode *Nippostrongylus brasiliensis*. *Immunology*, 1991, **72**, 104-108.
31. YAMADA M, NAKAZAWA M & ARIZONO N - IgE and IgG2a antibody responses are induced by different antigen groups of the Nematode *Nippostrongylus brasiliensis* in rats. *Immunology*, 1993, **78**, 298-302.
32. YAMADA M, UCHIKAWA R, NAKAZAWA M, ODA M & ARIZONO N - Dissociation of specific and total IgE antibody responses following repeated low level infections with *Nippostrongylus brasiliensis* in rats. *Clin Exp Immunol*, 1993, **93**, 80-84.