

УДК 577,112,5;612,8;615,919;616,858

DOI:10.54503/0514-7484-2023-63.1-88

**Синаптические процессы в околотоводопроводном сером  
веществе мозга при активации большого ядра шва  
на модели болезни Паркинсона в условиях  
протекции меланином**

**Л.Ж. Тадевосян**

*Институт физиологии им. Орбели НАН РА  
0028, Ереван, ул.Бр.Орбели,22*

*Ключевые слова: Periaqueductal gray matter, Raphe magnus nucleus, ротеноновая  
модель болезни Паркинсона, меланин*

Околотоводопроводное серое вещество мозга (*Periaqueductal gray matter* – PAG) – ключевая структура в распространении и модуляции боли, симпатических реакций, в обучении и действиях защитного и аверсивного (вредного) поведения. В частности, PAG отвечает за нисходящую модуляцию восприятия боли, в том числе за ее подавление и облегчение [3,4, 6] основных компонентов хронической боли, которые могут привести к депрессии и тревоге [17]. PAG также участвует в защитном поведении, посредством оценки рисков и реакции на угрозы. Кроме того, PAG может оказывать воздействие не только на модуляцию боли, но и на последующие поведенческие реакции и реакцию памяти на болезненные стимулы [17]. Высшие структуры, вовлекаемые при двунаправленном контроле боли, включают поясную извилину, островковую кору, миндалину, перивентрикулярный и заднебоковой гипоталамус, PAG, вентромедиальный мозг и дорсолатеральную покрывку моста [2, 14, 15, 20]. В частности, PAG активирует ядра шва (*Raphe nucleus*) через глутамат, а последние активируют энкефалиновые нейроны, подавляющие сигналы боли, посредством С-афферентных волокон [7]. К тому же в антиноцицептивные эффекты PAG вовлечены рецепторы серотонина, включая 5-НТ [2]. PAG играет важную роль в болезненных состояниях, включая тревогу, панические расстройства и депрессию, хронические стрессовые состояния [5]. Более того, PAG вовлекается не только в антиноцицептивный эндогенный опиоидный, но и неопиоидный контроль боли [5]. Далее, одной из структур, рано поражаемых при болезни Паркинсона (БП), является большое ядро шва (*Nucleus raphe magnus* – RMG) [16]. RMG может поразить болевой процесс на множественных уровнях, от передачи с периферических структур к высшим центрам до их восприятия и ответной реакции,

вовлекаясь в аффективное и когнитивно-оценочное измерение боли, болевую память и автономные ответы [19]. В целом, RMG, PAG, а также голубое пятно (*Locus coeruleus*) – структуры, играющие важную роль в модуляции спинальной ноцицептивной передачи и участвующие в нисходящей регуляции антиноцицептивных путей торможением ноцицептивных стимулов от нейронов дорзального рога [9, 12]. Наконец, RMG, будучи важным участком эндогенной болевой тормозной системы в ростровентральном продолговатом мозге, воспринимает проекции от PAG [10]. В свою очередь, PAG воспринимает проекции от дорзального отдела ядра шва (*Dorsal raphe nucleus*) [22]. Нарушение в этой больотормозящей системе может вызвать повышение ощущения боли [21].

В настоящем исследовании проведено изучение соотношения возбуждательных и депрессорных ответов одиночных нейронов PAG при стимуляции RMG, с целью оценки механизмов их поражения на ротеноновой модели БП и успешности протекции меланином, в сравнении с нормой.

### Материал и методы

Проведены электрофизиологические исследования на 7 крысах линии Альбино ( $250 \pm 30$  г): интактных ( $n=2$ ), на ротеноновой модели БП, индуцированной унилатеральным введением ротенона и выдержанных до опыта 4 нед. ( $n=2$ ) и в условиях протекции меланином (14 инъекций через день в дозе 170 мг/кг) ( $n=3$ ). Введение ротенона осуществляли в условиях нембуталового наркоза (40 мг/кг, в/б) из расчета 12 мкг в 0,5 мкл димексида (со скоростью 1 мкл/мин) в «*medial forebrain bundle*» по координатам стереотаксического атласа [18] ( $AP+0,2$ ;  $L \pm 1,8$ ;  $DV+8$  мм). Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями руководства ARRIVE [11]. В стереотаксическом аппарате производили трепанацию черепа от брегмы до лямбды и вскрывали твердую мозговую оболочку. Стеклообразные микроэлектроды с диаметром кончика 1-2 мкм, заполненные 2М NaCl, вводили в PAG согласно стереотаксическим координатам ( $AP-4,92$ ;  $L \pm 2,0$ ;  $DV+5,7$  мм) для экстраклеточной регистрации спайковой активности одиночных нейронов. Осуществляли высокочастотную стимуляцию (ВЧС) RMG посредством прямоугольных толчков тока длительностью – 0,05 мс, амплитудой 0,12–0,18 мВ, силой тока 0,32 мА и частотой 100 Гц в течение 1 сек, согласно стереотаксическим координатам ( $AP-11,6$ ;  $L \pm 2,0$ ;  $DV+10,3$  мм) (рис. 1). Операции осуществляли на наркотизированных животных (уретан 1,2 г/кг, в/б), зафиксированных в стереотаксическом аппарате. Также животные обездвигивались 1% дитилином (25 мг/кг, в/б) и переводились на искусственное дыхание. Активность проявлялась в виде тетанической депрессии (ТД) и тетанической потенциации (ТП) с последующей посттета-

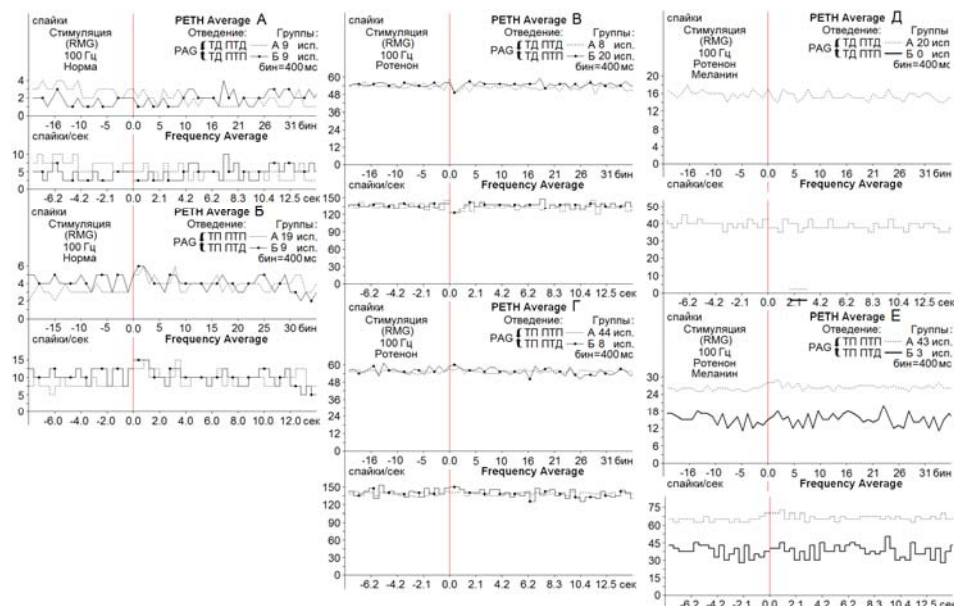


Рис. 1. Усредненные перистимульные (PETN Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average) депрессорных, депрессорно-возбудительных (А, В, Д, группы А, Б) и возбудительных, возбудительно-депрессорных постстимульных проявлений активности нейронов PAG (Б, Г, Е, группы А, Б) при ВЧС (100 Гц, 1 сек) PAG в норме (А, Б), на модели БП (В, Г) и с протекцией меланином (Д, Е). Для групп указано количество испытаний (исп.)

нической потенциации (ПТП) и посттетанической депрессией (ПТД) различной латенции, выраженности и длительности. Проводили программный математический анализ одиночной спайковой активности 193 нейронов. Постстимульные проявления активности оценивали online регистрацией и программным математическим анализом, позволяющим селекцию спайков амплитудной дискриминацией с выводом «растеров» перистимульного спайкинга нейронов, построением гистограмм суммы и диаграмм усредненной частоты спайков (разработчик В.С. Каменецкий). Производили далее многоуровневую статистическую обработку в отдельности для пре- и постстимульного отрезков времени и периода ВЧС. Для избираемых сравниваемых групп спайкинга нейрональной активности, а также произвольно избранных испытаний в отдельном нейроне, строили суммированные и усредненные перистимульные (PETN Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average) с вычислением средней частоты спайков. Анализ полученных данных производили по специально разработанному алгоритму, обеспечивающему достоверность перистимульных изменений межспайковых интервалов. Однородность двух независимых выборок контролировалась t-критерием Стьюдента. С целью повы-

шения статистической достоверности перистимульных изменений межспайковых интервалов использовали также двухвыборочный критерий Манна-Уитни Вилкоксона (Wilcoxon-Mann-Whitney test), в качестве непараметрического, оценивающего однородность независимых двух выборок. Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико (до нескольких сотен спайков за 20 сек), использовалась разновидность указанного теста z-тест, определяющая его асимптотическую нормальность. Учет критических значений в сравнении с таковыми нормального распределения при уровнях значимости 0,05; 0,01 и 0,001 (для различных испытаний) показывает, что в большинстве случаев спайкинга нейрональной активности при ВЧС статистически значимое изменение достигало, как минимум, уровня 0,05.

### Результаты и обсуждение

Производили экстраклеточную регистрацию спайковой активности одиночных нейронов РАГ в норме (46 нейронов,  $n=2$ ), на модели БП (80 нейронов,  $n=2$ ) и с протекцией меланином (67 нейронов,  $n=3$ ).

Посредством анализа на основе усредненного количества спайков (PETH), с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты в Гц (Frequency Average), были обнаружены следующие изменения нейрональной активности. В нейронах РАГ в ответ на ВЧС RMG ТД в обеих последовательностях в норме определялась порядка 1,5- и 1,0-кратного снижения престимульной активности соответственно (рис. 1 А, группы А, Б). ТП, сопровождаемая ПТП и ПТД, выявлялась в пределах 1,2- и 1,2-кратного превышения престимульной активности (рис. 1 Б, группы А, Б). В нейронах РАГ при ВЧС RMG ТД на модели БП определялась в пределах 1,20- и 1,13-кратного занижения престимульной активности в обеих последовательностях соответственно (рис. 1 В, группы А, Б), а ТП исчислялась порядка 1,15- и 1,21-кратного превышения престимульной активности в обеих последовательностях (рис. 1 Г, группы А, Б). В нейронах РАГ на ВЧС RMG ТД в обеих последовательностях на модели БП в условиях воздействия меланина, достигала 1,13- и 0,00-кратного занижения престимульной активности, а тетаническая – 1,04- и 1,20-кратного превышения (рис. 1 Д, Е, группы А, Б). Иными словами, не выявлено особой разницы в относительной кратности постстимульных проявлений синаптической активности данным методом анализа экспериментальных результатов. Однако, учитывая искажение синаптической активности при высокой частоте импульсной активности следует повременить с окончательной оценкой результатов до измерений частоты пре- и постстимульной активности изученных нейронов, о чем речь будет идти позднее.

При оценке относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных и возбуждательных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растеров пре- и постстимульных депрессорных и депрессорно-возбуждательных разнонаправленных проявлений спайковой активности нейронов в норме, на модели БП и в условиях протекции, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, включая время ВЧС, получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для наглядного представления степени выраженности, в том числе и в частотном отображении (в %) на рис. 4 (на основе рис. 2, 3), которые привели к следующему выводу. Значения ТД в депрессорной и депрессорно-возбуждательной последовательностях и уровни ТП в возбуждательной и возбуждительно-депрессорной последовательностях нейронов PAG на ВЧС RMG в норме достигали 1,33- и 1,66- кратного занижения и 1,87- и 1,36-кратного превышения (рис. 3 А-Г; 4 А-Г), в сравнении с престимульным уровнем активности соответственно. Как видно, указанные значения отличались незначительно, что свидетельствует о фактическом балансе депрессорных и возбуждательных постстимульных проявлений активности исследуемых нейронов. Значения ТД в обеих депрессорных последовательностях и уровни ТП в таковых возбуждательных нейронов PAG на ВЧС RMG на модели БП, в сравнении с престимульным уровнем активности, также не отличались достаточно (1,10- против 1,07- и 1,05- против 1,10-кратного) (рис. 2 Д-З; 4 А-Г), что свидетельствует об отсутствии превалирования возбуждательных постстимульных проявлений активности над депрессорными на этом уровне анализа. Наконец, в нейронах PAG на ВЧС RMG значения ТД в депрессорной и депрессорно-возбуждательной последовательности и уровни ТП в возбуждательной и возбуждительно-депрессорной последовательности, в сравнении с престимульным уровнем активности, на модели БП в условиях протекции меланином, исчислялись в пределах 1,10- и 0,00-кратного занижения и 1,11- и 1,12-кратного превышения престимульной активности (рис. 3 А-В; 4 А-Г).

Иными словами, в условиях протекции, как в депрессорной, так и в возбуждательной последовательности также не было выявлено существенных изменений, в сравнении с таковыми на модели БП без протекции.

Интересная картина была выявлена при анализе пре- и постстимульной частоты активности нейронов PAG на ВЧС RMG в указанных экспериментальных условиях. Престимульная частота активности, предшествующая депрессорным эффектам в норме и на модели БП, достигала кратных значений 10,65; 5,02 и 135,10; 133,54 соответственно, а предшествуемая возбуждательными последовательностями – 8,02; 12,18 и 134,24; 137,72 соответственно (рис. 2 А-З; 4 Д-З). Престимульная частота активности в нейронах PAG, предшествуемая депрессорными и возбуждательными последовательностями в условиях протекции меланином

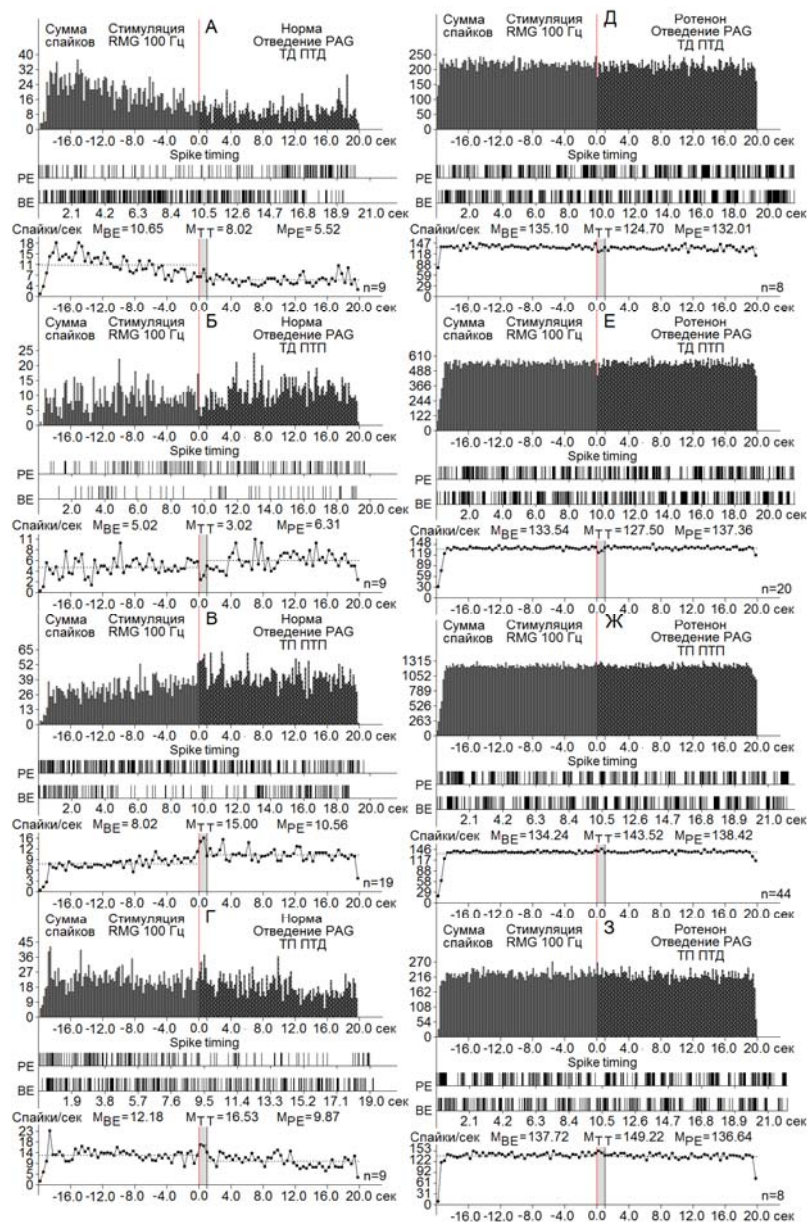


Рис. 2. А-Г – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных ТД проявлений активности ТД ПТД (А, Д), в сочетании с посттетаническими возбудительными – ТД ПП (Б, Е), возбудительных – ТД ПП (В, Ж), сопровождаемых депрессорными (Г, 3), в нейронах RMG, вызванных на ВЧС PAG в норме (А-Г), на модели БП (Д-3) и с протекцией в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции). Растеры активности на А-Г – детальный анализ произвольно избранных одиночных нейронов из данной группы. Диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (М) для временных отрезков до (BE-before event), на время тетанизации (TT-time tetanization) и после стимуляции (PE-post event). Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

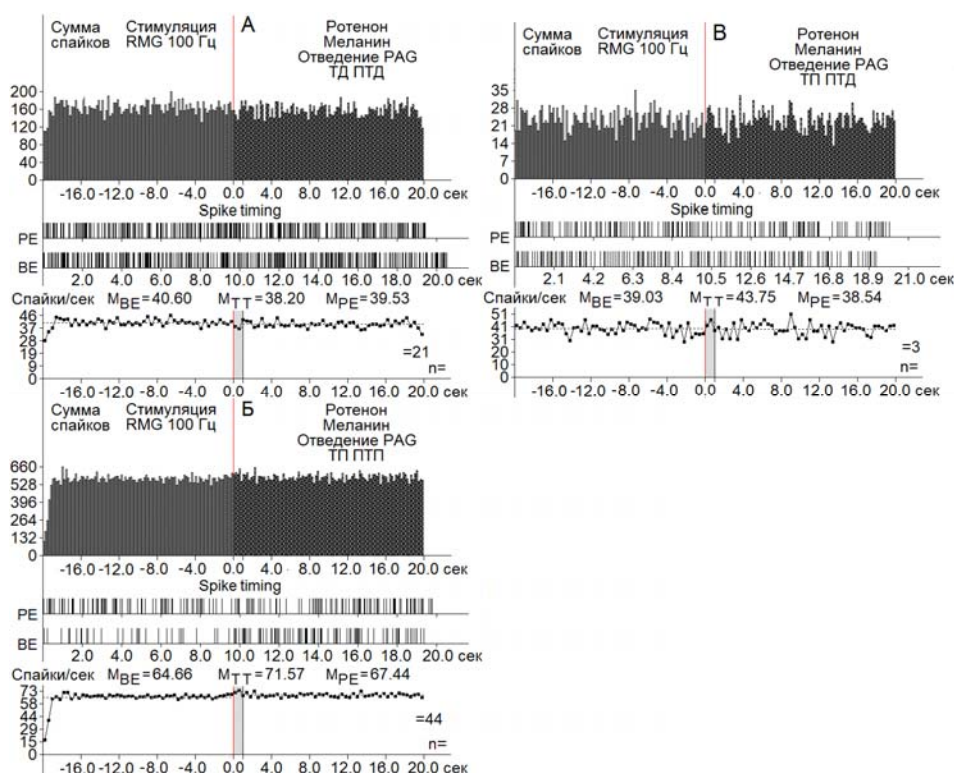


Рис. 3. А, Б – перистимульные гистограммы суммы спайков с диаграммой частоты спайков, с усредненными значениями, сконструированные на основе пре- и постстимульных тетанических депрессорных, в сочетании с депрессорными (А), возбуждательных, в сочетании с возбуждательными и депрессорными проявлениями (Б, В) спайковой активности одиночных нейронов PAG при ВЧС RMG на модели БП. Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

исчислялась в пределах 40,60; 0,00 и 64,66; 39,03 соответственно, по сравнению с 10,65; 5,02 и 8,02; 12,18 в норме и 135,10; 133,54 и 134,24; 137,72 в патологии без протекции (рис. 2 А-З; 3 А-В; 4 Д-З). Иными словами, в патологии с протекцией престимульная частота активности, предшествуемая депрессорными постстимульными эффектами, понизилась (3,33-, 133,5-кратно соответственно), приблизившись к норме в депрессорной последовательности порядка 40,60 против 10,65 и 0,00 против 5,02. Престимульная частота, предшествуемая двумя возбуждательными эффектами, в условиях протекции, также претерпела значительное снижение (2,07- и 3,53-кратно соответственно), что, очевидно, свидетельствует в пользу протекции, более чем успешно справляемой с эксайто-токсичностью.

Что же касается постстимульной частоты активности нейронов PAG на ВЧС RMG, то в норме, будучи сопровождаемой депрессорными и возбуждательными постстимульными эффектами, она достигала 8,02; 3,02;



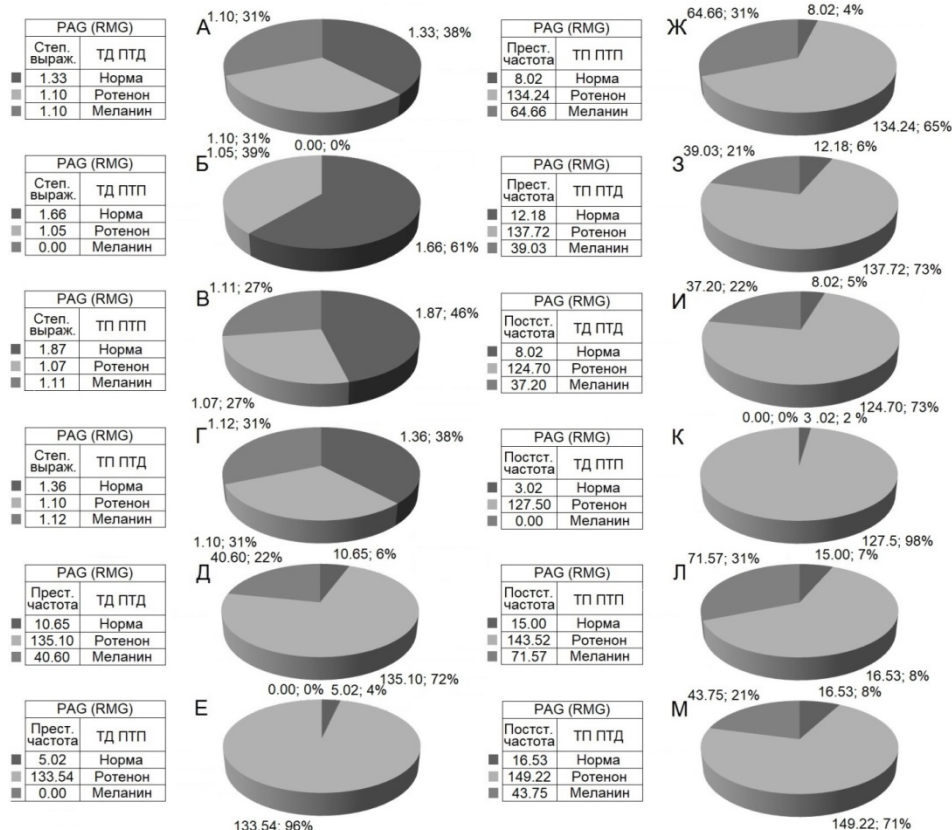


Рис. 4. А-М – процентное соотношение степени выраженности (по усредненной частоте А-Г), депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбудительных (ТД ПТП), возбудительных (ТП ПТП) и возбудительно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах RMG при ВЧС PAG, а также частоты престаимпульной (Д-З) и постстимульной (И-М) активности, предшествующих и сопровождаемых указанными проявлениями постстимульной активации, в норме, на ротиноновой модели БП и в условиях протекции меланином. Обозначения: степ. выраж. – степень выраженности, прест. – престаимпульная, постст. – постстимульная

15,00 и 16,53, а на модели БП 124,70; 127,50; 143,52 и 149,22 (рис. 2 А-З; 4 И-М). Иными словами, постстимульная частота активности на модели БП, сопровождаемая депрессорными реакциями, превысила норму 15,55- и 42,22-кратно, и превысилась порядка 9,57- и 9,03-кратно, сопровождаемая возбудительными эффектами. Таким образом, имело место мощное повышение частоты постстимульной активности, свидетельствующее опять-таки, как и в случае престаимпульной частоты, о громадной эксайтотоксичности. Наконец, в условиях протекции, произошло резкое снижение депрессорной постстимульной частоты активности на модели БП (124,70 против 37,20 и 127,50 против 0,00), с приближением к норме (37,20 против



8,20 и 0,00 против 3,02, т.е. 4,53- и 3,02 -кратно), и резкое снижение таковой, сопровождаемой возбуждательными эффектами (71,57 против 143,52 и 43,75 против 149,22, т.е. 2,00- и 3,41-кратно), с приближением к норме (15,00 и 16,53), что свидетельствует об успешном протекторном эффекте меланина (рис. 2; 3; 4 И-М).

Таким образом, на модели БП выявлена мощная эксайтотоксичность, вследствие сверхактивации NMDA и AMPA глутаматных рецепторов [13], сопровождаемая рядом отрицательных последствий в виде нарушения кальциевой буферизации, генерации свободных радикалов, активации митохондриальной проницаемости [8], что указывает на глубокое нейродегенеративное поражение важной антиноцицептивной структуры RMG при БП, содействующее возникновению стойкой хронической боли. Очевидна необходимость углубления депрессорных эффектов и снижения чрезмерных возбуждательных [1].

*Поступила 08.07.22*

### **Մինապտիկ պրոցեսները ուղեղի պերիակվեդուկտալ մոխրագույն նյութում՝ կարի մեծ կորիզի ակտիվացման ժամանակ Պարկինսոնի հիվանդության մոդելում՝ մելանինի պաշտպանության ներքո**

**Լ.Ժ. Թադևոսյան**

Անցկացվել են էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտություններ Periaqueductal gray matter-ի (PAG) 193 եզակի նեյրոնների ակտիվության գրանցմամբ, Raphe magnus neurons-ի (RMg) բարձր հաճախականությամբ ստիմուլյացիայի դեպքում 5 Ալբինո գծի առնետների (250±30գ) վրա: Որոնցից, ինտակտ (n=2) Պարկինսոնի հիվանդության ռոտենոնային մոդելում, ռոտենոնի ունիլատերոս ներարկմամբ և 4 շաբաթ մինչև փորձը պահպանված: Ինչպես նաև մելանինի պաշտպանության ներքո, 14 ներարկում օրումեջ (n=3): RMg-ի բարձր հաճախականությամբ ստիմուլյացիայի դեպքում PAG նեյրոններում Պարկինսոնի հիվանդության մոդելի վրա և մելանինի պաշտպանության ներքո, նորմալի համեմատությամբ գրգռիչի դեպրեսոր տիտանիկ էֆեկտների ցուցանիշների համեմատության դեպքում զգալի տարբերություն չի նկատվել: Նյարդադեգեներացիային հաջորդող էքսայթոքսիկության առկայության համար հիմք է հանդիսացել նախա- և հետստիմուլային հաճախականության ակտիվացման հետագա մանրամասն վերլուծությունը: Որոնց նախորդում և ուղեկցում են գրգռիչ և դեպրեսոր հետստիմուլային տիտանիկ էֆեկտները: RMg-ի բարձր հաճախականությամբ ստիմուլյացիայի դեպքում PAG նեյրոնների հաճախականության ակտիվացման նախաստիմուլային վերլուծությունը, որին նախորդել են դեպրեսոր և գրգռիչ հետստիտանիկ ռեակցիաները, Պարկինսոնի հիվանդության մոդելում և մելանինի պաշտպանության ներքո,

բերել է հետևյալ եզրակացության՝ 3,33-, 133,54- և 2,07-, 3,53-անգամյա նվազում, համեմատած Պարկինսոնի հիվանդության մոդելում առանց մելանինի պաշտպանության, որը մոտեցել է նորմային (40,60-ը 10,65-ի հակառակ և 0,00-ն 5,02-ի համեմատ): Մելանինի պաշտպանության ներքո PAG նեյրոնների հաճախականության հետստիմուլային ակտիվացումը համեմատած նույնի հետ, առանց մելանինով պաշտպանության և ուղեկցվող դեպրեսոր տիտանիկ էֆեկտներով՝ հայտնվել է 5,42- և 7,84-անգամ նվազած: Իսկ հաճախականության հետստիմուլային ակտիվացումը, որն ուղեկցվում է գրգռիչ հետստիմուլային հաջորդականությամբ, հասել է 3,16-անգամյա նվազման, նորմային հասնելու միտումով: Վերը նշվածը, ընդհանուր առմամբ, վկայում է էքսայթոթոքսիկությունը հակազդող ավելի քան հաջողված լինելուն: Իսկ էքսայթոթոքսիկությունը, ինչպես հայտնի է, հանգեցնում է նեյրոնների մահվան:

### **The Synaptic Processes in Periaqueductal Gray Matter under Raphe Magnus Nucleus Activation on the Model of Parkinson's Disease in Condition of Protection by Melanin**

**L. J. Tadevosyan**

The electrophysiological investigation with recording 193 single neurons of Periaqueductal gray matter (PAG) at high frequency stimulation (HFS) of Raphe magnus (RMG) on 7 Albino rats ( $250 \pm 30$  g.): intact ( $n=2$ ) on the rotenone model of Parkinson's disease (PD), induced by unilateral administration of rotenone and sustained for 4 weeks before the experience. As well as 14 injections ( $n=3$ ), under melanin protection, has been conducted every other day. In neurons of PAG at HFS of RMG, on the model of PD and in condition of action of melanin, in comparison with the norm, only at the level of taking into account the multiplicity of changes of comparative indicators of poststimulus manifestations of excitatory and depressor tetanic effects no particular difference was found. The basis for the assertion of excitotoxicity accompanying neurodegeneration was follow-up detailed analysis of pre- and poststimulus frequency of activation, preceded and accompanied by excitatory and depressor poststimulus tetanic effects. Analysis of the prestimulus frequency of activation of PAG neurons at RMG HFS, preceded by depressor and excitatory post-tetanic reactions on PD models with melanin protection, led to the conclusion that 3.33-, 133.54- and 2.07-, 3.53-multiple of its reduction, in comparison with the PD model without protection, with approximation to the norm (40,60 against 10,65 and 0,00 against 5,02). Poststimulus frequency of activation of PAG neurons in condition of protection, compared to one without it, accompanied by depressor tetanic effects turned out to be 5.42- and 7.84-fold reduced, and post-stimulus activation frequency, accompanied by an excitatory post-stimulus sequence, a 3.16-fold decrease reached, with a tendency to approach the norm. Noted, in general, indicates more than successful opposition to excitotoxicity, inevitably leading to the death of neurons.

## Литература

1. Саркисян Дж.С., Погосян М.В., Даниелян М.А. и др. Назначение депрессорных синаптических процессов в условиях специфической нейродегенеративной патологии и протекции. LAP LAMBERT Academic Publishing RU. 2018.
2. Back FP., Carobrez AP. Periaqueductal gray glutamatergic, cannabinoid and vanilloid receptor interplay in defensive behavior and aversive memory formation. *Neuropharmacology*, 2018, 135: 399-411.
3. Baptista-de-Souza D., Pelarin V., Canto-de-Souza L., Nunes-de-Souza RL., Canto-de-Souza A. monoaminergic pain modulation: bidirectional control and clinical relevance. *Neurology*, 2008, 71 (3): 217-21.
4. Benarroch E. E. Descending pain control. *Joint Bone Spine*, 2006, 73(1): 10-16.
5. Bourbia N., Pertovaara A. Involvement of the periaqueductal gray in the descending antinociceptive effect induced by the central nucleus of amygdala. *Physiol. Res.*, 2018, 67(4): 647-655.
6. Calvino B., Grilo RM. Central Interplay between 5-HT<sub>2C</sub> and 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the dorsal periaqueductal gray in the modulation of fear-induced antinociception in mice. *Neuropharmacology*, 2018, 140: 100-106.
7. de Oliveira R., de Oliveira RC., Falconi-Sobrinho LL., da Silva Soares R., Coimbra NC. 5-Hydroxytryptamine<sub>2A/2C</sub> receptors of nucleus raphe magnus and gigantocellularis/paragigantocellularis pars  $\alpha$  reticular nuclei modulate the unconditioned fear-induced antinociception evoked by electrical stimulation of deep layers of the superior colliculus and dorsal periaqueductal grey matter. *Behav. Brain Res.*, 2017, 316: 294-304.
8. Dong Xiao-xia, Wang Yan, Qin Zheng-hong. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacologica Sinica.*, 2009, 30: 379-387.
9. Gebhart G. F. Descending modulation of pain. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2004, 27: 729-737.
10. Hornung J.-P., Jean-Pierre Hornung. *The Human Nervous System* (Third Edition), 2012.
11. Kilkenny C., Browne W., Cuthill I. C., Emerson M., Altman D. G. Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines 06 July 2010.
12. Kuraishi Y., Fukui K., Shiomi H. et al. Microinjection of opioids into the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat: analgesia and increase in the normetanephrine level in the spinal cord. *Biochem. Pharmacol.*, 1978, 27: 2756-2758.
13. Matthew R. H., Heather L. S., Peter R. D. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *NCI*, 2004, 45 (5): 583-595.
14. McGaraughty S., Farr DA., Heinricher MM. Lesions of the periaqueductal gray disrupt input to the rostral ventromedial medulla following microinjections of morphine into the medial or basolateral nuclei of the amygdala. *Brain Res.*, 2004, 1009(1-2): 223-7.
15. Menant O., Andersson F., Zelena D., Chaillou E. The benefits of magnetic resonance imaging methods to extend the knowledge of the anatomical organisation of the periaqueductal gray in mammals. *J. Chem. Neuroanat.*, 2016, 77: 110-120.

16. *Millan M. J.* Descending control of pain. *Prog. Neurobiol.*, 2002, 66: 355-474.
17. *Miriam M., Paramvir S.* *Neuroanatomy*, Periaqueductal Gray. Last Update, 2020.
18. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Academic Press, 5th ed., 2005, p. 367.
19. *Ramiro-González M., Fernández-de-las-Peñas C.* Pain in Parkinson's disease: A review of the literature. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2013. 19(Issue 3): 285-294.
20. *Roizen MF., Newfield P., Eger EI., Hosobuchi Y., Adams JE., Lamb S.* Reduced anesthetic requirement after electrical stimulation of periaqueductal gray matter. *Anesthesiology*, 1985. 62(2): 120-123.
21. *Scherder E., Wolters E., Polman C. et al.* Pain in Parkinson's disease and multiple sclerosis: its relation to the medial and lateral pain systems. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2005, 29: 1047-1105.
22. *Stezhka V. V., Lovick T. A.* Projections from dorsal raphe nucleus to the periaqueductal grey matter: studies in slices of rat midbrain maintained in vitro. *Neurosci Lett.*, 1997, 230(1): 57-60.