

Tranexamic acid가 제3형 글루탐산염 운반자 EAAT3의 활성도에 미치는 효과

신현정¹, 이수영², 나효석¹, 구본욱¹, 유정희¹, 도상환¹

¹분당서울대학교병원 마취통증의학과, ²땡큐서울이비인후과의원 마취통증의학과

Effects of tranexamic acid on the activity of glutamate transporter EAAT3

Hyun-Jung Shin¹, Soo-Young Lee², Hyo-Seok Na¹, Bon-Wook Koo¹, Jung-Hee Ryu¹, and Sang-Hwan Do¹

¹Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, ²Department of Anesthesiology and Pain Medicine, ThanQ Seoul Thyroid-Head & Neck Surgery Center, Seoul, Korea

Received January 6, 2020
Revised March 14, 2020
Accepted March 20, 2020

Background: Tranexamic acid (TXA) is the most widely used hemostatic agent in surgical patients. However, when used in a high dose, it could cause a seizure in the postoperative period. The exact effector mechanism behind the seizure triggering remains unknown. Therefore, the authors investigated the effects of TXA on the activity of glutamate transporter type 3 (excitatory amino acid transporter 3; EAAT3), which is the main neuronal glutamate transporter type.

Methods: EAAT3 was expressed in *Xenopus laevis* oocytes through mRNA injection. Oocytes were incubated with diluted tranexamic acid for 72 h. Two-electrode voltage clamping was used to measure membrane currents before, during, and after applying 30 μ M L-glutamate. Responses were quantified by integrating the current traces and reported in microcoulombs (μ C). Results were presented as mean \pm SEM.

Results: TXA (30 to 1,000 μ M) significantly decreased EAAT3 activity. Our kinetic study showed that V_{max} was significantly decreased in the TXA group compared with the control group (1.1 ± 0.1 vs. 1.4 ± 0.1 μ C, $n = 18-23$, $P = 0.043$), but the K_m did not significantly change (12.7 ± 3.9 μ M for TXA vs. 12.8 ± 3.8 for control, $n = 18-23$, $P = 0.986$).

Conclusions: Our results suggest that TXA attenuates EAAT3 activity, which may explain its proconvulsant effect.

Keywords: Electrophysiology; Excitatory amino acid transporter 3; Glutamate plasma membrane transport proteins; Tranexamic acid; *Xenopus laevis*.

Corresponding author
Sang-Hwan Do, M.D., Ph.D.
Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, 82 Gumi-ro 173beon-gil, Bundang-gu, Seongnam 13620, Korea
Tel: 82-31-787-7501
Fax: 82-31-787-4063
E-mail: shdo@snu.ac.kr

서론

Tranexamic acid (TXA)는 수술환자에서 가장 널리 사용되는 지혈제로서 plasminogen의 lysine binding site에 결합하여 plasmin의 활성도를 떨어뜨림으로써 fibrin의 분해(degradation)를 감소시켜 지혈작용을 초래하는 것으로 알려져 있다. 하지만, 이 약제의 사용 후에 간혹 seizure 등의 중추신경계 부작용을 초래한다[1,2]. 수술 중 TXA를 사용한 환자에서 seizure가 발생한다면 회복기간이 길어질 뿐 아니라 환자의 예후에 악영향을 미치게 된다. 기존에 알려진 TXA의 seizure 유발기전으로 gamma amino butyric acid (GABA)나 glycine 수용체를 통한 억제성 신경전달의 억제와 관련이 보고된 바 있다[3]. 하지만, 주로 흥분성 신경전달을 조절하는 역할을 하는 glial EAAT (EAAT1 and EAAT2)와는 달리 주요 neuronal EAAT인 EAAT3는 흥분성 neuron뿐 아니라 억제성 neuron에도 분포하면서 GABA의 전구물질인 glutamate를 uptake하여 GABA 신경전달을 조절하는 역할도 또한 하는 것으로 알려져 있다[4].

Excitatory amino acid transport (EAAT)는 glutamate transporter라고도 불리며, 중추신경계의 neuron과 glial cell에 분포되어 있는 막단백질이다[5]. Glutamate는 주요 흥분성 신경전달물질로서 세포의 농도가 높을 경우 신경독성을 나타내는데, EAAT는 이러한 glutamate를 세포의 공간에서 세포내로 이동시키는 중요한 역할을 담당한다. EAAT의 기능부전은 세포외 glutamate의 축적을 초래해 glutamate에 의한 신경손상, 즉 excitotoxicity를 유발하게 되는데 이는 허혈성 뇌손상이나 amyotrophic lateral sclerosis 등 신경퇴화성 질환의 병태생리와 연관이 있다[6-8]. EAAT에는 5개의 아형이 있는 것으로 밝혀졌는데, 이중 EAAT3는 neuron에 분포하는 주요 아형이다[5].

본 연구에서는 two-electrode voltage clamp와 *Xenopus* oocyte expression system을 이용하여 TXA에 의한 막전위의 변화를 측정하여 TXA가 EAAT3의 활성도에 미치는 영향을 알아보고, 또한, 역학 연구(kinetic study)를 통해 TXA가 EAAT3에 작용을 미치는 양상에 대해 규명해 보고자 한다.

대상 및 방법

Xenopus oocyte 준비 및 EAAT3의 발현

EAAT3의 발현 과정을 모식도로 표현하면 Fig. 1과 같다. 개구리의 일종인 *Xenopus laevis*는 독립된 수조에서 주당 2회씩 사료를 공급받으며 관리되었다. 난모세포(oocyte)의 채취를 위해 0.2% 3-aminobenzoic ethyl ester (Sigma, USA)를 물 500 ml에 첨가한 후 실험동물을 30분 정도 담근 후 통증자극에 반응이 없다면 얼음 위에 양와위로 눕혔다. 편측 하복부에 0.5-1

cm의 절개 후 난소조직의 일부를 떼어내 즉시 modified Barth's solution (NaCl 88 mM, KCl 1 mM, NaHCO₃ 2.4 mM, CaCl₂ 0.41 mM, MgSO₄ 0.82 mM, Ca(NO₃)₂ 0.3 mM, gentamicin 0.1 mM, HEPES 15 mM, pH 7.6)에 넣은 다음, follicular layer를 제거한 후 OR-2 solution (NaCl 82.5 mM, KCl 2 mM, MgCl₂ 1 mM, HEPES 5 mM, collagenase type Ia 0.1%, pH 7.5)에 넣어 2시간 동안 약하게 흔들어 준 후에 modified Barth's solution에 넣어 16°C에 보관하였다.

EAAT3 cDNA는 Dr. Mattias A. Hediger (Brigham and Women's Hospital, Harvard Institute of Medicine, USA)로부터 제공받았으며, 상용 vector (BluescriptSKm)에 subclone된 상태였다. 제한효소(Not I)로 처리한 후, mRNA를 상용 kit (Ambion, USA)를 이용하여 제조하였다. 이렇게 만들어진 mRNA를 spectrophotometer를 이용하여 정량 분석하였다. 이 mRNA (농도: 30 ng/30 nl)를 자동 미세주입기(Drummond Nanoject, Drummond Scientific Co., USA)를 이용하여 oocyte의 세포질 내로 주입하였다.

전기생리학 측정

실험은 21-23°C의 상온에서 시행되었다. Follicle이 제거된 하나의 oocyte를 2-electrode voltage clamp (OC725-A, Warner Corporation, USA)의 recording chamber에 위치시킨 후 Tyrode 용액(150 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄, 10 mM dextrose, 10 mM HEPES, pH 7.5)을 관류시킨 상태에서 voltage clamp에 연결된 미세전극을 oocyte 양쪽에서 찢어 막전위를 측정하였다. Voltage clamp에서 얻은 막전위는 DAS-8A conversion board (Keithley-Metabyte, USA)를 거쳐 Oocamp software를 이용해 분석하였다. 모든 측정은 -70 mV의 holding potential에서 시행하였다. 1 mA 미만의 안정적인 holding current를 보이지 못하는 oocyte

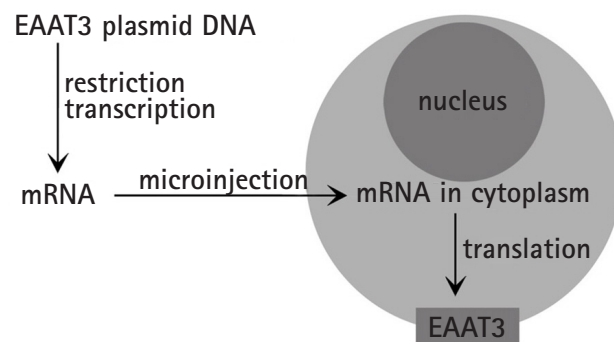


Fig. 1. The EAAT3 expression process. EAAT3: excitatory amino acid transporter 3.

는 분석에서 제외하였다. Tyrode 용액으로 희석된 L-glutamate를 분당 3 ml의 속도로 20초간 oocyte에 관류시켜 얻은 막전위를 1분간 125 Hz의 속도로 추출하였다. 이렇게 얻은 막전위의 변화를 적분하여 microCoulomb 단위로 환산하였다. 음전하를 띤 glutamate 분자 하나가 세포막을 통해 운반될 때 두세 개의 Na^+ 이온이 동시에 운반되므로 glutamate에 의해 유도된 막전위의 변화는 운반된 glutamate의 양을 반영한다. 매 실험은 적어도 세 마리 이상의 다른 *Xenopus frog*에서 나온 oocyte를 이용하여 시행하였다.

각종 chemical의 투여

TXA가 EAAT3의 활성도에 미치는 영향을 알아보기 위해 Modified Barth 용액에 희석한 여러 농도(3, 10, 30, 100, 300, 1,000 μM)의 TXA에 oocyte를 72시간 동안 노출한 후 agonist (L-glutamate 30 μM)를 투여하여 막전위의 변화를 측정하였다. 대조군에서는 TXA가 포함되지 않은 modified Barth 용액에 oocyte를 72시간 동안 배양후에 측정을 시행하였다. 본 실험에서 agonist인 L-glutamate는 EAAT3를 통한 glutamate transporter current를 발생시키기 위해 사용하였는데 저자의 과거 연구[9]에서 EAAT3 반응을 일으키는 L-glutamate의 median effective concentration (EC_{50})이 27.2 μM 이었기 때문에 본 연구에서는 30 μM 의 L-glutamate를 사용하였다. TXA의 각 농도별 반응을 구한 후에는 kinetic study를 위해 다섯 농도(3, 10, 30, 100, 300 μM)의 L-glutamate를 이용하여 대조군과 half-maximal inhibitory concentration (IC_{50})에 근접하는 TXA를 노출한 상태에서 반응 값을 측정하여 K_m 과 V_{max} 를 구한다.

데이터 분석

반응 값은 mean \pm SEM으로 제시하였다. Oocyte batch에 따라 반응값의 변동성이 나타나는 경우가 흔하므로, 용량-반응 연구에서는 각 반응값을 각각의 batch에서 control의 평균값으로 나누어 normalized data를 구해 분석하였다. 군간 차이는 Student's *t*-test나 분산분석(Bonferroni 또는 Student-Newman-Keuls correction 추가 적용)을 이용해 분석하였다. $P < 0.05$ 를 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결과

EAAT3 mRNA를 미세주입한 oocyte에 L-glutamate를 관류시킨 경우 내향성 막전위 변화가 기록되었으나, EAAT3 mRNA를 주입하지 않은 oocyte에서는 막전위의 변화가 나타나지 않았다.

EAAT3 mRNA를 주입하지 않은 oocyte에 TXA를 노출한 경우 막전위의 변화가 나타나지 않았다. 향후 모든 실험은 EAAT3 mRNA를 미세주입한 oocyte를 대상으로 진행하였다. 여러 농도의 TXA를 노출한 결과 TXA는 농도 의존적으로 EAAT3의 활성도를 감소시켰다(Fig. 2). Kinetic study에서는 본 연구에서 EAAT3의 활성도의 유의한 감소를 초래하는 TXA의 농도 중 가장 낮은 농도인 30 μM 의 TXA를 사용하였다.

대조군과 비교했을 때, 30 μM L-glutamate에 의한 반응이 TXA (30 μM) 노출군에서 유의하게 감소했을 뿐 아니라 3 μM 을 제외한 10, 30, 100, 300 μM 에 의한 반응도 역시 대조군에 비해 유의한 감소를 나타냈다(Fig. 3). 이 결과를 심층분석한 결과 TXA는 각 군에서 V_{max} 를 유의하게 감소시켰지만(대조군 1.4

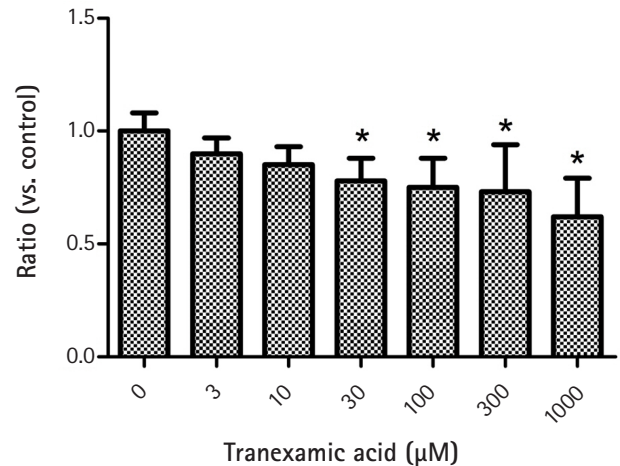


Fig. 2. Changes in EAAT3 activity relative to tranexamic acid exposure level. EAAT3: excitatory amino acid transporter 3. * $P < 0.05$ compared with the control group (tranexamic acid concentration 0 μM).

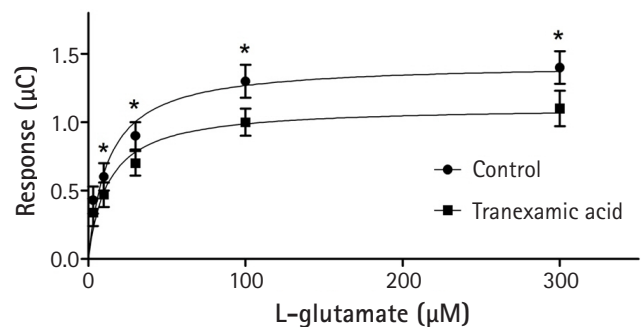


Fig. 3. EAAT3 dose-response curve of for L-glutamate relative to tranexamic acid presence. EAAT3: excitatory amino acid transporter 3. * $P < 0.05$ compared with control group (tranexamic acid concentration 0 μM).

$\pm 0.1 \mu\text{C}$ vs. TXA 군 $1.1 \pm 0.1 \mu\text{C}$; $n = 18-23$, $P = 0.043$), L-glutamate에 대한 EAAT3의 K_m 은 유의한 변화를 초래하지 않았다(대조군 $12.8 \pm 3.8 \mu\text{M}$ vs. TXA 군 $12.7 \pm 3.9 \mu\text{M}$; $n = 18-23$, $P = 0.986$).

고찰

TXA는 항섬유용해성 제제로써 수술 환자의 지혈을 향진시키는 데 효과가 있지만 수술 후에 seizure를 초래하는 부작용에 대한 지적이 꾸준히 있어 왔다. 특히 이러한 부작용은 고용량을 사용하는 심장수술 등에서 다수 보고되어 왔다[10]. 이러한 seizure는 특징적으로 수술이 끝나고 수술실에서 중환자실 등으로 환자가 이송된 지 수 시간 내에 발생하게 되는데, 이는 anticonvulsant effect를 가진 마취제의 농도는 급격히 떨어지고 TXA의 농도는 높게 유지되는 시간대에 해당된다[11]. 최근에 발간된 메타분석논문에는 28개의 randomized controlled study를 대상으로 분석하였는데 관상동맥우회술에서 TXA를 사용한 경우 수술 후에 seizure를 초래할 위험도(risk ratio)를 6.67로 높게 보고하였다[12].

TXA가 seizure를 초래하는 중추신경계 기전에 대해서는 아직 이론이 정립되지 않는 상태이다. TXA가 억제성 신경전달 수용체인 GABA와 glycine 수용체에 대해 억제효과를 나타낸다는 보고가 있었지만, 흥분성 신경전달 체계인 glutamate 신경전달에 대해서는 아직 보고된 바가 없다. 특히 glutamate 신경전달을 전반적으로 조절하는 역할을 하는 EAAT 중에서 major neuronal EAAT인 EAAT3는 주요 억제성 신경전달 물질인 GABA의 합성에 필요한 glutamate를 neuron에 제공하는 역할을 함으로써 GABA 신경전달을 유지하는 데 중요한 역할을 하고 있다[4,13]. 따라서 TXA가 EAAT3의 활성도에 미치는 영향에 대한 연구는 TXA의 seizure 유발의 기전을 이해하는데 하나의 열쇠를 제공할 수 있을 것이다.

Lecker 등[14]은 심폐기를 이용한 심장수술을 받는 환자에서 혈청과 뇌척수액의 TXA의 peak concentration을 측정하였는데 혈청에서는 $1.9 \pm 0.4 \text{ mM}$, 뇌척수액에서는 $220.8 \pm 116.7 \mu\text{M}$ 로 측정되었다. 또한, 이 연구에서 TXA가 glycine receptor를 억제하는 half-maximal inhibitory concentration인 IC_{50} 가 1.1 mM 로 측정되었다.

본 실험의 연구 결과, 여러 농도의 TXA 중 30, 100, 300, 1,000 μM 에서 EAAT3의 활성도를 유의하게 감소시켰다. EAAT3의 활성도가 감소되면 neuron안으로의 glutamate uptake가 감소되어 세포외액의 glutamate 농도가 상승하므로 seizure의 발생을 설명할 수 있다. 본 연구자의 과거 연구에서 proconvulsant effect를 가진 etomidate와 estrogen (17- β -estradiol) 등도 역시 EAAT3 활성도의 감소를 초래한 바 있다

[15,16]. 또한, kinetic study의 결과로 TXA가 EAAT3의 활성도의 변화에 미치는 양상을 예측할 수 있다. 즉, V_{max} 를 유의하게 감소시켰지만, K_m 은 유의한 변화가 없는 점을 감안하면, TXA가 EAAT3의 glutamate에 대한 affinity를 변화시키기보다는 neuron 세포막에서 EAAT3의 가용숫자나 회전율을 증가시키는 등의 역동적인 변화를 초래한다는 설명이 더 적합해 보인다.

TXA에 의한 중추신경계의 과흥분성은 억제성 신경전달을 감소시키는 소위 “disinhibition”에 기인하는 것으로 보인다[17]. 중추신경계의 대표적인 억제성 신경전달체계로는 glycine 수용체와 더불어 GABA_A 수용체를 꼽을 수 있다. Furtmüller 등[18]의 연구에 의하면 TXA가 GABA_A 수용체를 억제하긴 하지만 IC_{50} 가 7 mM로써 상당히 높은 편이다. 즉, 본 연구에서 TXA의 농도별 EAAT3의 활성도 반응의 감소 양상이 비전형적이어서 IC_{50} 를 구하지는 못했으나, 30 μM 이상의 농도에서 유의한 감소 양상을 나타내는 것을 볼 때 glycine이나 GABA_A 수용체에 비해 EAAT3가 TXA에 대해 훨씬 낮은 농도에서 유의한 반응의 변화를 보였다고 할 수 있으나 실험 방법의 차이 등으로 인해 일괄적인 비교는 어렵다.

Glutamate transporter의 활성도를 측정하는 연구 방법 중에서 본 연구에서는 2-electrode voltage clamp를 이용한 전기생리학적 측정방법을 사용하였다. 이 실험 방법에서는 개구리의 일종인 *Xenopus laevis* frog의 난모세포인 *Xenopus* oocyte가 필수적이다. *Xenopus* oocyte에는 lysophosphatidate receptor 이외에는 내인성 수용체가 존재하지 않으며, 각종 receptor의 DNA 또는 RNA를 핵 또는 세포질 내에 주입하면 수일 후에 세포막에 수용체 단백질이 발현되므로 voltage clamp를 이용한 실험 시에 널리 사용되고 있다.

본 연구에서 TXA가 EAAT3의 활성도를 감소시키는 것을 알 수 있었으나, 그 기전을 알 수는 없었다. 예컨대 protein kinase C (PKC)나 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) 등의 세포 내 신호전달을 조절하는 효소에 영향을 미치는 것을 매개로 EAAT3의 활성도에 영향을 미칠 수 있을 것이다. 본 연구자의 과거 연구에서도 각종 마취제나 호르몬, alcohol, caffeine, nicotine 등이 PKC나 PI3K 등을 매개로 glutamate transporter의 활성도에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다[19-22]. 하지만, 본 연구에서는 연구 여건의 미비로 인해서 PKC나 PI3K에 대한 추가 연구를 진행할 수 없었다. 또한, 본 연구에서 용량-반응 실험의 결과 분석 시 원 데이터를 사용하지 않고 각 oocyte batch의 control 값의 평균으로 각 반응값을 나눈 normalized data를 사용하였으나, 이는 *Xenopus* oocyte expression system을 이용한 전기생리학 측정실험에서 흔히 사용되는 방법으로서 저자의 과거 연구에서도 이러한 방법이 사용된 바 있다[9,12,17-20,23,24].

결론적으로 *Xenopus* oocyte expression system을 이용하

여 TXA가 glutamate transporter인 EAAT3의 활성도를 감소시키며, 그 양상은 TXA가 EAAT3의 glutamate에 대한 affinity를 변화시키기보다는 EAAT3의 가용숫자나 회전율을 증가시키는 것으로 보인다. 그러한 작용기전에 대해서는 추가 연구가 필요할 것이다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This experiment was supported by a grant (no. 02-2014-011) from the Research Fund of Seoul National University Bundang Hospital, Korea.

CONFLICTS OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization: Hyun-Jung Shin, Sang-Hwan Do. Data acquisition: Soo-Young Lee, Bon-Wook Koo. Formal analysis: Hyo-Seok Na, Jung-Hee Ryu. Funding: Sang-Hwan Do. Supervision: Sang-Hwan Do. Writing-original draft: Bon-Wook Koo. Writing-review & editing: Hyun-Jung Shin, Sang-Hwan Do.

ORCID

Hyun-Jung Shin, <https://orcid.org/0000-0003-0991-7061>

Soo-Young Lee, <https://orcid.org/0000-0002-2053-0055>

Hyo-Seok Na, <https://orcid.org/0000-0003-0986-3243>

Bon-Wook Koo, <https://orcid.org/0000-0001-5311-8115>

Jung-Hee Ryu, <https://orcid.org/0000-0001-9331-5658>

Sang-Hwan Do, <https://orcid.org/0000-0001-5452-4166>

REFERENCES

1. Kalavrouziotis D, Voisine P, Mohammadi S, Dionne S, Dagenais F. High-dose tranexamic acid is an independent predictor of early seizure after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2012; 93: 148-54.
2. Merriman B, Mayson K, Sawka A, Akagami R, Flexman AM. Postoperative seizure in a neurosurgical patient: should tranexamic acid be on the differential? *Can J Anaesth* 2013; 60:

506-7.

3. Kratzer S, Irl H, Mattusch C, Bürge M, Kurz J, Kochs E, et al. Tranexamic acid impairs γ -aminobutyric acid receptor type A-mediated synaptic transmission in the murine amygdala: a potential mechanism for drug-induced seizures? *Anesthesiology* 2014; 120: 639-49.
4. Sepkuty JP, Cohen AS, Eccles C, Rafiq A, Behar K, Ganel R, et al. A neuronal glutamate transporter contributes to neurotransmitter GABA synthesis and epilepsy. *J Neurosci* 2002; 22: 6372-9.
5. Danbolt NC. Glutamate uptake. *Prog Neurobiol* 2001; 65: 1-105.
6. Beart PM, O'Shea RD. Transporters for L-glutamate: an update on their molecular pharmacology and pathological involvement. *Br J Pharmacol* 2007; 150: 5-17.
7. Maragakis NJ, Rothstein JD. Glutamate transporters in neurologic disease. *Arch Neurol* 2001; 58: 365-70.
8. Sheldon AL, Robinson MB. The role of glutamate transporters in neurodegenerative diseases and potential opportunities for intervention. *Neurochem Int* 2007; 51: 333-55.
9. Do SH, Kamatchi GL, Washington JM, Zuo Z. Effects of volatile anesthetics on glutamate transporter, excitatory amino acid transporter type 3: the role of protein kinase C. *Anesthesiology* 2002; 96: 1492-7.
10. Guo J, Gao X, Ma Y, Lv H, Hu W, Zhang S, et al. Different dose regimens and administration methods of tranexamic acid in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized trials. *BMC Anesthesiol* 2019; 19: 129.
11. Manji RA, Grocott HP, Leake J, Ariano RE, Manji JS, Menkis AH, et al. Seizures following cardiac surgery: the impact of tranexamic acid and other risk factors. *Can J Anaesth* 2012; 59: 6-13.
12. Zhang Y, Bai Y, Chen M, Zhou Y, Yu X, Zhou H, et al. The safety and efficiency of intravenous administration of tranexamic acid in coronary artery bypass grafting (CABG): a meta-analysis of 28 randomized controlled trials. *BMC Anesthesiol* 2019; 19: 104.
13. Mathews GC, Diamond JS. Neuronal glutamate uptake contributes to GABA synthesis and inhibitory synaptic strength. *J Neurosci* 2003; 23: 2040-8.
14. Lecker I, Wang DS, Romaschin AD, Peterson M, Mazer CD, Orsler BA. Tranexamic acid concentrations associated with human seizures inhibit glycine receptors. *J Clin Invest* 2012; 122: 4654-66.
15. Na HS, Park HP, Kim CS, Do SH, Zuo Z, Kim CS. 17β -Estradiol

- attenuates the activity of the glutamate transporter type 3 expressed in *Xenopus* oocytes. *Eur J Pharmacol* 2012; 676: 20-5.
16. Yun JY, Kim JH, Kim HK, Lim YJ, Do SH, Zuo Z. Effects of intravenous anesthetics on the activity of glutamate transporter EAAT3 expressed in *Xenopus* oocytes: evidence for protein kinase C involvement. *Eur J Pharmacol* 2006; 531: 133-9.
17. Lecker I, Wang DS, Whissell PD, Avramescu S, Mazer CD, Orser BA. Tranexamic acid-associated seizures: causes and treatment. *Ann Neurol* 2016; 79: 18-26.
18. Furtmüller R, Schlag MG, Berger M, Hopf R, Huck S, Sieghart W, et al. Tranexamic acid, a widely used antifibrinolytic agent, causes convulsions by a gamma-aminobutyric acid(A) receptor antagonistic effect. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301: 168-73.
19. Kim JH, Do SH, Kim YL, Zuo Z. Effects of chronic exposure to ethanol on glutamate transporter EAAT3 expressed in *Xenopus* oocytes: evidence for protein kinase C involvement. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 2046-52.
20. Kim JH, Lim YJ, Ro YJ, Min SW, Kim CS, Do SH, et al. Effects of ethanol on the rat glutamate excitatory amino acid transporter type 3 expressed in *Xenopus* oocytes: role of protein kinase C and phosphatidylinositol 3-kinase. *Alcohol Clin Exp Res* 2003; 27: 1548-53.
21. Shin HJ, Ryu JH, Kim ST, Zuo Z, Do SH. Caffeine-induced inhibition of the activity of glutamate transporter type 3 expressed in *Xenopus* oocytes. *Toxicol Lett* 2013; 217: 143-8.
22. Yoon HJ, Lim YJ, Zuo Z, Hur W, Do SH. Nicotine decreases the activity of glutamate transporter type 3. *Toxicol Lett* 2014; 225: 147-52.
23. Ryu J, Do SH, Lee N. Remifentanyl increases the activity of the glutamate transporter, EAAC1, expressed in *Xenopus* oocytes. *Anesth Pain Med* 2008; 3: 264-9.
24. Ryu JH, Kim CS, Do SH, Park HS. Effect of propofol on oxidative stress-attenuated glutamate transporter EAAT4 activity. *Anesth Pain Med* 2011; 6: 225-30.