

Regulation of GABA_A Receptor by Protein Kinase A in Sympathetic Neurons of Major Pelvic Ganglia

Dae-Ran Kim[†]

Department of Basic Nursing Science, College of Nursing, Keimyung University,
Dongsan-dong, Jung-gu, Daegu 700-712, Korea

Major pelvic ganglia (MPG) in rats are an unique autonomic ganglia, containing both sympathetic and parasympathetic neurons related with the function of bladder, penis and bowel. It has been widely known that ionotropic GABA_A receptors are the molecular target of γ -aminobutyric acid (GABA), a major inhibitory neurotransmitter in central nervous system. However, their functions and regulations of GABA_A receptors expressed in autonomic ganglia have been poorly understood. I examined the modulatory role of adenylyl cyclase (AC) and protein kinase A (PKA) on GABA_A-induced inward currents in the neurons of rat MPG. GABA_A receptors were identified using immunofluorescent labeling in the rat major pelvic ganglion. Electrophysiological experiments were performed to record the activities of GABA_A receptors. GABA_A receptors were expressed only in sympathetic neurons. GABA induced marked inward currents in a concentration-dependent manner. Mucimol (5 μ M), a GABA_A receptor agonist, induced inward currents were significantly reduced in the presence of SQ 225361 20 μ M, a AC inhibitor and myristoylated PKA inhibitor 100 nM. In addition, forskolin (1 μ M), AC activator, augmented the GABA induced currents. The activation of AC/PKA-dependent pathway could involve in the regulation GABA_A receptors, expressed only in sympathetic neurons of rat MPG. These findings are helpful for the better understanding the function of various pelvic organs innervated by MPG.

Key Words: GABA_A receptor, Sympathetic, Major pelvic ganglia

서 론

γ -aminobutyric acid (GABA)는 중추신경계에서 주된 억제성 신경전달물질의 하나로, 일련의 GABA 수용체 (receptor)에 결합하여 세포내로 Cl⁻ 이동을 활성화시킴으로 막전압을 과분극시켜 억제성 신경전도를 일으키는 것으로 잘 알려져 있다 (Barnard et al., 1998; Lu et al., 1999). GABA 수용체는 몇 가지 효현제나 길항제들의 효과와 작용기전에 따라 3가지 이형 (subtype)이 보고되고 있다 (Barnard et al., 1998). 즉, GABA 수용체는 ionotropic 수용체인 GABA_A 및 GABA_C 수용체와 G 단백질 (GTP-binding protein)과 연결된 metabotropic 수용체인 GABA_B 수용체로 크게 나뉜다. 그 중에서 GABA_A 수용체는 중추신경계의 주요 억제성 신경전달에 관여하며 5개의 subunit으로 이루어진 Cl⁻ 통로로서 4종류

의 서로 다른 subunit family (α , β , γ 및 δ)가 알려져 있다 (Macdonald and Olsen, 1994). 최근에 들어서 GABA는 중추신경계 뿐만 아니라 말초자율신경계인 쥐의 주골반신경절에서도 GABA_A 수용체에 특이적으로 작용하여 세포막의 흥분성을 조절하는 것으로 보고되고 있다 (Akasu et al., 1999; Gill et al., 2004).

골반신경절 (pelvic ganglia)은 골반장기 말초신경의 중심으로 중추신경과 골반장기를 연결하는 기능을 한다 (Keast 1999). 흰쥐 (rat) 주골반신경절 (major pelvic ganglion, MPG)에는 교감, 부교감신경이 함께 분포하며, 골반신경으로부터는 콜린성 입력을 받고 하장간막신경절 (inferior mesenteric ganglion)로부터 하복신경 (hypogastric nerve)을 통해 교감성 입력을 받아 방광, 전립선 및 음경 등과 같은 비뇨생식계 기관과 일부의 장 (bowel)에 신경지배를 한다 (de Groat and Booth, 1993a). 이와 같이 MPG는 중추신경으로부터 나오는 신호들을 비뇨생식 기관들에 전달하는 연결 중추로서의 기능을 담당할 뿐만 다양한 신경 정보들의 조절자로서 기능을 수행한다 (Akasu and Nishimura, 1995).

포유류의 중추신경계에서 주된 억제성 신경전달물질의 하나인 GABA는 lower urinary tract에서도 작용을 한다 (Maggi

*논문 접수: 2006년 3월 7일
수정재접수: 2006년 4월 3일

[†]교신저자: 김대란, (우) 700-712 대구광역시 중구 동산동 194번지, 계명대학교 동산의료원 간호대학 기초간호과학교실
Tel: 053-250-7513
e-mail: drkim@kmu.ac.kr

et al., 1983; Akasu et al., 1999; Gill et al., 2004). MPG 신경세포의 GABA 합성효소와 결합부위가 존재하며, 골반신경을 자극하면 GABA가 유리된다 (de Groat, 1970; Kusunoki et al., 1984). 흥미로운 사실은 GABA는 중추신경계에서는 억제성 작용을 하지만, 쥐의 주골반신경절에서는 흥분성 작용을 일으키며, GABA 수용체는 특히 MPG 중 교감신경세포에만 선택적으로 활성화된다는 사실이다 (Gill et al., 2004). 그러나 MPG에서 GABA의 조절 특성에 관해서는 일부 보고되어 있으나 그 기전에 관해서는 명확히 알려져 있지 않다. 앞서 언급한 바대로 기능적으로 수컷 흰쥐의 MPG 신경들은 배뇨 (micturition)와 발기 (penile erection) 등에 관련되므로 (de Groat and Booth, 1993a, b), 이들 신경세포의 이상은 방광 및 발기기능 부전 등과 같은 병적과정 (pathological process)과 관련될 수 있다. 따라서 선행연구에서 쥐의 주골반신경절 세포에서 GABA는 GABA_A 수용체에 우세하게 작용하여 세포막 탈분극을 일으키는 것을 확인한 바 (Gill et al., 2004), 본 연구에서는 골반장기의 기능에 관여하는 교감성 주골반신경 세포에서 GABA_A의 protein kinase A (A)에 의한 세포내 조절기전을 탐색하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물로는 200~250 g의 수컷 쥐 (Sprague-Dawley)를 사용하였다.

2. 실험용액 및 약물

1) 실험용액

전기생리 실험에 사용된 세포외 관류액의 조성은 135 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 1.8 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 5 mM HEPES, 그리고 10 mM glucose이며, Tris를 첨가한 후 pH가 7.4가 되도록 적정하였다. 전기생리 실험에 사용된 전극내 용액 (internal solution)의 조성은 20 mM KCl, 120 mM K⁺-aspartate, 10 mM HEPES, 10 mM EGTA, 0.1 mM Tris-phosphocreatine, 5 mM MgATP, 0.3 mM Na₂GTP이며, Tris를 첨가하여 pH가 7.2가 되도록 적정하였다. 약물의 투여는 perfusion valve control system (VC-6M, Warner Instruments, CT, USA)을 이용하였으며, 약물이 나오는 관 끝을 신경세포의 100 μm 이내에 위치하도록 하여 중력에 의해 세포에 가해지도록 하였다.

2) 약물

Collagenase type D와 trypsin은 Boehringer Mannheim Biochemicals (USA)로부터 구입하였으며, mucimol은 Tocris (UK)로부터, SQ22536, mirystoylated PKA 억제제는 Calbiochem Co. (USA)로부터 구입하였다. Forskolin, GABA, DNase type I 등과 세포 배양과 관련된 모든 배지 및 약물은 Sigma Che-

mical Co. (USA)로부터 구입하였다.

3. 단일 신경세포 분리 및 유지

수컷 쥐 (200~250 g)를 pentobarbital sodium (50 mg/kg, *i.p.*)으로 마취시킨 뒤, 즉시 개복하여 전립선의 외측에 위치한 MPG를 적출하고, 이를 차가운 (4°C) Hank's balanced salt 용액으로 옮겼다. 수초를 벗기고 작은 틈새를 낸 후, 이를 0.7 mg/ml collagenase (type D), 0.1 mg/ml trypsin과 0.1 mg/ml의 DNase type I이 들어있는 10 ml의 modified Earle's balanced salt 용액 (EBSS, pH 7.4)에서 1시간 동안 배양 (35°C)하였다 (Zhu et al., 1995). 이 때 EBSS에는 3.6 g/L의 glucose와 10 mM의 HEPES를 포함시켰다. 배양 후 신경세포들을 배양 용기에 넣어 흔들어 분리한 후, clinical centrifuge (International Equipment Company, MA, USA)를 이용하여 1,000 rpm의 속도로 원심분리 하였다. 분리된 신경세포들을 10% fetal bovine serum, 1% glutamate, 1% penicillin-streptomycin이 포함된 MEM에 재부유 (resuspend)시킨 뒤, poly-L-lysine으로 코팅되어 있는 cover glass (직경 12 mm)에 plating 하였다. 이를 37°C 세포 배양기 (humidified incubator; 95% air-5% CO₂)에서 배양하였으며, 분리한 후 12시간 이내에 실험에 사용하였다.

4. 면역조직화학적 방법

과량의 Ketamin (유한양행)과 Xylazine (유한양행) 혼합액 (10:3)을 복강주사하여 실험동물을 깊게 마취시킨 뒤 원심실을 통해 0.1 M phosphate buffer와 차가운 4% paraformaldehyde (pH 7.4)를 차례로 관류하여 고정하였다. MPG를 적출한 다음 동일한 고정액에 4시간 동안 고정한 후 4°C의 30% sucrose 용액에 12시간 동안 침적하였다.

조직을 급속동결한 후 Cryostat microtome (Leica Microsystems Inc, German)을 이용하여 20 μm 두께의 조직절편을 제작하여 Vectabond™ (Vector labs, USA)를 처리한 slide에 부착하였다. 0.1 M phosphate buffered saline (PBS)으로 가볍게 수세한 후, 5% normal donkey serum (Jackson ImmunoResearch, USA)으로 30분간 전처리하였다. 일차항체로는 GABA_A receptor β2/3 (1: 25, Upstate, USA)와 tyrosine hydroxylase (TH, 1: 100, Chemicon, USA)를 이용하여 4°C에서 24시간 동안 반응하였다. 이차항체로는 Cy-3-conjugated donkey anti-rabbit IgG (1:250, Jackson ImmunoResearch Laboratories, USA)와 FITC-conjugated donkey anti-mouse IgG (1:200, Jackson ImmunoResearch Laboratories)를 이용하여 1시간 동안 반응하였다. 모든 염색 반응을 마친 후 적절한 필터가 장착된 형광현미경 (BX41, Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

5. 전기생리학적 실험

전기생리학적 실험은 EPC-9 (Instrutech Co., NY, USA) 패치 클램프 증폭기 (patch clamp amplifier)를 이용하여 전세포패치 클램프 (whole cell patch clamp) 방법으로 측정하였다. 전극은 Sylgard 184 (Dow Corning, midland, MI, USA)로 코팅하였으며, 전극내부에 용액을 채웠을 때 저항이 1.5~2.5 MΩ이 되는 것을 사용하였다. 세포가 붙어있는 cover glass를 도립현미경 (inverted microscopy) 위에 올려놓고 세포외액을 중력에 의해 1~2 ml/min 속도로 관류시켰다. 세포막 전압의 변화는 막전류고정법 (current-clamp method)을 사용하였으며, 막전류 측정시에는 막전압고정법 (voltage-clamp method)을 사용하여 측정하였다. 막전압고정법 기록을 위해서 세포막의 용량 (capacitance)과 직렬저항 (series resistance)은 80% 이상 보정하였으며, 실험시 sample rate은 1 kHz; low-pass 필터는 2 kHz (-3dB; 8-pole Bessel filter)로 하여 기록하였다. 실험결과는 Pulse/Pulsefit (v8.50) (Heka Elektronik, Lambrecht, Germany) 혹은 pCamp6 (Axon Instrument, USA) 소프트웨어로 분석하였다. 모든 실험은 실온 (21~24°C)에서 시행하였다.

결 과

1. 주골반절에서 세포 종류에 따른 GABA_A 수용체 발현

GABA_A 수용체가 MPG 신경세포에 존재하는 것을 면역조직화학 혹은 형광염색을 통해 확인하였다. MPG에서 GABA_A 수용체에 대한 면역 반응성 (immunoreactivity; IR)을 보이는 세포가 존재하였다. 세포 종류에 따른 GABA 수용체 발현을 알아보기 위하여 GABA_A 수용체 $\beta 2/3$ (GABA_AR $\beta 2/3$) 소단위 (subunit, Fig. 1A)와 교감신경세포 marker인 tyrosine hydroxylase (TH)를 동시에 염색하였다 (Fig. 1B). GABA_A 수용체는 주로 TH에 양성인 세포에서 발현되어 있었다 (Fig. 1C). 따라서 GABA_AR은 주로 TH에 염색되는 교감신경세포에만 존재함을 알 수 있었다.

2. GABA 전류의 농도 반응 관계

GABA 전류는 세포 내외의 대칭적 Cl⁻ 농도경사 ($[Cl^-]_i = 146 \text{ mM}$; $[Cl^-]_o = 148 \text{ mM}$; $E_{Cl^-} = -0.34 \text{ mV}$)에서 기록하였다. 이러한 조건하에서 세포외액에 1 μM 의 GABA에 의해 내향

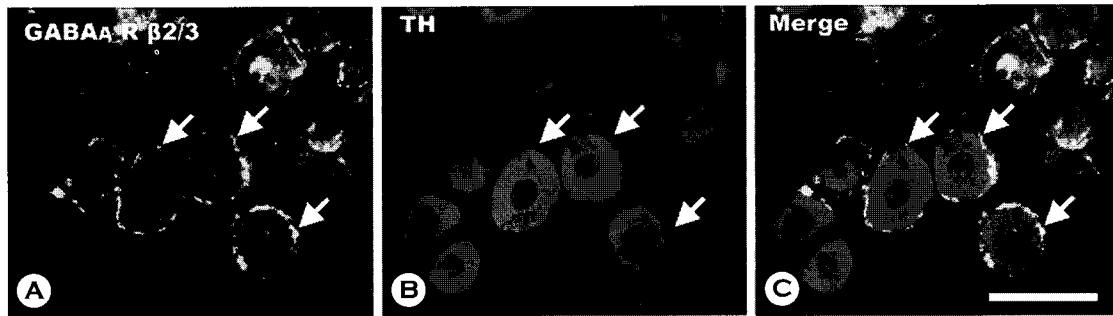


Fig. 1. Double immunofluorescent labeling for GABA_A receptor $\beta 2/3$ subunits (A) and tyrosine hydroxylase (B) in the rat major pelvic ganglion. Numerous GABA_A receptor $\beta 2/3$ immunoreactive neurons are double labeled with TH (arrows). Scale bar = 50 μm .

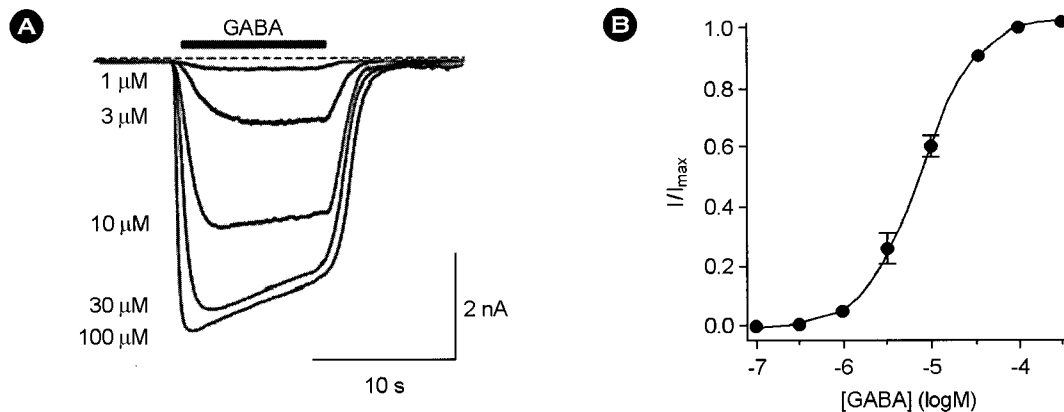


Fig. 2. Dose-response relationship of GABA-activated inward currents on the neurons of major pelvic ganglia. A. Holding potential was held at -80 mV under the voltage-clamp mode. B. Peak data are plotted as for normalized currents. Solid bar: duration of GABA application, pA=pico ampere.

성 전류가 관찰되기 시작했으며, GABA 농도가 증가할수록 내향성 전류가 더욱 커지는 농도의존적 반응을 나타내었다 (Fig. 2A). 가한 GABA의 농도 범위는 0.1 μM 에서 300 μM 였다. GABA 전류는 낮은 농도에서는 내향성 전류의 활성화가 느리고, 탈감작 (desensitization)이 잘 일어나지 않았으나, 높은 농도로 갈수록 빠른 활성화와 탈감작을 보였다 (Fig. 2A). GABA에 의한 내향성 전류는 100 μM 이상에서 포화 (saturation)되었으며, EC_{50} 는 7.3 μM , Hill's slope는 1.4 ± 0.1 였다 (Fig. 2B).

3. Adenylyl cyclase 및 protein kinase A (PKA)에 의한 GABA 전류 조절

MPG 세포에서 GABA 전류가 adenylyl cyclase (AC)-PKA에 의해 조절되는 지를 확인하였다. 선택적 GABA_A 수용체 효현제인 mucimol (5 μM)을 가하여 GABA_A 수용체 전류를 확인한 다음 adenylyl cyclase (AC) 억제제인 SQ225361 (20 μM)을 전처치 한 후엔 mucimol에 의한 GABA_A 수용체 전류가 현저히 감소하였다 (Fig. 3A & B). GABA_A 수용체에 PKA가 미치는 효과를 알아보기 위해서는 세포막 투과가 가능한 myristoylated PKA inhibitor (PKAI; 100 nM)를 이용하여

확인하였다. Mucimol에 의해 유발된 전류는 PKAI 전처치 한 후엔 증가가 현저히 감소하였다 (Fig. 4A). GABA_A 수용체가 AC 활성제인 forskolin (FSK)에 의해 영향을 받는지를 확인하였다. FSK는 AC를 활성화하여 세포내 cAMP의 농도를 증가시키며, 증가된 cAMP는 PKA를 활성화하여 다양한 생리적 기능을 수행한다. Mucimol 전류는 FSK (1 μM) 전처치 한 후에 증가되는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 4B). 이상의 결과에서 MPG 세포에서 GABA_A 수용체는 AC-PKA에 의해 조절됨을 알 수 있었다.

고 찰

중추신경계에서 GABA는 대표적인 억제성 신경전달물질로 널리 알려져 있다. 그러나 자율신경계에서는 자율신경절 세포를 탈분극 (Adams and Brown, 1975; Gill et al., 2004), 탈분극 후 과분극 (Akasu et al., 1999), 또는 과분극 시키는 것으로 알려져 (de Groat and Booth, 1993a) 자율신경절의 종류에 따라 다양한 작용을 나타냄을 알 수 있다. 선행연구에서 쥐의 주골반신경절 세포에서 GABA는 GABA_A 수용체에 특이적으로 작용하여 세포막 탈분극을 일으키는 것을 확인한

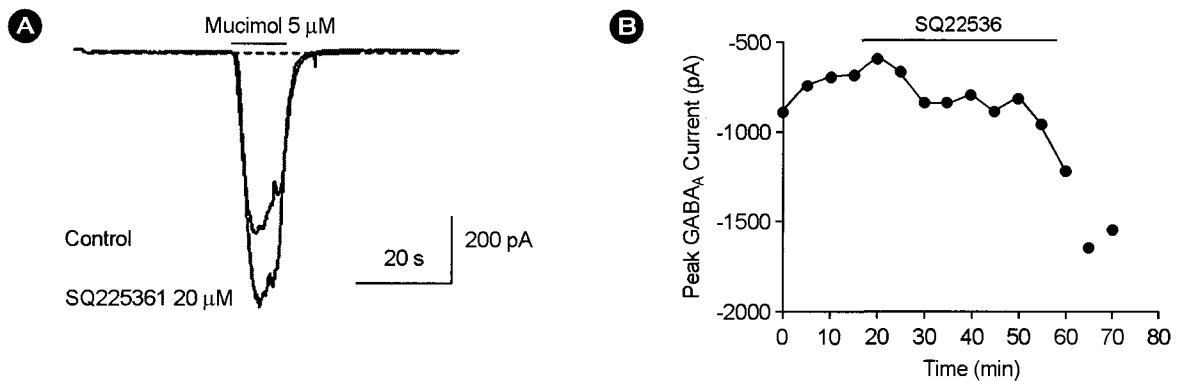


Fig. 3. Effects of Adenylyl cyclase on GABA_A receptors. **A** and **B.** Mucimol (5 μM), a GABA_A receptor agonist induced inward currents under voltage-clamp method at -80 mV holding potential were significantly inhibited in the presence of SQ 225361 20 μM , a AC inhibitor. Solid bar: duration of GABA application, pA=pico ampere.

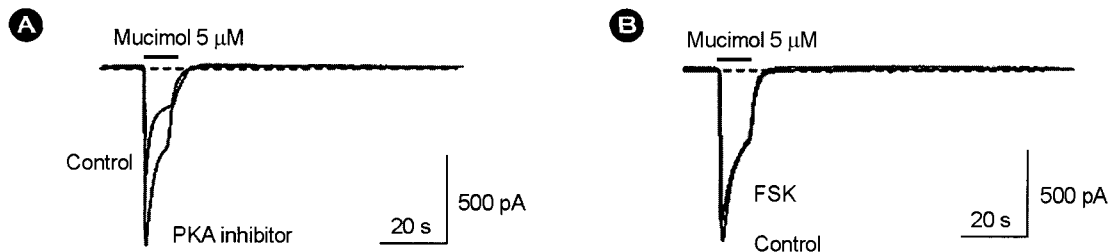


Fig. 4. Effects of PKA inhibitor and Forskolin on GABA_A receptors. **A.** Mucimol (5 μM), a GABA_A receptor agonist induced inward currents under voltage-clamp method at -80 mV holding potential were markedly reduced by the pre-incubation of PKAI 100 nM, a myristoylated PKA inhibitor. **B.** Mucimol (5 μM) induced inward currents were increased by the pre-treatment of forskolin 1 μM , a AC activator. Solid bar: duration of GABA application, pA=pico ampere.

바, 본 연구에서는 그 GABA 수용체가 발현되어 있는 세포의 특성 및 GABA 수용체의 작용기전을 탐색하고자 하였다.

주골반신경절은 다른 자율신경절과는 달리 교감 및 부교감 신경이 같은 신경절 내에 존재하는 독특한 자율신경절이다 (Keast, 1999). 면역조직화학적 방법을 통해 GABA_A 수용체가 MPG 신경세포에 존재하며, 교감신경세포 marker인 tyrosine hydroxylase (TH)와 GABA_A 수용체 $\beta 2/3$ (GABA_AR $\beta 2/3$) 소단위 (subunit)를 동시에 염색한 결과, GABA_A 수용체는 주로 TH에 양성인 세포에 발현되어 있었다 (Fig. 1). 따라서 MPG에서 GABA_A 수용체는 주로 TH에 염색되는 교감신경세포에 존재하는 것으로 사료된다.

TH에 염색된 MPG에서 GABA는 내향성 전류를 유발하였으며, GABA의 농도가 증가할수록 내향성 전류가 더욱 커지는 농도의존적 반응을 보여, 높은 농도로 갈수록 빠른 활성화와 탈감작을 나타내었다 (Fig. 2). 성인 중추신경계에서 전형적인 억제성 신경전달물질로 작용하는 GABA는 신경의 발달단계나 종류 및 분포하는 부위에 따라 흥분성 혹은 억제성 효과를 나타낼 수 있는 것으로 알려지고 있는데 (Ganguly et al., 2001), 이와 같은 차이의 원인에 대해서는 현재도 완전히 이해되고 있지 않고 있으나, 세포내 Cl⁻의 농도 및 조절 기전에 따른 차이로 생각된다. 추측되기로는 주골반신경절 신경세포내 Cl⁻의 농도는 비교적 높게 유지되고 있으며, 이와 같은 Cl⁻ 농도의 경사도가 탈분극을 유발할 것으로 사료된다.

GABA 수용체는 Src family tyrosine kinase, PKA, PKC, 그리고 Ca²⁺-calmodulin 의존적 kinase들에 의해 조절된다고 알려져 있으나 (Moss and Smart, 1996) 이는 주로 중추신경계에서 관찰한 기전으로, 말초신경계인 MPG에서 PKA에 의한 GABA_A 수용체 조절은 보고되어 있지 않다. 교감 주골반신경절 세포에서 GABA 전류가 Adenylyl cyclase (AC)-PKA 경로에 의해 조절되는지를 확인한 바, 선택적 GABA_A 수용체 효현제인 Mucimol (5 μ M)에 의해 유발된 GABA 전류는 SQ-225361 (20 μ M)을 전처리한 후에 현저히 감소하였다 (Fig. 3). 또한 GABA_A 수용체에 PKA가 미치는 효과를 알아보기 위해 PKA 억제제인 PKAI (100 nM)를 전처리한 결과 Mucimol에 의해 유발된 전류가 현저히 감소함을 확인하였다. 반면, AC 활성제인 forskolin (FSK)을 전처리한 후에는 Mucimol 전류가 증가함을 알 수 있었다 (Fig. 4). 한편 AC-PKA에 의한 GABA_A 수용체의 조절은 주로 GABA_A 수용체의 α 형 중 $\beta 1$ 혹은 $\beta 3$ 에 의해 조절되는 것으로 알려져 있으나, 주골반신경절에서는 $\beta 2$ 의 발현만 확인되고 있어 (결과에 나타내지 않았음), β 아형 이외에 γ 아형이 관여될 가능성이 크며, 이에 대한 확인을 위해서는 추후 연구가 필요하리라 생각된다.

이상에서 AC와 PKA 억제는 교감 주골반신경절 세포에서

GABA_A 수용체에 의한 전류를 감소시켰으며, AC 활성제는 GABA 전류를 증가시켰다. 이는 어느 정도의 AC 활성화가 주골반신경절 교감신경세포에 기본적으로 이루어져 있으며, AC에 의한 세포내 인산화 (phosphorylation)와 비인산화 (dephosphorylation)가 GABA_A 수용체 활성화에 매우 중요한 역할을 할 수 있음을 의미한다. 즉, MPG에 발현되어 있는 GABA_A 수용체는, 세포막에서 활성화된 AC가 세포내에서 2차 전령 물질인 cyclic AMP를 증가시키고, 이는 다시 PKA를 활성화시키는 AC-PKA 경로에 의해 조절된다 하겠다. 이를 통해 GABA_A 수용체는 MPG 교감신경세포의 영향하에 있는 골반 내 여러 장기의 생리적 기능을 조절하는데 관여하고 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구의 진행과정에서 면역조직화학적 실험을 도와주신 연세대학교 원주의과대학 해부학교실 조병필 교수님과, 실험 전반에 걸쳐 많은 지도와 도움을 주신 생리학교실 공인덕 교수님께 감사드립니다.

REFERENCES

- Adams PR, Brown DA. Actions of *r*-aminobutyric acid on sympathetic ganglion cells. *J Physiol.* 1975. 250: 85-120.
- Akasu T, Nishimura T. Synaptic transmission and function of parasympathetic ganglia. *Prog Neurobiol.* 1995. 45: 459-522.
- Akasu T, Munakata Y, Tsurusaki M, Hasuo H. Role of GABA_A and GABA_C receptors in the biphasic GABA responses in neurons of the rat major pelvic ganglia. *J Neurophysiol.* 1999. 82: 1489-1496.
- Barnard EA, Skolnick P, Olsen RW, Mohler H, Sieghart W, Biggio G, Braestrup C, Bateson AN, Langer SZ. International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of gamma-aminobutyric acidA receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. *Pharmacol Rev.* 1998. 50: 291-313.
- de Groat WC. The actions of gamma-aminobutyric acid and related amino acids on mammalian autonomic ganglia. *J Pharmacol Exp Ther.* 1970. 172: 384-396.
- de Groat WC, Booth AM. Nervous control of the urogenital system: Synaptic transmission in pelvic ganglia (Maggi CA). 1993a. pp. 291-348. Harwood Academic Publishers. London, UK.
- de Groat WC, Booth AM, Yoshimura N. The autonomic nervous system: Neurophysiology of micturition and its modification in animal models of human disease (Maggi CA). 1993b. pp.

- 227-290. Harwood Academic Publishers. London, UK.
- Ganguly K, Schinder AF, Wong ST, Poo M. GABA itself promotes the developmental switch of neuronal GABAergic responses from excitation to inhibition. *Cell* 2001. 105: 521-532.
- Gill S, Cha S, Kim D, Jang S, Jang Y, Kong ID. Neuronal excitatory action of GABA on the pelvic ganglia. *J Korean Neurosur Soc.* 2004. 36: 145-149.
- Keast JR. Unusual autonomic ganglia: connections, chemistry, and plasticity of pelvic ganglia. *Int Rev Cytol.* 1999. 193: 1-69.
- Kusunoki M, Taniyama K, Tanaka C. Neuronal GABA release and GABA inhibition of ACh release in guinea pig urinary bladder. *Am J Physiol.* 1984. 246: R502-509.
- Lu J, Karadsheh M, Delpire E. Developmental regulation of the neuronal-specific isoform of K-Cl cotransporter KCC2 in postnatal rat brains. *J Neurobiol.* 1999. 39: 558-569.
- Macdonald RL, Olsen RW. GABA_A receptor channels. *Annu Rev Neurosci.* 1994. 17: 569-602.
- Maggi CA, Santicioli P, Grimaldi G, Meli A. The effect of peripherally administered GABA on spontaneous contractions of rat urinary bladder in vivo. *Gen Pharmacol.* 1983. 14: 455-458.
- Moss SJ, Smart TG. Modulation of amino acid gated ion channels by protein phosphorylation. *Int Rev Neurobiol.* 1996. 39: 1-52.
- Zhu Y, Zboran EL, Ikeda SR. Phenotype-specific expression of T-type calcium channels in neurons of the major pelvic ganglion of the adult male rat. *J Physiol.* 1995. 489: 363-375.