

extracellulairement à l'aide de micropipettes remplies d'une solution de bleu de méthyle dans de l'acétate de K1M et d'une résistance de 7 à 15 M Ω . L'emplacement de la microélectrode, marqué par diffusion iontophorétique du colorant⁵, est vérifié histologiquement sur des coupes au cryostat.

Résultats. L'effet de la stimulation cérébelleuse sur l'activité spontanée des neurones du noyau de Deiters ne diffère pas qualitativement chez le jeune Lapin de celui qui a été décrit chez le Chat adulte^{2,6,7}. Comme le montre le Tableau, les cellules peuvent être réparties en 4 catégories: insensibles, activées, inhibées, activées puis inhibées.

L'activation se traduit par une accélération transitoire de la fréquence de décharge spontanée (Figure F), ou par l'émission d'un ou de plusieurs spikes à haute fréquence (Figure G). L'inhibition se manifeste par un arrêt immédiat de l'activité spontanée de durée variable, suivi d'une reprise de la décharge à la fréquence antérieure (Figure B et C) ou à une fréquence nettement plus élevée (facilitation tardive ou rebond post-inhibiteur Figure D). Lorsque la cellule n'est pas active spontanément, on observe uniquement la reprise de la décharge, ou éventuellement le rebond post-inhibiteur, avec un délai identique à la durée de la phase d'inhibition (Figure E). Certaines cellules ont un comportement complexe, présentant d'abord une brève phase d'excitation, puis une phase d'inhibition suivie d'une reprise de la décharge (Figure H et I).

La durée des inhibitions, constante pour une même cellule, est généralement de 100 à 500 msec, mais peut atteindre plusieurs secondes et semble davantage liée à l'intensité de la stimulation qu'à l'âge. Des stimulations rapprochées tendent à raccourcir nettement la phase d'inhibition, voire à la supprimer. En même temps la reprise de la décharge ou la phase de facilitation tardive succédant à l'inhibition, subissent une «potentialisation» (Figure J) de plus en plus prononcée aussi bien en durée qu'en fréquence, et ceci dès la naissance.

Sur le plan quantitatif, la proportion de cellules inhibées ne varie pas significativement avec l'âge (test de χ^2 : $P > 0,1$). Il en est de même semble-t-il, de la présence d'un rebond post-inhibiteur. En revanche, le

nombre de cellules activées augmente significativement ($P < 0,05$) au fur et à mesure que l'animal avance en âge et réciproquement, le nombre de cellules insensibles diminue jusque vers la troisième semaine post-natale.

Discussion. Les résultats exposés montrent que la stimulation du cortex cérébelleux se révèle efficace dès les premières heures suivant la naissance provoquant aussi bien des activations que des inhibitions.

En ce qui concerne ces dernières, la proportion de cellules inhibées chez l'animal jeune ne différant pas significativement de celle de l'adulte, on peut en inférer que dès la naissance, les cellules de Purkinje bien qu'immatures sont capables d'inhiber les structures sous-jacentes. Si l'on fait l'hypothèse que le contrôle cérébelleux sur les noyaux intracérébelleux s'établit chronologiquement comme sur le noyau de Deiters, l'absence de contrôle cérébelleux sur le noyau Rouge pendant la 1^{re} semaine post-natale⁴ doit relever plutôt d'une immaturité des voies interposito-rubriques que cérébello-interpositaires.

La potentialisation de la phase tardive succédant à l'inhibition est un autre point à souligner. Si l'on admet qu'elle traduit comme chez le chat adulte la dépression de l'activité des cellules de Purkinje par mise en jeu des interneurons inhibiteurs du cortex cérébelleux⁶, cela signifierait que chez le Lapin certains de ceux-ci sont présents et fonctionnels dès la naissance. Par contre l'augmentation du nombre de cellules activées indiquerait la maturation progressive des afférences puisque ce sont des collatérales de celles-ci qui, entre autres, provoquent cette activation^{2,8}.

On pourrait donc conclure de ces résultats que la voie cérébelleuse efférente est potentiellement apte à fonctionner dès la naissance mais que la carence qui existe alors dans la fourniture afférente modifie probablement de façon sensible l'équilibre entre les actions excitatrices et inhibitrices qui s'exercent sur les cellules de Purkinje.

Summary. The inhibitory cerebellar control of the spontaneous firing of Deiters' neurones has been demonstrated from the early post natal hours in the rabbit.

N. DELHAYE-BOUCHAUD et P. LAGET

Laboratoire de Physiologie Générale de l'Université,
Paris VI, Bâtiment B, 9, quai St. Bernard,
F-75005 Paris (France), 25 Octobre 1972.

	Insensibles	Activées	Inhibées	Activées puis inhibées	Total
Quelques heures à 1 j.	21	10	40	4	75
2 j.	24	5	32	11	72
3 et 4 j.	21	12	38	9	80
5 à 8 j.	11	6	13	10	40
10 à 20 j.	7	4	20	14	45
> 20 j.	9	10	32	13	64

⁵ R. C. THOMAS et V. J. WILSON, *Science* 151, 1538 (1966).

⁶ M. ITO, N. KAWAI, M. UDO et N. SATO, *Expl Brain Res.* 6, 247 (1968).

⁷ M. ITO, N. KAWAI, M. UDO et N. MANO, *Expl Brain Res.* 8, 249 (1969).

⁸ R. LORENTE DE NO, *Archs Neurol. Psychiat.* 30, 245 (1933).

Volume Changes in the Cell Nuclei of the Ventromedial Nucleus of the Rabbit Following Hemorrhage

The size of a cell nucleus is a sensitive criterion of the functional state of the cell¹. In the hypothalamus changes in the nuclear size of specific groups of cells have been reported after castration², thyroidectomy³, adrenalectomy^{4,5}, during the different phases of the estrous cycle⁶, during the annual antler growth cycle in the roe-deer⁷ and also after coitus in female rabbits⁸. Neurogenic stress induced by formalin injection causes diminution of the nuclear diameter of ventromedial nucleus (VMN) cells^{4,5}. In all of these studies the time course of this response was not followed. In order to investigate the influence of a

systemic stress and the length of its effect a karyometric study of the VMN response to hemorrhage was performed in rabbits. For detection of the specificity of the response in the VMN comparisons with the response in the cell nuclei from the nucleus ceruleus (NC) and the cerebellar cortex (CC) were made. The results from the NC area have been published previously⁹.

Material and methods. Rabbits (2.5–3.0 kg), were bled from the carotid artery under local anaesthesia. The insertion of a carotid cannula was performed during an period of about 15 min. Some 70 ml of blood was taken

and after 1 min. 40 ml of heparinized blood from another rabbit was retransfused within 3 min. The animals were sacrificed at defined intervals after hemorrhage by air embolism. The brain was perfused with physiological saline and then fixed with Bouin's fluid. The hypothalamus was embedded in paraffin and 10 μ m serial sections were stained with hematoxylin and eosin. The nuclear diameters (200 cells each of VMN and NC in each animal) were determined as described previously⁷. The controls were sacrificed by air embolism. For statistical evaluation the analysis of variance test was used.

Results. The nuclear diameter of the VMN cells in controls was 8.88–9.03 μ m (range of mean diameters in individual animals). The animals sacrificed immediately after insertion of the carotid cannula showed a non-significant decrease in the size of the cell nuclei in the VMN ($P \geq 0.05$). Within the first 15 min after bleeding there was a rapid diminution in the size of the cell nuclei in the VMN and a minimum was found 30 min after the hemorrhage ($P \leq 0.01$). This was followed by a non-significant increase between the 45th and 60th min. Then the size decreased slightly again reaching a second minimum in the 75th min. After 90 min the cell nuclei of the VMN increased in size again ($P \leq 0.01$) (see Figure).

The nuclear diameter of the NC cells of the control animals was 10.33–10.47 μ m (range of mean diameters in individual animals). After about 18 min from the beginning of hemorrhage the nuclei of the NC cells began to enlarge. The increase reached a stable plateau 45 min after the onset of the hemorrhage. From that time on, the nuclei exhibited no significant change during the course of this experiment ($P \geq 0.05$). The early change (rise) in NC nuclear diameter following hemorrhage is the reverse of the change (drop) found in the VMN.

The nuclear diameters of the CC cells does not change significantly ($P \geq 0.05$) during the experimental period.

Discussion. The reverse pattern of nuclear change in the NC as compared to the VMN and no changes in the CC indicates that the changes in the VMN are not produced by some non-specific influence causing shrinkage of the cellular nuclei, for example hypoxia¹⁰.

After neurogenic stress reduction of the nuclear size of the VMN cells has been reported in rats^{4,11}. PALKOVITS and MITRO⁵ assume that the VMN area and the arcuate nucleus (ARN) contain cortico-steroid-sensitive neurons

and that the changes of the nuclear volume of the VMN and ARN cells after stress results from changes in circulating corticosteroids. This suggestion is supported by findings that treatment with corticoids decreases the nuclear size of VMN cells^{5,11}. On other hand SZENTHAGOTHAÏ et al.⁴ reported enlargement of the nuclear size of VMN cells after corticoid treatment.

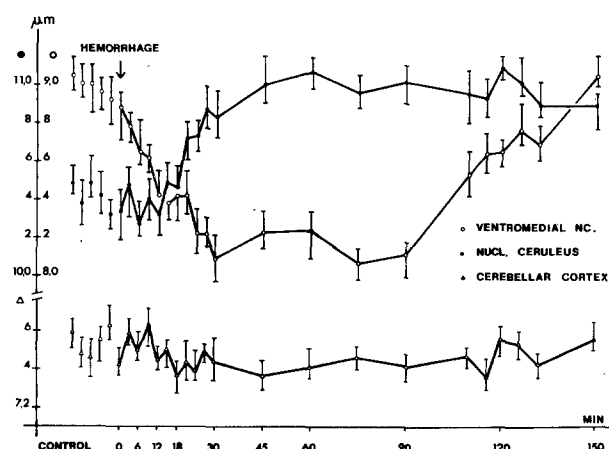
In the present study both, decreasing and increasing of the nuclear size of the VMN cells were found depending on the time after hemorrhage (Figure). The fast change in the nuclear size of the VMN cells (rapid diminution in 10–20 min) correlates with the fast activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Stress increases hypothalamic CRF content in less than 2 min^{12,13}, raises ACTH plasma levels in a few min¹⁴ and elevates plasma levels of corticoids within 10 min after the beginning of the reaction^{15,16}. The two-phase reaction (decrease followed by an increase in the nuclear size of VMN cells) may be connected with the findings of a biphasic response in the median eminence content of CRF following noxious stimuli reported by HIROSHIGE et al.¹⁶. The time sequence of the biphasic response of the VMN cells after hemorrhage is remarkably similar to the HIROSHIGE findings.

The VMN area is connected not only with corticoid secretion but also with the secretion of growth hormone¹⁷. Growth hormone levels in blood change very quickly after stress stimulation¹⁸ raising in primates and falling in the rat. Therefore the exactly relationship of described changes is not yet possible.

Zusammenfassung. Der Einfluss der starken Blutentnahme auf die Grösse der Zellkerne im Nucleus ventromedialis (VMN) wurde am Kaninchenhypothalamus untersucht und mit der Kerngrösse im Nc. ceruleus und im cerebellaren Cortex verglichen. Es wurde festgestellt, dass die morphologischen Veränderungen im VMN in drei Phasen verlaufen: 1. schnelle Kernverkleinerung, 2. Plateauphase und 3. Kernvergrößerung. Als Kontrollen wurden Tiere mit implantierten Carotiskanülen ohne Blutentnahme verwendet.

G. A. BUBENIK

Clarke Institute of Psychiatry, Neuroendocrinology,
Research Section, 250 College Street,
Toronto 130 (Canada M5T 1R8), 26 September 1972.



Time course of changes in the nuclear diameter of cells in the ventromedial nucleus, the nucleus ceruleus and cerebellar cortex following hemorrhage in rabbit. Each of the points represents the mean and standard error of the nuclear diameter of one single animal.

- ¹ H. SZENTHAGOTHAÏ, B. FLERKO, B. MESS and B. HALASZ, *Hypothalamic Control of the Anterior Pituitary* (Akad. Kiado, Budapest 1962).
- ² D. W. PFAFF, *J. Endocr.* 36, 415 (1966).
- ³ H. D. PURVES, *Acta endocr. Suppl.* 50 (1960).
- ⁴ H. HALASZ and J. SZENTHAGOTHAÏ, *Z. Zellforsch.* 50, 297 (1972).
- ⁵ M. PALKOVITS and E. STARK, *Neuroendocrinology* 10, 23 (1972).
- ⁶ F. DÖCKE and G. KOŁOCZEK, *Endokrinologie* 50, 225 (1966).
- ⁷ G. A. BUBENIK, *J. Anim. Sci.* 35, 967 (1972).
- ⁸ R. E. CLATTENBURG, *Z. Zellforsch.* 125, 448 (1972).
- ⁹ G. A. BUBENIK and M. MONNIER, *Expl Neurol.* 35, 1 (1972).
- ¹⁰ J. CAMMERMAYER, *Acta neuropath.* 7, 245 (1961).
- ¹¹ M. PALKOVITS and M. MITRO, *Neuroendocrinology* 3, 200 (1968).
- ¹² J. VERNIKOS-DANELIS, *Endocrinology* 76, 122 (1965).
- ¹³ T. HIROSHIGE and T. SATO, *Neuroendocrinology* 7, 257 (1971).
- ¹⁴ E. S. REDGATE, *Endocrinology* 86, 806 (1970).
- ¹⁵ G. M. BROWN, L. J. GROTA, D. B. PENNEY and S. REICHLIN, *Endocrinology* 86, 519 (1970).
- ¹⁶ T. HIROSHIGE, T. SATO and K. ABE, *Endocrinology* 89, 1287 (1971).
- ¹⁷ L. L. BERNARDIS and L. A. FROHMAN, *Neuroendocrinology* 6, 319 (1970).
- ¹⁸ G. M. BROWN and S. REICHLIN, *Psychosom. Me.* 34, 45 (1972).
- ¹⁹ Acknowledgments. The author wishes to thank Dr. G. M. BROWN, Prof. Dr. M. MONNIER und Dr. M. FALLERT for their valuable advice.