

Vitamin E Potentiates the Anti-nociceptive Effects by Intraperitoneal Administration of Lidocaine in Rats

Hye-Jin Kim[†], Hae-Ji Yang[†], Sun-Hyong Kim, Dan-A Kim, Seong-Ju Kim, Han-na Park, Jin-Sook Ju and Dong-Kuk Ahn^{*}

Department of Oral Physiology, School of Dentistry, Kyungpook National University, Daegu, Korea

(received November 28, 2016; revised December 07, 2016; accepted December 08, 2016)

The present study was to evaluate effects of vitamin E on intravenous administration of lidocaine-induced antinociception. Experiments were carried out using male Sprague-Dawley rats. Orofacial formalin-induced nociceptive behavioral responses were used as the orofacial animal pain model. Subcutaneous injection of formalin produced significant nociceptive scratching behavior. Intraperitoneal injection of 5 and 10 mg/kg of lidocaine attenuated formalin-induced nociceptive behavior in the 2nd phase, compared to the vehicle-treated group. Intraperitoneal injection of 1 g/kg of vitamin E also attenuated the formalin-induced nociceptive behavior in the 2nd phase, compared to the vehicle-treated group. However, low dose of vitamin E (0.5 g/kg) did not affect the nociceptive behavioral responses produced by subcutaneous injection of formalin. The present study also investigated effects of intraperitoneal injection of both vitamin E and lidocaine on orofacial formalin-induced behavioral responses. Vehicle treatment affected neither formalin-induced behavioral responses nor lidocaine-

induced antinociceptive effects. However, intraperitoneal injection of 0.5 g/kg of vitamin E enhanced the lidocaine-induced antinociceptive effects in the 2nd phase compared to the vehicle-treated group. Intraperitoneal injection of naloxone, an opioid receptor antagonist, did not affect antinociception produced by intraperitoneal injections of both vitamin E and lidocaine. These results suggest that treatment with vitamin E enhances the systemic treatment with lidocaine-induced antinociception and reduces side effects when systemically treated with lidocaine. Therefore, the combined treatment with vitamin E and lidocaine is a potential therapeutic for chronic orofacial pain.

Key words: lidocaine, vitamin E, formalin, pain, trigeminal

서론

리도카인(lidocaine)은 xylocaine 또는 lignocaine으로도 알려져 있으며, 일반적으로 신경전도를 차단하여 국소마취제로 널리 사용하는 약물[1]이다. 리도카인은 신경차단으로 감각을 느낄 수 없게 하는 작용 이외에도 다양한 심장질환에서 유발되는 심실부정맥을 치료하는 약제[2]로도 사용되고 있다. 리도카인은 신경세포의 세포막에 존재하는 막전위의존형 나트륨 통로(voltage dependent Na⁺ channel)를 억제하여 신경에서 활동전위가 발생하는 것을 차단함으로써 신경 전도를 차단하게 되어 진통작용을 나타낸다[1,3].

국소마취제로 알려진 리도카인을 전신적으로 투여하면 다양한 통증 증상이 억제된다는 것을 많은 선행실험에서

[†]These authors contributed equally to this study

^{*}Correspondence to: Dong-Kuk, Ahn, Department of Oral Physiology, School of Dentistry, Kyungpook National University, 188-1 Sam Deok 2ga, Chung-gu, Daegu (700-412), Korea
Tel: 82-53-660-6840, Fax: 82-53-421-4077
E-mail: dkahn@knu.ac.kr
ORCID : 0000-0002-5570-2371

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

보고하였다[4-7]. 진통작용이 일어나는 부위는 아직까지 정확하게 알려져 있지 않지만, 생체에서 부작용을 야기하지 않을 농도에서 통증을 전도하는 신경섬유로 알려진 C 신경섬유[8]를 포함한 말초신경의 전도에 유의한 영향을 미치지 않았다[8-10]는 보고는 전신적으로 투여한 리도카인이 말초신경의 전도를 차단하여 진통작용을 유발하는 것이 아니라, 중추신경계에 직접 작용하여 진통작용을 일으킬 수 있다는 것을 암시하고 있다.

지용성 비타민 중 하나인 비타민 E는 항산화제로서 역할[11]을 할 뿐만 아니라 혈액 응고 억제[12]와 protein kinase C를 조절하는 효소[13]로도 작용하며, 유전자 조절[14]에도 영향을 미친다고 알려져 있다. 이러한 작용 중 항산화제로서 활성산소를 억제하는 역할은 통증을 조절하는 데 중요하게 작용한다. 이러한 통증 조절작용은 많은 선행연구에 의해 증명되고 있다. 활성산소를 제거(ROS scavenger)하는 물질로 알려져 있는 비타민 E를 실험동물에서 전신적으로 투여하거나 뇌경막 아래로 주사하여 척수안쪽으로 투여하면 포르말린에 의해 유도되는 염증성 통증[15]이나 신경손상으로 야기되는 신경병성 통증[16]을 유의하게 억제하였다. 이러한 실험 결과는 활성산소가 중추에서 발생하는 신경감작에 중요하게 작용하며, 비타민 E가 활성산소를 조절함으로써 통증을 억제한다는 것을 말해 주고 있다. 그러나 안면영역에서 발생하는 통증에 전신으로 투여한 리도카인의 진통작용을 실험한 연구나 비타민 E가 전신으로 투여한 리도카인의 통증 조절에 미치는 작용을 연구한 실험은 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 비타민 E를 전처치하였을 때 전신으로 투여한 리도카인의 진통작용에 미치는 영향을 평가하였다. 통증평가는 안면 피하조직으로 포르말린을 주사하여 나타나는 통증 행위반응을 이용하였다. 복강으로 리도카인을 투여하여 포르말린에 의해 발생하는 통증 행위반응에 미치는 영향을 평가하였으며, 비타민 E를 전처치하여 복강으로 투여한 리도카인의 통증 억제반응에 미치는 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 수컷 Sprague-Dawley 계 흰 쥐(230-260g)를 사용하였고, 경북대학교 치의학전문대학원 동물실에서 일정한 온도와 12시간 주/야 빛 순환주기를 갖는 환경에서 실험동물용 사료와 물을 자유롭게 공급하여 사육하였다. 본 연구는 경북대학교 실험동물위원회의 승인

(2015-0053)을 얻었으며, 국제 통증연구학회에서 권장하는“의식 있는 실험동물에서의 통증 평가 규정”을 준수하였다. 모든 행동반응의 측정은 블라인드 테스트로 수행하였다.

안면 포르말린 테스트 (orofacial formalin test)

통증평가 전 실험용 흰 쥐를 적응시키기 위하여 관찰통에 두고 최소한 15분 이상 관찰하면서 적응시켰다. 관찰통에서 잘 적응된 흰 쥐만을 다음 실험에 사용하였으며 안면부 통증을 유발하기 위하여 5% 포르말린 용액을 50 μ L 용량으로 안면부위의 피하조직으로 주입하였다. 포르말린을 주입한 다음 실험동물에서 나타나는 통증행위반응을 관찰하였다. 주입 직후 실험동물은 주입한 부위를 긁는 행위반응(scratching)을 나타내는데, 이때 나타나는 행위반응의 빈도를 측정하여 통증 행위 반응으로 판단하였다. 통증 행위반응의 측정과 평가는 선행연구에서 수행한 방법[17-22]을 따라 실시하였으며, 포르말린 주입 후 나타나는 통증 행위반응의 빈도를 5분 단위로 나누어 60분간 기록하여 정량화하였다. 일반적으로 포르말린을 주입하여 나타나는 염증성 통증은 주입 직후 통증 행위 반응이 나타났다가 점차 감소하여 반응을 거의 보이지 않는 상태가 되고, 주입 10분 후부터 다시 통증 행위반응이 나타나는 이상성(bisphasic) 형태를 보인다[17-20,23,24]. 따라서 포르말린 주입 직후부터 10분까지 나타나는 1차 반응(first phase)과 10분에서 실험이 종결되는 60분까지 나타나는 2차 반응(second phase)으로 구분하여 평가하였다.

실험 프로토콜

복강으로 투여한 리도카인의 진통작용: 복강으로 투여한 리도카인이 안면부위에 포르말린을 주사하여 나타나는 통증 행위반응에 미치는 영향을 관찰하였다. 복강으로 리도카인을 5 mg, 10 mg/kg(1 mL)의 농도로 주사하고 20분이 경과한 다음, 안면 피하조직으로 5% 포르말린을 50 μ L 용량으로 주사하여 나타나는 통증 행위반응을 60분간 관찰하였다. 대조군으로는 생리식염수를 처치하였다.

복강으로 투여한 비타민 E의 진통작용: 복강으로 투여한 비타민 E가 포르말린을 주사하여 나타나는 통증 행위반응에 미치는 영향을 관찰하였다. 복강으로 0.5 g, 1 g/kg(1 mL)의 농도로 비타민 E를 주사하고 60분이 경과한 다음, 포르말린을 주사하여 나타나는 통증 행위반응을 관찰하였다. 대조군으로는 olive oil를 처치하였다.

전처치한 비타민 E가 리도카인의 진통작용에 미치는 영향: 통증 억제작용이 약한 농도인 0.5 g/kg의 비타민

E를 복강으로 주사하고 40분이 경과한 다음, 5 mg/kg의 리도카인을 복강으로 이어서 주사하였다. 리도카인 주사 후 20분이 경과한 다음 포르말린을 주사하여 통증 행위 반응을 관찰하였다.

비타민 E 전처치로 유발된 진통작용에 opioid 수용기의 역할: 진통작용이 미약한 5 mg/kg 리도카인은 비타민 E를 0.5 g/kg을 전처치하면 진통작용을 유발하였다. 이때 중추성 opioid가 관여하는지를 평가하기 위하여 opioid 수용기 차단제인 naloxone을 1 mg/kg의 농도로 복강으로 전처치한 다음 10분 후 포르말린 진통작용을 평가하였다.

약물

리도카인, 비타민 E, naloxone은 Sigma Aldrich(St. Louis, MO) 회사에서 구입하였고 리도카인과 naloxone은 생리식염수에 녹였으며, 비타민 E는 olive oil에 녹여 사용하였다. 리도카인은 복강으로 5 mg, 10 mg/kg의 농도로 주사하였으며 비타민 E는 0.5 g, 1 g/kg의 농도로 복강으로 주입하였다

통계분석

시간 변화에 따른 행위반응의 유의성을 검증하기 위해 반복측정 분산분석법과 Holm-Sidak 사후분석(post-hoc analysis)을 이용하였다. 통증 행위반응에서 일차반응과 이차반응은 일원분산분석(ONE-WAY ANOVA)과 bonferroni의 사후분석을 이용하여 검증하였다. Naloxone 처치 후 나타나는 반응은 t-test를 이용하여 분석하였다. 통계적인 비교를 위해 통계적 유의성의 표준값은 $p < 0.05$ 로 설정하였고 결과는 평균 \pm 표준오차(SEM)로 표시하였다.

실험 결과

그림 1은 리도카인을 복강으로 투여한 다음 안면 피하조직으로 포르말린을 주사하여 나타나는 통증 행위반응을 관찰하여 나타내었다. 포르말린을 주사한 실험군에서 주입 직후 통증 행위반응이 일시적으로 나타났다가 사라졌으며, 이어서 다시 통증 행위반응이 나타나서 60분간 지속되었다. 리도카인 5 mg/kg을 복강으로 투여하면 포르말린에 의해 나타나는 통증 행위반응이 억제되었으나 통계적으로 유의하지 않았다. 그러나 고농도인 리도카인 10 mg/kg을 복강으로 투여하면 포르말린에 의해 나타나는 통증 행위반응이 유의하게 억제되었다($p < 0.05$). 포르말린에 의해 나타나는 통증 행위반응을 일차반응과(1st phase)과 이차반응(2nd phase)으로 구분하여 분석한 결과 리도카인을 주입한 실험군에서 포르말린의 이차반응을 유의하게 억제하여 진통작용을 나타내었다($p < 0.05$). 대조군으로 생리식염수를 주입한 군에서는 포르말린에 의해 나타나는 통증 행위 반응에 어떠한 영향도 미치지 않았다.

비타민 E를 복강으로 주입한 다음 포르말린에 의해 유도되는 통증 행위반응에 미치는 영향을 분석하여 그림 2에 나타내었다. 고농도(1 g/kg)의 비타민 E를 복강으로 주입하면 포르말린 주입 후 나타나는 통증 행위반응이 유의하게 억제되었다($p < 0.05$). 그러나 낮은 농도(0.5 g/kg)인 비타민 E를 복강으로 투여하면 포르말린에 의해 나타나는 통증 행위반응에는 아무런 영향을 미치지 못하였다. 대조군으로 olive oil을 투여한 군에서도

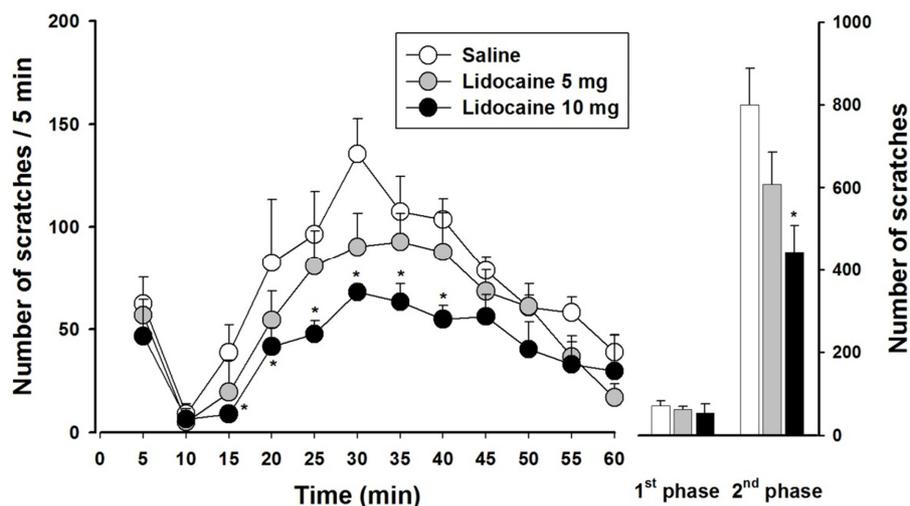


Figure 1. Effects of intraperitoneal injection of lidocaine on time course (left panel) or 1st and 2nd phase (right panel) of orofacial formalin-induced behavioral responses. Subcutaneous injection of formalin produced significant nociceptive behavior. Intraperitoneal injection of 10 mg/kg of lidocaine attenuated formalin-induced nociceptive behavior in the 2nd phase compared to the vehicle-treated group. * $p < 0.05$, vehicle vs. lidocaine-treated group. Six animals were used per group.

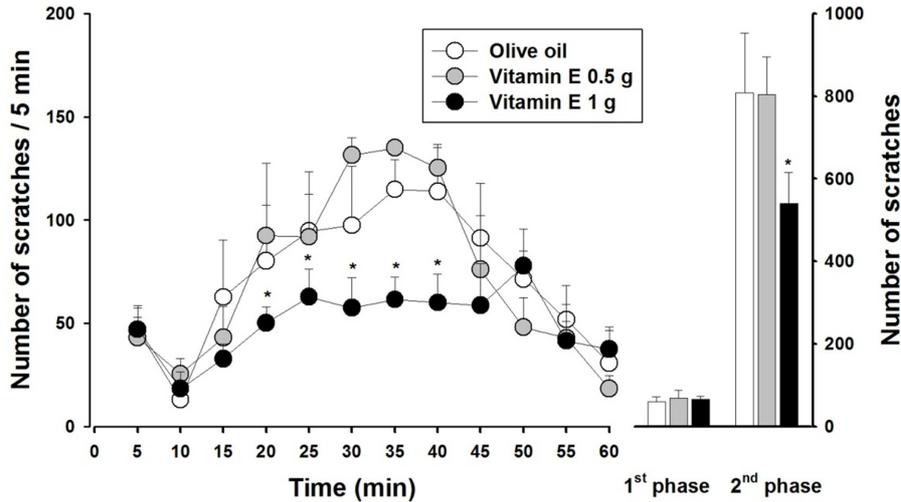


Figure 2. Effects of intraperitoneal injection of vitamin E on time course (left panel) or 1st and 2nd phase (right panel) of orofacial formalin-induced behavioral responses. Subcutaneous injection of formalin produced significant nociceptive behavior. Intraperitoneal injection of 1 g/kg of vitamin E attenuated formalin-induced nociceptive behavior in the 2nd phase compared to the vehicle-treated group. However, low dose of vitamin E did not affect nociceptive behavioral responses produced by subcutaneous injection of formalin. * $p < 0.05$, vehicle vs. vitamin E-treated group. Six animals were used per group.

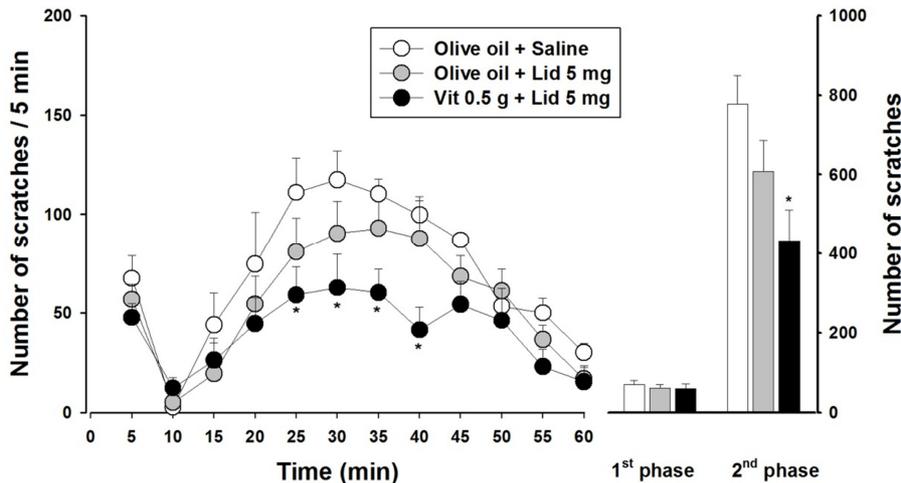


Figure 3. Effects of intraperitoneal injection of vitamin E (Vit) and lidocaine (Lid) on time course (left panel) or 1st and 2nd phase (right panel) of orofacial formalin-induced behavioral responses. Vehicle treatment affected neither formalin-induced behavioral responses nor lidocaine-induced antinociceptive effects. However, intraperitoneal injection of 0.5 g/kg of vitamin E enhanced lidocaine-induced antinociceptive effects in the 2nd phase compared to the vehicle-treated group. * $p < 0.05$, vehicle + lidocaine vs. vitamin E and lidocaine-treated group. Six animals were used per group.

유의한 통증 억제반응을 관찰하지 못하였다. 포르말린에 의해 나타나는 통증 행위반응을 일차반응과 이차반응으로 구분하여 분석한 결과 비타민 E를 1 g/kg 농도로 주입한 실험 군에서만 포르말린의 이차반응을 억제하여 유의한 진통작용을 나타내었다($p < 0.05$).

비타민 E를 리도카인과 같이 투여하였을 때 리도카인의 통증 억제작용에 미치는 영향을 평가한 실험 결과를 그림 3에 나타내었다. 선행실험에서 리도카인 5 mg/kg을 복강으로 투여하면 포르말린에 의해 나타나는 통증 행위

반응이 약하게 나타났다. 또한 비타민 E를 0.5 g/kg 농도로 복강으로 단독 투여하면 통증 억제작용을 나타내지 못하였다. 그러나 비타민 E(0.5 g/kg)를 복강으로 투여한 다음 리도카인(5 mg/kg)을 투여하면 리도카인을 단독으로 투여한 실험군에서 나타나는 진통작용과 비교하여 볼 때 더욱 증가된 진통작용을 유발하였다($p < 0.05$).

비타민 E가 리도카인의 통증억제를 증가시키는 작용에 중추성 opioid가 관여하는지 알아보기 위하여, opioid 수용기 차단제인 naloxone을 전처치한 다음 통증 행위반

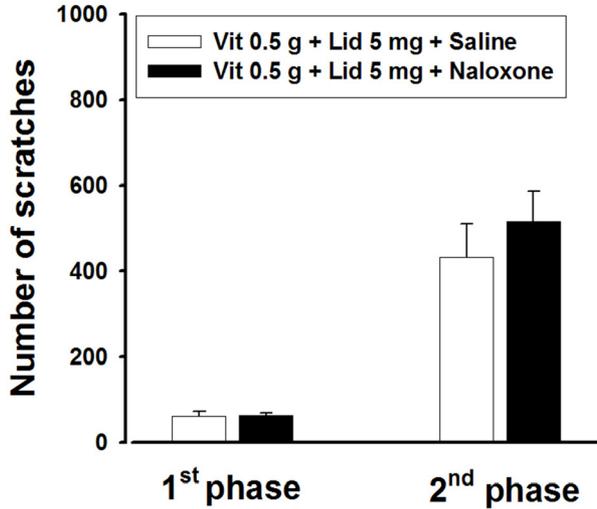


Figure 4. Effects of naloxone, an opioid receptor antagonist, on antinociception produced by intraperitoneal injection of vitamin E (Vit) and lidocaine (Lid). Intraperitoneal injection of 0.5 g/kg of vitamin E enhanced antinociceptive effects of lidocaine in the 2nd phase. However, intraperitoneal injection of naloxone did not affect. Six animals were used per group.

응에 미치는 영향을 평가하여 그림 4에 나타내었다. 비타민 E(0.5 g/kg)의 전처치는 리도카인(5 mg/kg)을 투여하여 나타나는 진통작용을 유의하게 증가시켰다. 그러나 opioid 수용기 차단제인 naloxone을 전처치한 군에서 이러한 진통작용의 증가를 차단하지 못하였다.

고 찰

본 실험에서 전신으로 투여한 리도카인의 진통작용에 비타민 E를 전처치하면 통증 억제작용이 증가한다는 사실을 보여 주고 있다. 복강으로 주사한 리도카인은 안면에서 발생하는 염증성 통증을 억제하였다. 복강으로 투여한 고농도의 비타민 E는 유의한 진통작용을 보여주었으나 낮은 농도의 비타민 E는 포르말린에 의해 나타나는 통증 행위반응을 억제하지 못하였다. 그러나 단독으로 투여하였을 때 진통작용을 야기하지 못하는 낮은 농도의 비타민 E는 리도카인과 같이 처치함으로써 리도카인의 진통작용을 유의하게 증가시켰다. 이러한 실험결과는 비타민 E를 전처치함으로써 진통작용을 유발하기 위해 전신으로 투여하는 리도카인의 농도를 줄여 줄 수 있어, 항 후 만성통증 조절에 새로운 방법의 하나로 제시될 수 있을 것으로 판단된다.

국소마취제로 사용되는 리도카인은 이중인지질로 구성되어 있는 세포막을 쉽게 통과하여 신경섬유의 세포막에 존재하는 막전위 의존형 나트륨 통로를 세포막 안에서

조절하여 신경전도를 차단[25,26]하는 것으로 알려져 있다. 국소마취제인 리도카인을 전신적으로 투여하여도 통증을 억제할 수 있다는 사실은 많은 선행 연구[4,6]에 의해 소개되었다. 본 연구에서도 리도카인을 복강으로 주사하면 유의한 통증 억제작용을 관찰할 수 있었다. 또한 5 mg/kg의 리도카인을 투여한 군에 비하여 10 mg/kg의 농도로 투여한 군에서 진통작용이 더 크게 나타난 것은 전신으로 투여한 리도카인을 만성통증을 억제할 수 있는 치료방법의 하나로 사용할 수 있다는 것을 보여주고 있다. 그러나 전신으로 투여한 리도카인은 통증과민현상[27]을 억제한다는 실험결과뿐만 아니라 항염증작용[28]을 나타낸다는 보고도 있어 단순하게 말초신경의 신경전도 차단과는 상관없이 중추신경계에 직접 작용하여 진통작용을 나타낼 수 있다는 사실을 암시하고 있다. 선행실험에서 제시한 전신으로 투여한 리도카인의 진통 작용기전을 살펴보면 정맥으로 투여한 리도카인이 뇌척수액에서 acetylcholine의 농도를 증가[29]시켜 M3 수용기에 작용을 증가[30]시키거나, glycine 수용기를 억제하거나[31], 중추신경계에 존재하는 내재성 opioid를 분비하여 하행성 통증억제 시스템을 상승시켜서[32] 진통작용이 나타난다고 하였다. 알려진 또 다른 진통작용 기전으로는 척수에서 N-methyl-D-aspartate(NMDA)나 neurokinin 수용기에 직접 작용하여 신경접합후 신경(postsynaptic neuron)의 활동을 조절한다[33]. 이러한 실험 결과에서 보듯이 정맥으로 투입된 리도카인은 중추신경계에 작용하여 통증을 억제할 수 있다는 사실을 보여주고 있으나 조직손상에 따른 통증의 종류와 세기에 따라 다르게 나타나거나 리도카인이 주입되는 양에 따라 반응하는 양상도 다르게 나타나기 때문에 정확한 작용기전을 이해하기 위해서는 추가적인 연구가 필요해 보인다.

본 연구에서 비타민 E를 복강으로 투여하면 포르말린에 의해 나타나는 통증 행위반응을 유의하게 억제하였다. 비타민 E는 여러 실험에서 산화스트레스 환경에서 항산화효소를 회복시키는 항산화제로서의 역할[34,35]을 한다고 보고하였다. 정상적으로 활성산소는 세포에서 다양한 인자에 의해 조절되고 있다. 그러나 세포내 활성산소가 증가하게 되면 세포의 부종이나 괴사 등이 진행되어 세포손상이 발생하게 된다[36]. 활성산소는 미토콘드리아에서 발생하는 superoxide, 효소작용으로 발생하는 hydrogen peroxide(H₂O₂), 그리고 L-arginine으로부터 합성되는 nitric oxide (NO)등이 있으며 이들 활성산소가 중추성 감각을 야기하여 통증을 발생시키는 것으로 알려져 있다[37]. 활성산소가 만성통증 발생에 중요하게 작용한다는 것은 많은 선행연구에서 보여주고 있다. 척수신경을 묶어서 신경병성 통증이 발생한 실험동물에서

척추후각에 있는 신경세포에서 활성산소가 유의하게 증가[38]하였으며, 척수에 존재하는 신경세포의 활동성을 증가시켜 중추성 감각을 유발하였다[37]. 또한 캡사이신을 처리하여 통증과민현상을 유발시킨 실험동물에서 활성산소 제거제로 알려진 PBN이나 tempol을 척수경막하로 처리하면 통증에 반응하는 신경세포의 활동을 유의하게 억제하였다[39]. 이러한 실험결과는 활성산소가 통증을 발생시키는 중추성 감각에 매우 중요하다는 것을 보여주고 있다. 이러한 실험결과와 본 연구에서 보여준 낮은 농도의 비타민 E는 진통작용을 유발하지 못하였지만, 고농도의 비타민 E는 유의한 진통작용을 나타내었다는 실험결과를 종합해 볼 때 활성산소를 조절하여 통증을 조절할 수 있는 비타민 E는 항 후 만성통증을 조절하는 새로운 물질로 연구되어질 필요가 있다.

본 연구에서는 진통작용을 나타내지 않는 낮은 농도의 비타민 E를 처리한 다음 리도카인을 투여하면 리도카인을 단독으로 투여하여 나타나는 통증억제 작용이 더욱 증가한다는 것을 보여 주고 있다. 일반적으로 리도카인을 정맥으로 투여하여 진통작용을 유발할 때 부작용을 유발[40]할 수 있기 때문에 매우 낮은 농도로 사용되고 있는 것이 현실이다. 이러한 사실은 리도카인을 전신으로 투여하여 통증을 억제하고자 할 때 비타민 E를 전처치함으로써 낮은 농도의 리도카인을 사용할 수 있게 하여 전신으로 투여되는 리도카인의 부작용을 줄일 수 있을 것으로 판단된다. 본 연구에서 비타민 E가 리도카인의 통증억제를 증가시키는 작용에 중추성 opioid가 관여하는지 알아보기 위하여, opioid 수용기 차단제인 naloxone을 전처치한 다음 통증행위 반응에 미치는 영향을 평가한 결과 opioid 수용기 차단제인 naloxone을 전처치한 군에서 앞 실험에서 보여준 진통작용의 증가를 차단하지 못하였다. 이러한 실험 결과는 비타민 E가 리도카인의 진통작용을 증가시키는 작용에 내재성 opioid가 관여하는 것이 아니라는 것을 증명하고 있다.

이상의 실험을 종합해 보면 비타민 E를 전처치하면 단독으로 투여한 리도카인의 진통작용을 유의하게 증가시켰다. 이러한 실험결과는 비타민 E를 같이 투여하여 진통작용을 유발하기 위해 전신으로 투여하는 리도카인의 농도를 줄여줄 수 있어, 항 후 만성통증을 조절하는 새로운 치료 방법의 하나로 제시될 수 있을 것으로 판단된다.

Conflict of interest statement

The authors report no conflict of interest.

Acknowledgements

This research was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Science, ICT & Future Planning (2012M3A9B6055414).

References

1. Lauretti GR. Mechanisms of analgesia of intravenous lidocaine. *Rev Bras Anesthesiol.* 2008;58:280-286.
2. Sheu SS, Lederer WJ. Lidocaine's negative inotropic and antiarrhythmic actions. Dependence on shortening of action potential duration and reduction of intracellular sodium activity. *Circ Res.* 1985;57:578-590.
3. Catterall WA. Physiology. A one-domain voltage-gated sodium channel in bacteria. *Science.* 2001;294:2306-2308. doi:10.1126/science.1067417
4. Abram SE, Yaksh TL. Systemic lidocaine blocks nerve injury-induced hyperalgesia and nociceptor-driven spinal sensitization in the rat. *Anesthesiology.* 1994;80:383-391.
5. Araujo MC, Sinnott CJ, Strichartz GR. Multiple phases of relief from experimental mechanical allodynia by systemic lidocaine: responses to early and late infusions. *Pain.* 2003;103:21-29.
6. Finnerup NB, Biering-Sørensen F, Johannesen IL, Terkelsen AJ, Juhl GI, Kristensen AD, Sindrup SH, Bach FW, Jensen TS. Intravenous lidocaine relieves spinal cord injury pain: a randomized controlled trial. *Anesthesiology.* 2005;102:1023-1030.
7. Mao J, Chen LL. Systemic lidocaine for neuropathic pain relief. *Pain.* 2000;87:7-17.
8. Woolf CJ, Wiesenfeld-Hallin Z. The systemic administration of local anaesthetics produces a selective depression of C-afferent fibre evoked activity in the spinal cord. *Pain.* 1985;23:361-374.
9. Chabal C, Russell LC, Burchiel KJ. The effect of intravenous lidocaine, tocainide, and mexiletine on spontaneously active fibers originating in rat sciatic neuromas. *Pain.* 1989;38:333-338. doi:10.1007/s10195-016-0411-1
10. Devor M, Wall PD, Catalan N. Systemic lidocaine silences ectopic neuroma and DRG discharge without blocking nerve conduction. *Pain.* 1992;48:261-268.
11. Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radic Biol Med.* 2011;51:1000-1013. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.05.017.
12. Dowd P, Zheng ZB. On the mechanism of the anti-clotting action of vitamin E quinone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92:8171-8175.
13. Schneider C. Chemistry and biology of vitamin E. *Mol Nutr Food Res.* 2005;49:7-30. doi:10.1002/mnfr.200400049
14. Azzi A, Stocker A. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog Lipid Res.* 2000;39:231-255.

15. Hong BH, Ko YK, Lee YJ, Han K, Kim Y, Lee W. Antinociceptive effects of vitamin E in formalin-induced nociceptive response in rats. *Anesth Pain Med.* 2011;6:59-62.
16. Kim HK, Kim JH, Gao X, Zhou JL, Lee I, Chung K, Chung JM. Analgesic effect of vitamin E is mediated by reducing central sensitization in neuropathic pain. *Pain.* 2006;122:53-62. doi:10.1016/j.pain.2006.01.013
17. Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain.* 1995;60:91-102.
18. Choi HS, Ju JS, Lee HJ, Jung CY, Kim BC, Park JS, Ahn DK. Effects of TNF-alpha injected intracisternally on the nociceptive jaw-opening reflex and orofacial formalin test in freely moving rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2003a;27:613-618. doi:10.1016/S0278-5846(03)00049-6
19. Choi HS, Ju JS, Lee HJ, Kim BC, Park JS, Ahn DK. Effects of intracisternal injection of interleukin-6 on nociceptive jaw opening reflex and orofacial formalin test in freely moving rats. *Brain Res Bull.* 2003b;59:365-370.
20. Raboisson P, Dallel R. The orofacial formalin test. *Neurosci Biobehav Rev.* 2004;28:219-226. doi:10.1016/j.neubiorev.2003.12.003
21. Ahn DK, Lee KR, Lee HJ, Kim SK, Choi HS, Lim EJ, Park JS. Intracisternal administration of chemokines facilitated formalin-induced behavioral responses in the orofacial area of freely moving rats. *Brain Res Bull.* 2005;66:50-58. doi:10.1016/j.brainresbull.2005.03.015
22. Yang GY, Woo YW, Park MK, Bae YC, Ahn DK, Bonfa E. Intracisternal administration of NR2 antagonists attenuates facial formalin-induced nociceptive behavior in rats. *J Orofac Pain.* 2010;24:203-211.
23. Tjølsen A, Berge OG, Hunskar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain.* 1992;51:5-17.
24. Raboisson P, Dallel R, Clavelou P, Sessle BJ, Woda A. Effects of subcutaneous formalin on the activity of trigeminal brain stem nociceptive neurones in the rat. *J Neurophysiol.* 1995;73:496-505.
25. Fernandes Fraceto L, Spisni A, Schreier S, de Paula E. Differential effects of uncharged aminoamide local anesthetics on phospholipid bilayers, as monitored by ¹H-NMR measurements. *Biophys Chem.* 2005;115:11-18. doi:10.1016/j.bpc.2004.12.003
26. Sheets MF, Hanck DA. Molecular action of lidocaine on the voltage sensors of sodium channels. *J Gen Physiol.* 2003;121:163-175.
27. Koppert W, Ostermeier N, Sittl R, Weidner C, Schmelz M. Low-dose lidocaine reduces secondary hyperalgesia by a central mode of action. *Pain.* 2000;85:217-224. doi:10.1002/jmrs.84
28. Hollmann MW, Durieux ME. Prolonged actions of short-acting drugs: local anesthetics and chronic pain. *Reg Anesth Pain Med.* 2000;25:337-339. doi:10.1053/rapm.2000.7606
29. Abelson KS, Høglund AU. Intravenously administered lidocaine in therapeutic doses increases the intraspinal release of acetylcholine in rats. *Neurosci Lett.* 2002;317:93-96.
30. Hollmann MW, Ritter CH, Henle P, de Klaver M, Kamatchi GL, Durieux ME. Inhibition of m3 muscarinic acetylcholine receptors by local anaesthetics. *Br J Pharmacol.* 2001;133:207-216. doi:10.1038/sj.bjp.0704040
31. Biella G, Sotgiu ML. Central effects of systemic lidocaine mediated by glycine spinal receptors: an iontophoretic study in the rat spinal cord. *Brain Res.* 1993;603:201-206.
32. Cohen SP, Mao J. Is the analgesic effect of systemic lidocaine mediated through opioid receptors? *Acta Anaesthesiol Scand.* 2003;47:910-911.
33. Nagy I, Woolf CJ. Lignocaine selectively reduces C fibre-evoked neuronal activity in rat spinal cord in vitro by decreasing N-methyl-D-aspartate and neurokinin receptor-mediated post-synaptic depolarizations; implications for the development of novel centrally acting analgesics. *Pain.* 1996;64:59-70.
34. Sahoo DK, Roy A, Chainy GB. Protective effects of vitamin E and curcumin on L-thyroxine-induced rat testicular oxidative stress. *Chem Biol Interact.* 2008;176:121-128. doi:10.1016/j.cbi.2008.07.009.
35. Rao MV, Chawla SL, Sharma SR. Protective role of vitamin E on nickel and/or chromium induced oxidative stress in the mouse ovary. *Food Chem Toxicol.* 2009;47:1368-1371. doi:10.1016/j.fct.2009.03.018.
36. Kim HK, Park SK, Zhou JL, Tagliatela G, Chung K, Coggeshall RE, Chung JM. Reactive oxygen species (ROS) play an important role in a rat model of neuropathic pain. *Pain.* 2004;111:116-124. doi:10.1016/j.pain.2004.06.008
37. Lee KY, Chung K, Chung JM. Involvement of reactive oxygen species in long-term potentiation in the spinal cord dorsal horn. *J Neurophysiol.* 2010;103:382-391. doi:10.1152/jn.90906.2008.
38. Park ES, Gao X, Chung JM, Chung K. Levels of mitochondrial reactive oxygen species increase in rat neuropathic spinal dorsal horn neurons. *Neurosci Lett.* 2006;391:108-111. doi:10.1016/j.neulet.2005.08.055
39. Lee I, Kim HK, Kim JH, Chung K, Chung JM. The role of reactive oxygen species in capsaicin-induced mechanical hyperalgesia and in the activities of dorsal horn neurons. *Pain.* 2007;133:9-17. doi:10.1016/j.pain.2007.01.035
40. Picard J, Ward SC, Zumpe R, Meek T, Barlow J, Harrop-Griffiths W. Guidelines and the adoption of 'lipid rescue' therapy for local anaesthetic toxicity. *Anaesthesia.* 2009;64:122-125. doi:10.1111/j.1365-2044.2008.05816.x.