

Glukoz Metaboliti Metilglioksalin Vasküler Gevşeme Yanıtlarına Etkisi

IMPACT OF METHYLGLYOXAL, A METABOLITE OF GLUCOSE ON VASCULAR SMOOTH MUSCLE RELAXATIONS

Saadet TÜRKSEVEN, Elif ERTUNA

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Diyabete bağlı vasküler komplikasyonların gelişimiyle ilişkili olan bir glukoz metaboliti metilglioksalin endotelyumdan bağımsız damar düz kası gevşeme yanıtlarına olan etkisini saptamaktır.

Yöntemler: Sıçan torasik aortaları organ kültürü tekniği kullanılarak 24 saat süreyle 100, 300 veya 500 µM metilglioksal ile %5 CO₂ içeren 37°C'lik steril inkübatörde inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra aortik halkalar organ banyolarında 10-6 M noradrenalin ile önkastrmaya tabi tutulup nitrogliserin gevşeme yanıtları alındı. Aynı konsantrasyon-yanıt eğrisi N^ω-Nitro-L-arjinin varlığında tekrarlandı.

Bulgular: 100, 300 veya 500 µM metilglioksal uygulaması, nitrogliserin ile indüklenen endotelyumdan bağımsız gevşeme yanıtlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermemiştir. Ayrıca metilglioksal inkübasyonu sonrasında nitrogliserin Emaks yanıtları ve duyarlılığında herhangi bir fark saptanamamıştır. N^ω-Nitro-L-arjinin, Emaks yanıtlarında ve nitrogliserin duyarlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana getirmiştir.

Sonuç: Sıçan torasik aortasında 24 saatlik organ kültürü modelinde metilglioksal damar düz kası gevşeme yanıtlarında herhangi bir değişim oluşturmamaktadır.

Anahtar sözcükler: Diabetes Mellitus, makrovasküler komplikasyonlar, sıçan aortası, vazodilatasyon

SUMMARY

Objective: To determine the effect of methylglyoxal, a metabolite of glucose associated with diabetes induced vascular complications, on endothelium-independent vascular smooth muscle relaxations.

Methods: Rat thoracic aortas were incubated in a sterile incubator thermostated (37°C) and gassed with 5% CO₂ for 24h in the presence of 100, 300 or 500 µM of methylglyoxal. After 24h of methylglyoxal incubation, aortic rings were pre-contracted with 10-6 M noradrenaline and endothelium-independent relaxation response curve was examined in the absence or presence of N^ω-Nitro-L-arginine.

Results: Treatment of endothelium intact rat aorta with 100, 300 or 500 µM of methylglyoxal did not change endothelium-independent nitroglycerin induced relaxation compared to control group. Indeed, Emax and the sensitivity of concentration-response curve for nitroglycerin was not changed after methylglyoxal treatment. In contrast, N^ω-Nitro-L-arginine shifted the sensitivity of concentration-response curve for nitroglycerin and Emax.

Saadet TÜRKSEVEN
Ege Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Farmakoloji AD
35100 Bornova/İZMİR

Conclusion: In rat aortas, methylglyoxal does not affect endothelium-independent relaxation in 24 hour organ culture model.

Key words: Diabetes Mellitus, macrovascular complications, rat aorta, vasodilation

Mikro ve makro vasküler hastalıklar diyabetin en önemli komplikasyonlarından olup büyük oranda mortalite ve morbiditeden sorumludur. Vasküler hastalıkların patojenezinde, endotelium disfonksiyonu en erken dönemde görülen olaylardan olmakla birlikte bu patolojinin altında yatan mekanizmaların tamamı henüz aydınlatılamamıştır. İleri glikasyon son ürünlerinin birikimi ve Nitrik Oksit (NO) biyoyararlanımının azalması hiperglisemiye bağlı olarak gelişen vasküler komplikasyonlardan sorumlu mekanizmaların başında gelir (1,2).

Glukoz metabolizması sırasında oluşan ve reaktif karbonil ara ürünlerinden olan Metilglioksal (MG), vasküler düz kas hücreleri de dahil olmak üzere pek çok memeli hücresinde dihidrooksiaseton fosfattan oluşur (3). MG vasküler yapıda progresif hasara neden olan ileri glikasyon son ürünlerinin potent prekürsörüdür ve hiperglisemik ortamda pek çok hücreyel yolak üzerinden üretimi artar (4). MG primer olarak proteinlerin arjinin residüleri ile reaksiyona girerek arj-pirimidin ve hidroimidazon oluşmasına neden olur ve oluşan bu ürünler diyabetik hastaların böbrek arter duvarlarında ve aterosklerotik lezyonlarda gösterilmiştir. Tip I ve Tip II diyabetli hastalardan alınan plazma örneklerinde de MG konsantrasyonunun arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (5,6).

Bu çalışmanın amacı diyabete bağlı makro ve mikro vasküler hastalıklarla ilişkisi olduğu gösterilen bir glukoz metaboliti olan MG'nin sıçan aortasında düz kas gevşeme yanıtlarına olan etkisini belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney hayvanlarının hazırlanması

Çalışmada yaklaşık 150-200 g ağırlığında Wistar türü erkek sıçanlar kullanılmıştır. Deneye başlamadan önce sıçanlar 4-5 gün kafeslerinde bekletilerek stabilizasyonları sağlanmıştır. Denekler pentobarbitalin letal dozu (200 mg/kg i.p.) ile sakrifiye edildikten sonra, torasik aortalar izole edilmiştir. Bu çalışma 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals' kurallarına uygun şekilde ve Ege

Üniversitesi Deney Hayvanları Etik kurulu tarafından onaylanmış protokoller doğrultusunda yürütülmüştür.

Organ kültürü

İzole edilen torasik aortalar etrafını saran konnektif dokulardan temizlendikten sonra yaklaşık 2-3 mm'lik aortik halkalar hazırlanmıştır. Aortik halkalar penisilin, streptomisin ve %5 oranında fetal sıçır serumu içeren besleyici solüsyonda 24 saat süreyle, 100, 300 veya 500 µM konsantrasyonda MG ile %5 CO₂ içeren ve sıcaklığı 37°C'de sabit tutulan steril inkübatörde (MCO-18AIC, Sanyo, Japonya) inkübe edilmiştir (7). İnkübasyon sonunda aortik halkalar izole organ banyosu çalışmaları için kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin tümü Sigma Aldrich'den temin edilmiştir.

İzole organ banyosu deneyleri

Düz kasa bağımlı gevşeme yanıtları üzerinde MG'nin etkisini değerlendirmek amacıyla farklı konsantrasyonlarda MG ile 24 saat inkübe edilen aortik halkalarda nitroglicerinin konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmıştır. İnkübatörden alınan torasik aorta halkaları %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan, 25 ml hacminde, sıcaklığı 37°C'de sabit tutulan ve fizyolojik tuz çözeltisi (Krebs (g/L): NaCl, 6.90; KCl, 0.35; CaCl₂ .2H₂O, 0.37; KH₂PO₄, 0.16; MgSO₄.7H₂O, 0.30; NaHCO₃, 2.10; Glukoz, 2.00) içeren organ banyosuna alınmıştır. İnce paslanmaz çelikten uygun biçimde hazırlanmış üçgen şeklindeki klipsler halka şeklindeki preparatların lümenleri içinden geçirilmiştir. Her bir halkanın lümeni içinden geçirilen iki klipsten biri damarı sabitlemek için organ banyosunun askısına, diğeri ise uygun uzunluktaki ip kullanılarak izometrik transdüsöre bağlanmıştır. 15 dakikalık dengeleme döneminden sonra damar halkalarına sıçan aortası için optimal pasif gerilim olan 2 g pasif gerilim kademeli olarak uygulanmıştır. Öngerilim uygulanan damarlar 45 dakika stabilize edilmişlerdir. Stabilizasyon sırasında Krebs çözeltisi her 15 dakikada bir değiştirilmiştir. Stabilizasyon periyodu sonunda 10⁻⁶ M noradrenalin ile önkastırma uygulanan damarlarda asetilkolin (10⁻⁹-3.10⁻⁴ M) konsantrasyon-yanıt

eğrisi alınarak damarların endotelli olup olmadıkları belirlenmiş ve çalışmada kullanılan verilerin tamamı endotelli damarlardan elde edilmiştir. Damar düz kasına bağımlı gevşeme yanıtları 10^{-6} M noradrenalin ile önkastırma uygulanan aortalarda kontraksiyon platoya ulaştıktan sonra kümülatif nitrogliserin (10^{-9} - 3.10^{-5} M) uygulaması ile belirlenmiştir. Konsantrasyon-yanıt eğrisi NO sentaz inhibitörü $N\omega$ -Nitro-L-arjinin (L-NNA) (10^{-4} M, 30 dk) varlığında tekrarlanmıştır.

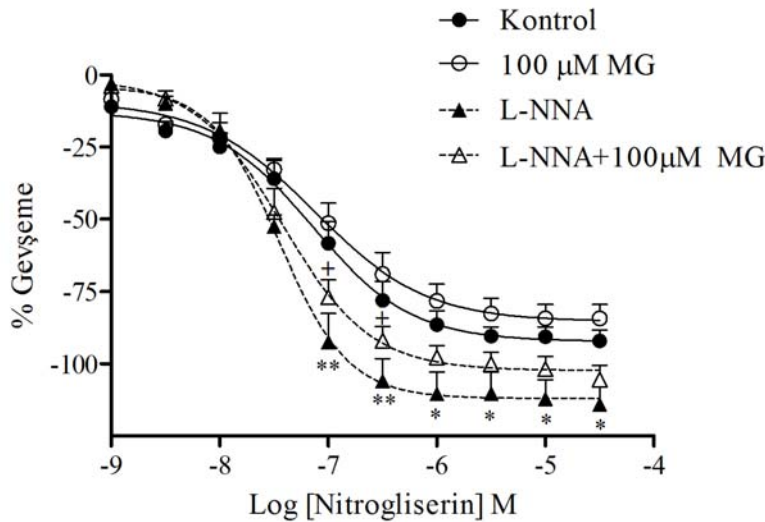
Verilerin analizi

Tüm veriler ortalama \pm ortalamanın standart hatası (Ort. \pm O.S.H.) olarak verilmiştir ve "n" damarların izole edildiği sıçan sayısını göstermektedir. Dokuların gevşeme yanıtları önkastırıcıya verilen yanıtın yüzdesi olarak ifade edilmiştir. Maksimum gevşemenin (E_{maks}) yarısını oluşturan konsantrasyonun negatif logaritması ($-\log EC_{50}$ veya pD_2) her agonist için iteratif non-lineer regresyon kullanılarak yapılmıştır. Bunun için Marquardt-Levendberg algoritmasını kullanan GraphPad Prism 5.03 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA) bilgisayar yazılımı kullanılmıştır. Verilerin analizi GraphPad Prism 5.03 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA) programında yapılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar varyans analiz

modülü ile gerçekleştirilmiştir (Two way analysis of variance, ANOVA, Posthoc Bonferroni). Grup içi karşılaştırmalarda ortalamalar eşleştirilmiş Student's *t*-testi ile analiz edilmiştir. *p* değerleri 0,05'den küçük bulunduğunda fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

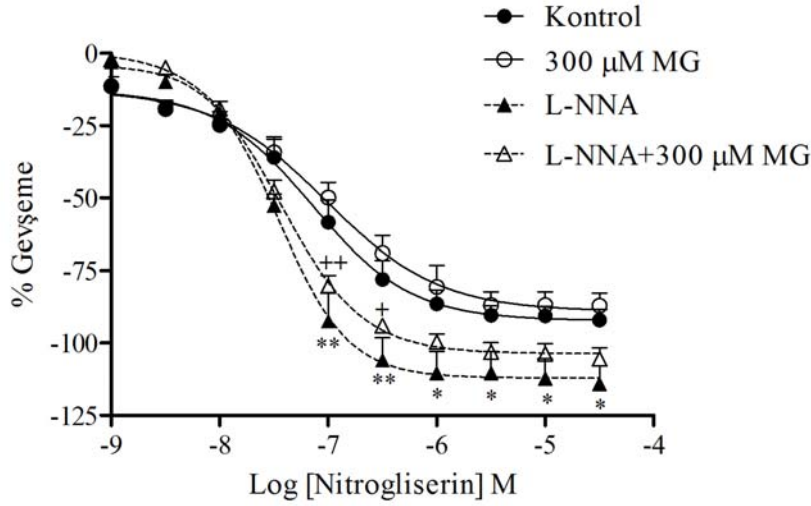
MG'nin endotelyumdan bağımsız gevşeme yanıtlarına olan etkisini incelemek amacıyla 100, 300 veya 500 μ M MG ile 24 saat inkübe edilen aortalara 10^{-6} M noradrenalin ile önkastırma uygulanıp kümülatif nitrogliserin gevşeme yanıtları alınmıştır (10^{-9} – 3.10^{-5} M). 100 ve 300 μ M MG ile inkübe edilen arterlerde kontrol grubuna kıyasla düz kasa bağı gevşeme yanıtlarında hafif bir azalma görülmesine rağmen bu azalma istatistiksel anlamlılık seviyesine ulaşmamıştır (Şekil 1,2). Benzer şekilde 500 μ M MG ile 24 saat muamele edilen damarlarda da kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gevşeme yanıtlarında herhangi bir değişim saptanmamıştır (Şekil 3). Çalışmadan elde edilen veriler farklı dozlarda MG inkübasyonunun nitrogliserin E_{maks} yanıtlarını değiştirmediğini göstermektedir (Tablo). Ayrıca Tablo'da görüldüğü gibi nitrogliserin duyarlılığı MG inkübasyonundan etkilenmemiştir.



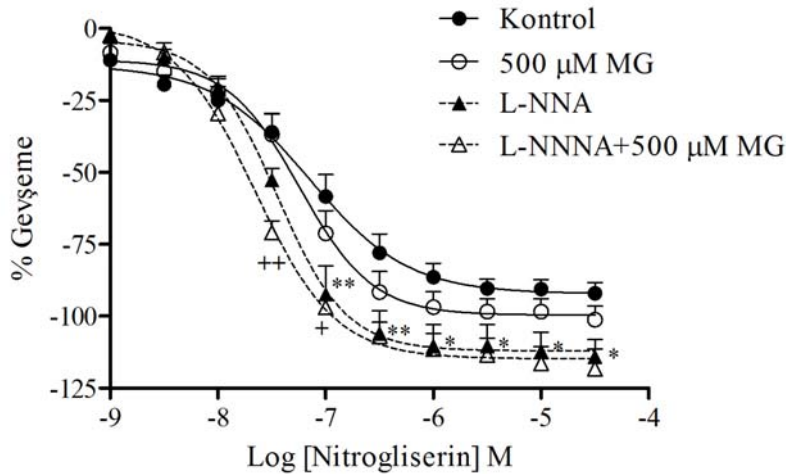
Şekil 1. 24 saatlik, 100 μ M MG inkübasyonunun, 10^{-6} M noradrenalin ile önkastırmaya tabi tutulmuş endotelli kontrol ve L-NNA uygulanan sıçan aortalarında kümülatif nitrogliserin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) gevşeme yanıtları üzerindeki etkileri (n=5) (* $p < 0,01$ ve ** $p < 0,001$ vs Kontrol; + $p < 0,01$ ve ++ $p < 0,001$ vs 100 μ M MG, Two way ANOVA, Bonferroni çoklu karşılaştırma testi)

Nitrogliserin gevşeme yanıtları NO sentaz inhibitörü L-NNA varlığında tekrarlanmıştır. Bu amaçla 24 saat 100, 300 ve 500 μM MG ile muamele edilen aortik halkalar, organ banyolarında 10^{-4} M L-NNA ile 30 dakika inkübe edilerek nitrogliserin konsantrasyon-yanıt eğrileri belir-

lenmiştir. L-NNA nitrogliserin gevşemelerini artırmıştır (Şekil 1-3). Ayrıca nitrogliserin duyarlılığı ve E_{maks} yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olmuştur ($p < 0,05$), (Tablo).



Şekil 2. 24 saatlik, 300 μM MG inkübasyonunun, 10^{-6} M noradrenalin ile önkastırmaya tabi tutulmuş endotelli kontrol ve L-NNA uygulanmış sıçan aortalarında kümülatif nitrogliserin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) gevşeme yanıtları üzerindeki etkileri ($n=5$) ($*p < 0,01$ ve $**p < 0,001$ vs Kontrol; $+p < 0,01$ ve $++p < 0,001$ vs 300 μM MG, Two way ANOVA, Bonferroni çoklu karşılaştırma testi)



Şekil 3. 24 saatlik, 500 μM MG inkübasyonunun, 10^{-6} M noradrenalin ile önkastırmaya tabi tutulmuş endotelli kontrol ve L-NNA uygulanmış sıçan aortalarında kümülatif nitrogliserin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) gevşeme yanıtları üzerindeki etkileri ($n=5$) ($*p < 0,01$ ve $**p < 0,001$ vs Kontrol; $+p < 0,01$ ve $++p < 0,001$ vs 500 μM MG, Two way ANOVA, Bonferroni çoklu karşılaştırma testi)

Tablo. Farklı konsantrasyonlarda MG inkübasyonunun noradrenalin ile önkastırmaya tabi tutulmuş aortik halkalarda kümülatif nitrogliserin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) E_{maks} yanıtları ve pD_2 değerleri üzerindeki etkileri (n=5)

	Endotelli	L-NNA
<i>Nitrogliserin, pD_2</i>		
Kontrol	7,13± 0,15	7,46 ± 0,05*
100 μ M MG	7,06±0,12	7,44 ± 0,10**
300 μ M MG	7±0,14	7,45±0,04+
500 μ M MG	7,24±0,09	7,68±0,08++
<i>Nitrogliserin, E_{maks} (%)</i>		
Kontrol	92,03 ± 3,65	113,97 ± 5,97*
100 μ M MG	84,26 ± 4,73	105,42 ± 4,82**
300 μ M MG	86,80 ± 4,44	105,49±3,84+
500 μ M MG	101,61± 4,91	118,3±6,87++

* $p < 0,05$ vs kontrol; ** $p < 0,05$ vs 100 μ M MG; + $p < 0,05$ vs 300 μ M MG; ++ $p < 0,05$ vs 500 μ M MG; Two way ANOVA, Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonrası grup içi karşılaştırmalarda eşleştirilmiş Student's t-test

TARTIŞMA

Bu çalışmada glukoz metaboliti MG'nin endotel-yumdan bağımsız damar düz kas gevşeme yanıtları üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. İleri düzey glikasyon son ürünlerinin prekürsörü olan MG'nin uzun süreli etkisini değerlendirmek için bu çalışmada organ kültürü tekniği kullanılmıştır. Özellikle çoklu doz uygulamalarında kimyasalların uzun dönem etkilerini araştırmak için in vivo modellere göre pek çok avantaja sahip olduğu için çalışmamızda organ kültürü modeli tercih edilmiştir. Sıçan aortik halkaları 100, 300 veya 500 μ M olmak üzere üç farklı MG dozu ile 24 saat inkübe edildikten sonra alınan nitrogliserin konsantrasyon-yanıt eğrileri, uzun süre MG uygulamasının damar düz kası gevşeme yanıtlarını değiştirmediğini göstermiştir. Ancak L-NNA varlığında gevşeme yanıtlarında artış gözlenmiştir.

Sıçan aortasında yapılan bir çalışmada 30 dakika MG inkübasyonunun çalışmamızın aksine damar düz kas gevşeme yanıtlarını artırdığı gösterilmiştir (8). Bu çalışmadan elde edilen veriler MG'nin gevşeme üzerindeki akut etkisi hakkında fikir vermektedir. Bizim çalışmamızda ise MG'nin görece uzun dönem etkisini değerlendirmek için organ kültürü tekniği kullanılmıştır. Özellikle hipertansiyon ve diyabetle ilişkili olan vasküler hastalıklar kronik ve progresif hastalıklar olduğu için MG'nin uzun dönem etkisini yansıtan çalışmalar bu patolojilerden sorumlu

olan mekanizmaların aydınlatılması açısından önemlidir.

Mezenterik arterlerde yapılan bazı çalışmaların bulguları ise çalışmamızın bulgularını desteklemektedir (9,10). Akut MG etkisinden farklı olarak, uzun süre MG ile inkübe edilen mezenterik arterlerde endotel-yumdan bağımsız gevşeme yanıtlarında herhangi bir değişim gözlenmemiştir (9). Nefropati, nöropati ve retinopati gibi mikrovasküler hastalıkların dışında diyabette makrovasküler komplikasyonlar da çok sık görülmektedir ve aorta gibi bizim de çalışmamızda kullandığımız büyük arterlerde yapılan araştırmalardan elde edilen veriler makrovasküler komplikasyonların patojenezine ışık tutacaktır (11).

Vasküler sistemde endotel-yumdan salıverilen bazal NO vasküler tonusun sürdürülmesini sağlar (12,13). İn vitro sistemlerde yapılan çalışmalar vasküler dokuyu mekanik olarak endotelsizleştirmenin veya farmakolojik yolla NO sentezi inhibe etmenin NO donörlerine verilen yanıtları değiştirdiğini göstermiştir. Vasküler dokunun endotelsizleştirilmesi, vasküler düz kasın vazodilatör ajanlara karşı verdiği gevşeme yanıtlarında ve duyarlılığında artışa neden olur (14,15). Çalışmamızın verileri de L-NNA varlığında nitrogliserin E_{maks} yanıtları ve duyarlılıkta artışa işaret etmektedir. Ancak farklı dozlarda 24 saat MG inkübasyonu L-NNA ile meydana gelen bu duyarlılık artışında herhangi bir değişiklik oluşturmamaktadır.

Kronik hiperglisemi intraselüler MG ve reaktif oksijen türlerinde artış oluştururken NO etkisinde azalma meydana getirir (16,17). Hiperglisemik ortamda MG'nin NO etkisinde meydana getirdiği azalma MG veya MG kaynaklı ürünlerin NO veya NO sentaz üzerindeki direkt etkisinden çok MG aracılı artan süperoksit düzeyleri ile açıklanmaktadır (18,19). Uzun dönem MG uygulaması sıçan mezenterik arterlerinde noradrenalin ve KCl ile indüklenen kasılma yanıtlarını inhibe etmiştir ve bu inhibisyonun endotelsiz arterlerde daha fazla olduğu görülmüştür. Kasılma yanıtlarında görülen inhibisyon antioksidan ajan N-asetilsistein (NAC) varlığında ortadan kalkmıştır. Bu da NAC'ın antioksidan etkisi veya MG'ye doğrudan bağlanması ile açıklanabilir (18,20).

Sonuç olarak, glukoz metaboliti ve ileri düzey glikasyon son ürünleri prekürsörü MG ile 24 saat inkübe edilen aortalarda, endotelyumdan bağımsız düz kas gevşeme yanıtlarında herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Buna aracılık eden mekanizmaların aydınlatılması için ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu (BAP-09ECZ028) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Bucala R, Tracey KJ, Cerami A. Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilatation in experimental diabetes. *J Clin Invest* 1991;87:432-438.
- Tan KC, Chow WS, Ai VH, Metz C, Bucala R, Lam KS. Advanced glycation end products and endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002;25:1055-1059.
- Chang T, Wu L. Methylglyoxal, oxidative stress, and hypertension. *Can J Physiol Pharmacol* 2006;84:1229-1238.
- Shinohara M, Thornalley PJ, Giardino I Et al. Overexpression of glyoxalase-I in bovine endothelial cells inhibits intracellular advanced glycation endproduct formation and prevents hyperglycemia-induced increases in macromolecular endocytosis. *J Clin Invest* 1998; 101: 1142-1147.
- McLellan AC, Thornalley PJ, Benn J, Sonksen PH. Glyoxalase system in clinical diabetes mellitus and correlation with diabetic complications. *Clin Sci (Lond)* 1994;87:21-29.
- Lapolla A, Flamini R, Dalla Vedova A Et al. Glyoxal and methylglyoxal levels in diabetic patients: quantitative determination by a new GC/MS method. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1166-1173.
- Mingone CJ, Ahmad M, Gupte SA, Chow JL, Wolin MS. Heme oxygenase-1 induction depletes heme and attenuates pulmonary artery relaxation and guanylate cyclase activation by nitric oxide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H1244-250.
- Mukohda M, Yamawaki H, Okada M, Hara Y. Methylglyoxal enhances sodium nitroprusside-induced relaxation in rat aorta. *J Pharmacol Sci* 2010;112:176-183.
- Mukohda M, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Exploring mechanisms of diabetes-related macrovascular complications: role of methylglyoxal, a metabolite of glucose on regulation of vascular contractility. *J Pharmacol Sci* 2012;118:303-310.
- Brouwers O, Niessen PM, Haenen G et al. Hyperglycaemia-induced impairment of endothelium-dependent vasorelaxation in rat mesenteric arteries is mediated by intracellular methylglyoxal levels in a pathway dependent on oxidative stress. *Diabetologia* 2010;53:989-1000.
- Schalkwijk CG, Stehouwer CD. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci (Lond)* 2005;109:143-159.
- Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989;2:997-1000.
- Moncada S, Higgs EA. Nitric oxide and the vascular endothelium. *Handb Exp Pharmacol* 2006;(176 Pt 1) :213-254.
- Brandes RP, Kim D, Schmitz-Winnenthal FH et al. Increased nitrovasodilator sensitivity in endothelial nitric oxide synthase knockout mice: role of solubleguanylyl cyclase. *Hypertension* 2000;35:231-236.
- Moncada S, Rees DD, Schulz R, Palmer RM. Development and mechanism of a specific supersensitivity to nitrovasodilators after inhibition of vascular nitric oxide synthesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:2166-2170.

16. Thornalley PJ, Battah S, Ahmed N et al. Quantitative screening of advanced glycation endproducts in cellular and extracellular proteins by tandem mass spectrometry. *Biochem J* 2003;375:581-592.
17. Su J, Lucchesi PA, Gonzalez-Villalobos RA et al. Role of advanced glycation end products with oxidative stress in resistance artery dysfunction in type 2 diabetic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1432-1438.
18. Mukohda M, Morita T, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Long-term methylglyoxal treatment impairs smooth muscle contractility in organ-cultured rat mesenteric artery. *Pharmacol Res* 2012;65:91-99.
19. Miyazawa N, Abe M, Souma T et al. Methylglyoxal augments intracellular oxidative stress in human aortic endothelial cells. *Free Radic Res* 2010;44:101-107.
20. Mukohda M, Yamawaki H, Nomura H, Okada M, Hara Y. Methylglyoxal inhibits smooth muscle contraction in isolated blood vessels. *J Pharmacol Sci* 2009;109:305-310.