

Ovariectomize Sıçanlarda Liraglutid'in Kalp Fonksiyonları Üzerine Etkisi

İnci TURAN¹ , Candan SAĞLAM² , Salih ERDEM² , Hale SAYAN ÖZAÇMAK¹  

¹Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

²Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

Bu makaleye yapılacak atf: Turan İ ve ark. Ovariectomize sıçanlarda liraglutid'in kalp fonksiyonları üzerine etkisi. Turk J Diab Obes 2022;1: 1-9.

ÖZ

Amaç: Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1), enteroendokrin L hücrelerinden salgılanan önemli bir inkretin hormondur. GLP-1 analogları, diyabet ve obezite tedavisi için kullanılmaktadır. Ovarian hormonların kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde etkili rol oynadığı iyi bilinmektedir. Postmenopozal kadınlarda kardiyovasküler hastalık insidansı artar. Bu çalışmanın amacı, yumurtalıkları alınmış sıçanlarda GLP-1 analogu olan liraglutid uygulanmasının kardiyak fonksiyonlar ve kalp dokusu oksidatif stres üzerindeki etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada otuz iki genç dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Denekler rastgele kontrol, liraglutid ile tedavi edilen kontrol, yumurtalıkları alınan (OVX) ve liraglutid ile tedavi edilen OVX gruplarına ayrıldı. İki aylık dişi sıçanlarda ovariectomi ve sahte cerrahi işlemler uygulandı. Ovariectomi operasyonundan beş hafta sonra liraglutid tedavisi (150µg/kg, deri altı, 14 gün) başlandı. 14 günlük süre sonunda kalp atım hızı ve kan basıncı ölçümleri yapıldıktan sonra hayvanlar sakrifiye edildi, kahverengi ve beyaz yağ dokusu ağırlıkları ile kalp dokusu malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH), nitrat, glikojen ve askorbik asit seviyeleri ölçüldü.

Bulgular: Kalp hızı açısından tüm gruplar arasında fark bulunmazken, liraglutid uygulanan gruplarda kan basıncı istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldı. MDA ve askorbik asit seviyeleri tüm gruplar arasında önemli bir değişim gözlenmedi. GSH seviyeleri liraglutid ile tedavi edilen OVX grubunda arttı. Ovariectomi ile kalp dokusunda nitrat düzeylerinin azaldığı saptandı. Kardiyak glikojen düzeyi OVX ve liraglutid uygulanan OVX grubunda kontrol grubuna göre artmış olarak bulunmuştur. Liraglutid tedavisi kalpteki nitrat miktarını kontrol seviyelerinde korudu. Ek olarak, liraglutid uygulaması OVX sıçanlarında retroperitoneal yağ birikimini azalttı.

Sonuç: Sonuçlarımız GLP-1 uygulamasının ovariectominin neden olduğu kan basıncı artışı ve kalp dokusunda azalan GSH seviyelerini korumada etkili olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, GLP-1 analogları, postmenopozal dönemde kan basıncının düzenlenmesinde potansiyel terapötik ajan olarak kabul edilebilir.

Anahtar Sözcükler: GLP-1, Ovariectomi, Oksidatif stres, Kalp

The Effect of Liraglutide on Cardiac Functions in Ovariectomized Rats

ABSTRACT

Aim: Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) is an important incretin hormone secreted from enteroendocrine L cells. GLP-1 analogs are used for the treatment of diabetes and obesity. Ovarian hormones are well known in playing critical roles in regulating cardiovascular functions. Cardiovascular disease incidence increases in postmenopausal women. The aim of this study was to investigate the effect of administration of liraglutide, a GLP-1 analogue, on cardiac function and cardiac tissue oxidative stress in ovariectomized rats.

Material and Methods: Thirty two young female Wistar albino rats were used in the study. Subjects were randomly divided into control, liraglutide-treated control, ovariectomized (OVX), and liraglutide-treated OVX groups. Ovariectomy and sham surgical procedures were performed in 2-month-old female rats. Liraglutide treatment (150µg/kg, subcutaneous, 14 days) was started five weeks after the ovariectomy operation. After measuring the heart rate and blood pressure at the end of the 14-day period, the animals were sacrificed, brown and white adipose tissue weights, and heart tissue malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), nitrate, glycogen and ascorbic acid levels were measured.

ORCID: İnci Turan / 0000-0003-2211-3914, Candan Sağlam / 0000-0001-5451-4187, Salih Erdem / 0000-0003-3277-0539, Hale Sayan Özaçmak / 0000-0002-3564-0468

Yazışma Adresi / Correspondence Address:

Hale SAYAN ÖZAÇMAK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye
Tel: 0 (372) 261 32 13 • E-posta: hsayan@yahoo.com

DOI: 10.25048/tudod.1074076

Geliş tarihi / Received : 15.02.2022

Revizyon tarihi / Revision : 12.04.2022

Kabul tarihi / Accepted : 13.04.2022



Results: While there was no difference between all groups in terms of heart rate, blood pressure was statistically significantly decreased in the liraglutide-administered groups. MDA and ascorbic acid levels did not change significantly between all groups. GSH levels were increased in the liraglutide-treated OVX group. It was found that the cardiac glycogen level was increased in the OVX group treated with OVX and liraglutide compared to the control group. Nitral levels in the heart tissue were found to be decreased with ovariectomy. Liraglutide treatment maintained nitrate levels in the heart at control levels. In addition, liraglutide administration reduced retroperitoneal fat deposition in OVX rats.

Conclusion: Our results showed that GLP-1 administration was effective in reducing the increased blood pressure due to ovariectomy and maintaining the decreased GSH level in the heart tissue.. Therefore, GLP-1 analogs can be considered as potential therapeutic agents in the regulation of blood pressure in the postmenopausal period.

Keywords: GLP-1, Ovariectomy, Oxidative stress, Heart

GİRİŞ

Menopoz, ovaryumlardaki foliküllerin tükenmesi ve buna bağlı östrojen seviyesindeki düşüş ile ilişkili doğal bir süreçtir. Östrojen seviyesindeki bu ilerleyici düşüş, lipid metabolizmasında, vücut ağırlığı ve yağ birikimi artışı gibi sistemik değişikliklere yol açarak postmenopozal kadınlarda kardiyometabolik hastalık geliştirme riskini artırır (1). Östrojen azalması ile birlikte oksidan/antioksidan sistemin dengesinin bozulması postmenopozal kardiyovasküler hastalık riskinin artmasına katkıda bulunabilmektedir. Premenopozal kadınlarda cerrahi olarak bilateral oofektomi ile indüklenen menopoz, doğal menopoz yaşayan kadınlarla karşılaştırıldığında östrojen seviyelerinde ciddi bir düşüşe yol açarak koroner kalp hastalığı riskini iki kat artırır. Hormon replasman tedavisi (HRT)nin, premenopozal dönemde başlandığında kadınları kardiyovasküler hastalıklardan koruduğu ve kalp hastalığı olan postmenopozal kadınlarda da mortaliteyi azaltabildiği bildirilmektedir (2). Ateroskleroz ve koroner arter hastalığı, postmenopozal kadında en sık gözlenen kardiyovasküler hastalıklardır. Bu patolojilerin gelişimi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu artıran oksidatif stres ve inflamasyon ile doğrudan ilişkili olarak görülmektedir (3). Östrojenin kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu rolünün antioksidan etkisiyle ilişkili olabileceği bildirilmektedir. İn vitro çalışmalar, östrojenin molekül yapısındaki fenolik halka nedeniyle doğrudan bir ROS temizleyicisi olarak hareket ettiğini göstermektedir (4). İn vivo olarak östrojenin antioksidan enzimlerin yapımını artırdığı (5), ve bu nedenle, menopoz nedeniyle östrojen seviyesinin azalmasının antioksidan savunmanın bozulmasına ve menopozla ilişkili hastalıkların gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmektedir. Ancak HRT, yüksek tromboembolizm ve meme kanseri riski taşıyan kadınlar için güvenli bir seçenek olarak görünmemektedir (2).

Östrojen kardiyovasküler sistem için önemli bir hormondur. Östrojenin nitrik oksit (NO) biyoyararlanımını artırdığı bilinmektedir. Menopoz öncesi kadınlar benzer yaştaki erkeklere kıyasla daha fazla endotel bağımlı vazodilatasyona

sahiptir, ancak bu fark menopozdan sonra ortadan kalkmaktadır (6). Östrojen süperoksit radikal üretimini azaltırken endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesini artırır (7). Menopozdan hemen sonra, ejeksiyon fraksiyonunda azalma ile birlikte kardiyak sol ventrikül hipertrofisi tespit edilmiştir. Yumurtalıkları alınmış hayvan modellerinde, kalp kasılma mekanizmasının moleküler ve hücresele fonksiyonlarında çeşitli değişiklikler gözlenmiştir (8).

İnsülin direnci ve östrojenin eksikliği, kalp hipertrofisi ve dolayısıyla kalp yetmezliği için bağımsız risk faktörleri olarak belirlenmiştir (9). Östrojenlerin insanlarda ve deneysel hayvan modellerinde sol ventrikül hipertrofisini önledikleri için, miyokard dokusu gonadal hormonlarının etki alanı olarak kabul edilmektedir. Menopoz sonrası aşırı basınç ile oluşturulan kardiyak hipertrofi sıçan modelinde, eNOS ve NO yolu aktivitesinin azalarak kardiyak dekompanzasyona katkıda bulunduğu bildirilmektedir (10). Bu nedenle endotelial disfonksiyonu hedefleyen ve NO yapımını artıran tedaviler, çok sayıda kardiyometabolik bozukluğun önlenmesinde etkili olabileme potansiyeline sahip olarak görülmektedir.

Memelilerin bağırsaklarındaki L hücrelerinden salgılanan bir bağırsak inkretin hormonu olan glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1), biyolojik etkilerini öncelikle GLP-1 reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla gösterir. Bir GLP-1 reseptör agonisti olan liraglutid, doğal GLP-1'e %97 benzerlik göstermektedir (11). GLP-1 reseptörlerinin aktivasyonunun, nöroinflamasyon, oksidatif stres, nörotoksisite, hafıza bozukluğu ve nöbet aktivitesinde koruyucu bir rol oynadığı gösterilmiştir (12). GLP-1 reseptör agonistleri diyabetli hastaların tedavisinde kullanılmak üzere 2010 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan bir antidiyabetik ilaç sınıfındadır (13). GLP-1'in uzun etkili sentetik bir analogu olan liraglutid, dünyada tip 2 diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (14). GLP-1 etkisini pankreas β hücrelerinde reseptörlerine bağlanarak glikoz bağımlı insülin salınımını uyararak gösterir. Ayrıca mide boşalmasını geciktirme, iştahı baskılama, bağırsakta

besin emilimini azaltma, lipid metabolizmasını iyileştirme ve pankreatik β -hücre apoptozunun inhibisyonu gibi etkiler sağlayabilmektedir (13). GLP-1'in bu etkilerinin yanısıra dokuları iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruduğu da gösterilmiştir (15). Akut miyokard enfarktüsülü hastalarda liraglutidin endotel fonksiyonunu iyileştirerek kalp fonksiyonunu koruduğu gösterilmiştir (16). Son zamanlarda, GLP-1'in sentetik analogu olan Exendin-4, hem hayvanlarda hem de insanlarda kalp yetmezliği, diyabetik kardiyomiyopati, miyokardiyal iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkiler göstermesi nedeniyle kullanılmıştır. Bu koruyucu etkinin altında ROS oluşumunun ve miyokardiyal hücre apoptozunun engellenmesi yer almaktadır (17).

Cerrahi olarak menopoz oluşturulan sıçanlarda ve menopoz sonrası kadınlarda östrojen replasman tedavisi, ağırlık ve yağlanmadaki artış ile karakterize metabolik değişiklikleri tersine çevirebilmektedir (18,19). Bununla birlikte, postmenopozal kadınlarda östrojen replasman tedavisi, bazı kanser türlerinin riskinin artmasıyla ilişkilidir (19,20). Bu nedenle menopoz sonrası gelişen metabolik değişiklikleri tedavi etmek için yeni alternatif tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır (19,21). Menopoz döneminin kardiyovasküler hastalıkların gelişim riskini artırmasından dolayı, bu çalışmada cerrahi olarak menopoz oluşturulmuş yetişkin dişi sıçanlarda GLP-1 reseptör agonisti olan liraglutid uygulamasının kardiyak oksidatif stres, kalp hızı ve kan basıncı üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca NO metaboliti olan nitrat ve kardiyak glikojen düzeyleri değerlendirilerek ovariektomi ile ortaya çıkan değişikliklerdeki liraglutidin etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Deney Hayvanları

Çalışmada iki aylık dişi Wistar albino cinsi sıçanlar kullanıldı. Aydınlik-karanlık 12:12 saat döngüsünde, sabit sıcaklık ve nem kontrollü bir odada her kafeste 5-6 hayvan olacak şekilde barındırıldılar. Tüm sıçanlara, ad libitum olarak yiyecek ve suya serbest erişim sağlandı. Tüm deneysel işlemler Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (etik onay numarası: 2021-09-03/06).

Ovariektomi İşlemi

Endojen yumurtalık hormonu salgısını ortadan kaldırmak için ketamin (90 mg/kg, i.p.) ve ksilazin (10 mg/kg, i.p.) karışımı ile oluşturulan anestezi ile bilateral ovariektomi işlemi yapılmıştır. Ovariektomi, liraglutid uygulamasından beş hafta önce yapılmıştır. Hayvanlar üzerindeki tüm cerrahi işlemler aseptik koşullarda gerçekleştirilmiştir. Ova-

riektomi dorsal insizyon ile yapılarak her iki over dokusu çıkarılmış ve cilt cerrahi ipek iplik ile kapatılmıştır. Kontrol grubundaki hayvanların dorsal bölgede sadece cilt insizyonu açılarak ovariektomi işlemi yapılmadan sahte ameliyat uygulanmıştır. Ayrıca ameliyat sonrası hayvanlarda analjezi sağlamak amacıyla devaljin (0,1 mg/kg) intramüsküler olarak uygulanmıştır.

Deney Grupları

Toplam 32 hayvandan oluşan dört grup oluşturuldu:

1. Kontrol grubu, günlük serum fizyolojik verilen sahte operasyon grubu(n:8).
2. Kontrol+liraglutid (LİR) ile tedavi edilen grup (n:8),
- 3.OVX grubu (günlük serum fizyolojik uygulaması yapıldı) (n:8),
- 4.OVX+liraglutid uygulanan grup (n:8).

Liraglutid Uygulaması

Liraglutid (Victoza, Nova Nordisk) subkutan olarak 150 μ g/kg dozunda 14 gün süresince uygulanmıştır.

Liraglutid tedavisinin son günü deneklerin kalp hızı ve kan basıncı karotid artere kateter yerleştirilerek Biopac MP 30 sistemi (BIOPAC Systems Inc., CA, USA) ile ölçüldü. Ölçümlerden sonra hayvanlar yüksek doz anestezi (Tiopental 200 mg/kg) ile feda edildiler. Kalp dokuları izole edilerek biyokimyasal çalışmalar yapılana kadar -80 °C derin dondurucuda saklandı.

Biyokimyasal Ölçümler

Kalp dokusunda oksidatif stresi değerlendirmek için malondialdehit (MDA) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) içeriği ölçüldü. MDA, spektrofotometrik yöntemle analiz edildi (22). Doku örnekleri %10 trikloroasetik asit ile homojenize edildi. Süpernatantlar tiyobarbitürik asit ile kaynatıldı ve spektrofotometrede (UVmini-1240 spektrofotometre, Shimadzu Co., Kyoto, Japonya) 535 nm'de absorbans ölçüldü. Sonuçlar nmol/g doku olarak belirlendi.

Doku örneklerinin GSH içeriği spektrofotometrik bir yöntem kullanılarak belirlendi (23). MDA ölçümünde hazırlanan aynı homojenat kullanılarak ölçüm yapıldı. 5,5-ditio-bis-[2-nitrobenzoik asit] (DTNB) solüsyonu eklendikten sonra absorbans 412 nm'de ölçüldü.

Kalp dokusu nitrat düzeyi ölçümü Griess yöntemi kullanılarak çalışıldı (24). Fosfat tamponu (pH 7,4) ile homojenize edilen doku örnekleri NaOH ve ZnSO₄ ile inkübasyon sonrasında santrifüj edilerek süpernatant ayrıldı. Nitrat miktarını ölçmek için 1 birim süpernatant, 1 birim VaCl₂, 0,5 birim Süfanilamid, 0,5 birim N-1-naftildiamin dihid-

roklorür (NEDD) (Griees reaktifi= 0,5 birim SA+ 0,5 birim NEDD) karışımı hazırlanarak 37 °C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı. Ardından 540 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümü yapıldı.

Kalp dokusu askorbik asit konsantrasyonu, spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür (25). Kalp dokusu 0,35 M perklorik asit ile homojenize edildikten sonra santrifüj edildi. Hem standart hem de süpernatant toplam 50 µl renk reaktifi (bakır sülfat, tiyoüre ve 2,4-dinitrofenilhidrazin) ilave edilerek 515 nm'de spektrofotometrede ölçülerek standartlara göre doku askorbik asit düzeyi mg/g doku olarak belirlendi.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar IBM SPSS Versiyon 19 paket program yardımıyla analiz edildi. Verilerin normal dağılımı uygunluğu Kolmogorow-Smirnov testi kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası farklılıklar ANOVA testi ile belirlendikten sonra grup içi farklılıklar Tukey testi ile değerlendirildi. P değerinin 0,05'ten küçük olması durumu istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama ve standart hata olarak verilmiştir (ortalama+SE).

BULGULAR

Kalp Hızı ve Kan Basıncı Ölçümleri

Deney gruplarına ait kalp hızı ve kan basıncı değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Kalp hızı açısından gruplar arasında

anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. Sistolik kan basıncı değeri liraglutid uygulanan gruplarda kontrol ve OVX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır (p=0.001). Diyastolik kan basıncı değerlerinde ise OVX+liraglutid grubu OVX grubuna göre anlamlı azaldı (p=0.003). LİR grubunda hem OVX hem de kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır (p=0.045). Ortalama arteryel basınç değerleri incelendiğinde, liraglutid uygulamasının hem OVX hem de OVX+liraglutid grubuna göre anlamlı olacak şekilde azalmaya neden olduğu gözlenmiştir (p=0.001). Liraglutid uygulanan kontrol grubunda ortalama arteryel basıncın kontrol grubuna göre düştüğü gözlendi (p=0.002) (Tablo 1).

Kalp MDA, GSH, Askorbik Asit, Glikojen ve Nitrat Düzeyleri

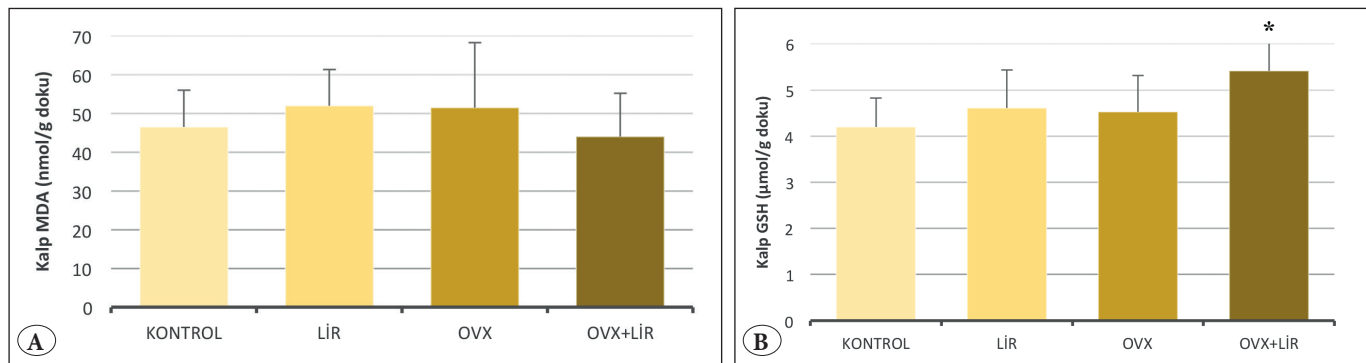
Gruplara ait MDA düzeyleri Şekil 1A'de gösterilmiştir. MDA düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir değişiklik saptanamamıştır. Şekil 1B'de görüldüğü gibi kalp dokusu GSH düzeyleri liraglutid uygulanan OVX grubunda OVX grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (p=0,004).

Ovariektomi veya liraglutid uygulaması askorbik asit düzeylerinde anlamlı bir değişime neden olmamıştır (Şekil.2A). Kardiyak glikojen düzeyi OVX grubunda kontrol grubuna göre artırmıştır (p=0,014). Liraglutid ile tedavi edilen OVX grubunda da benzer şekilde kontrol ve LİR grubuna göre

Tablo 1: Deney gruplarına ait kalp hızı (atım/dakika) ve kan basıncı (mmHg) değişimleri.

	Kontrol	LİR	OVX	OVX+LİR	p
Kalp Hızı	261.94±11.39	257.83±24.97	241.81±27.21	253.03±41.43	0.653
Diyastolik Basıncı	91.08±13.44	68.71±10.02 * ^{&}	96.07±15.26	77.31±11.16 ^{&}	0.003
Sistolik Basıncı	122.67±15.65	85.32±12.76 * ^{&}	122.16±9.45	100.12±14.8 * ^{&}	0.001
Ortalama Arteryel Kan Basıncı	106.09±14.21	76.66±10.57 * ^{&}	108.54±13.52	88.92±12.31 ^{&}	0.001

* Kontrol grubuna, & OVX grubuna göre p<0,05, değerler ortalama+SE olarak verilmiştir



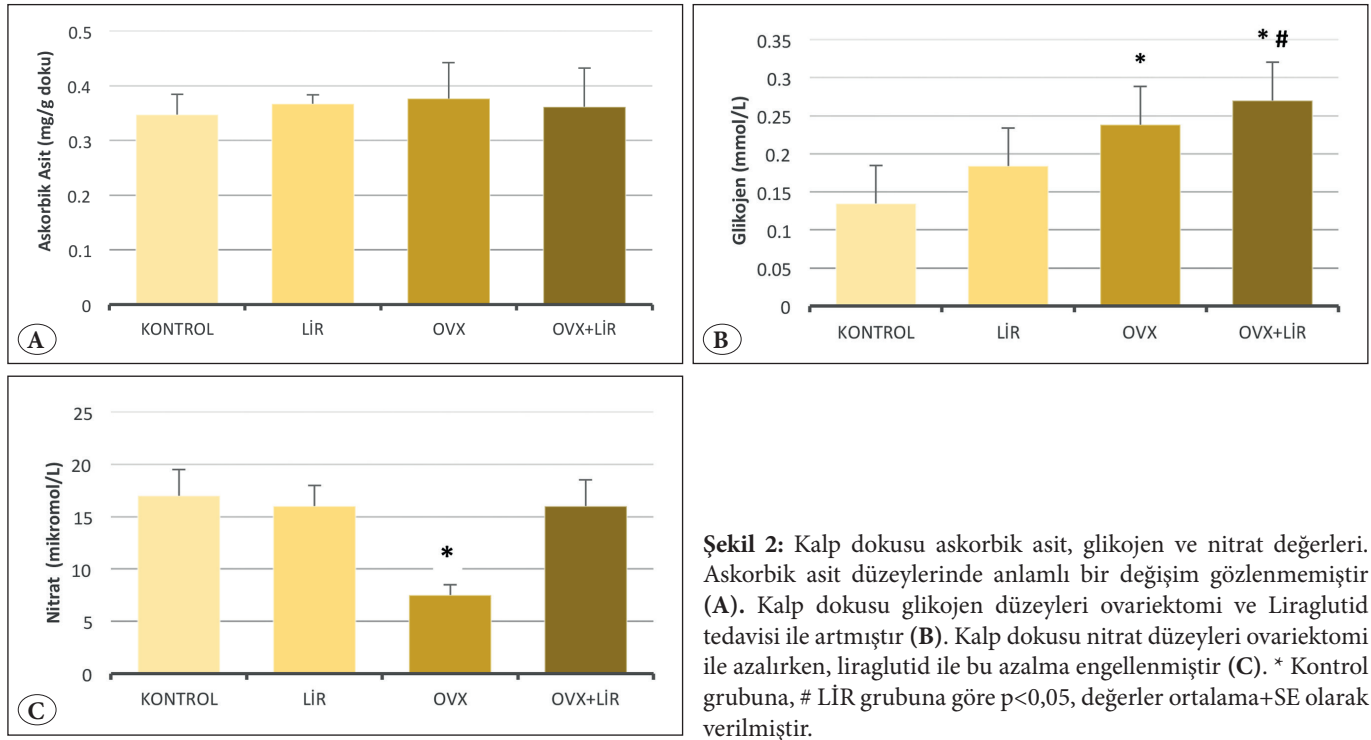
Şekil 1: Kalp dokusu MDA ve GSH değerleri. Kalp dokusu MDA düzeyleri gruplar arasında farklı bulunmamıştır (A). GSH değeri ise liraglutid uygulanan OVX grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (B). * Kontrol grubuna göre p<0,05, değerler ortalama+SE olarak verilmiştir.

anlamli artmiş olarak bulunmuştur ($p=0,001$ ve $p=0,028$) (Şekil 2B). Kalp dokusu nitrat düzeyleri ovariektomi ile azalmiş olarak saptanmıştır. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında OVX grubu kalp dokusu nitrat düzeyleri kontrol, LİR ve OVX+liraglutid gruplarına göre anlamli olarak azalmiş olarak tespit edilmiştir ($p=0,005$) (Şekil 2C).

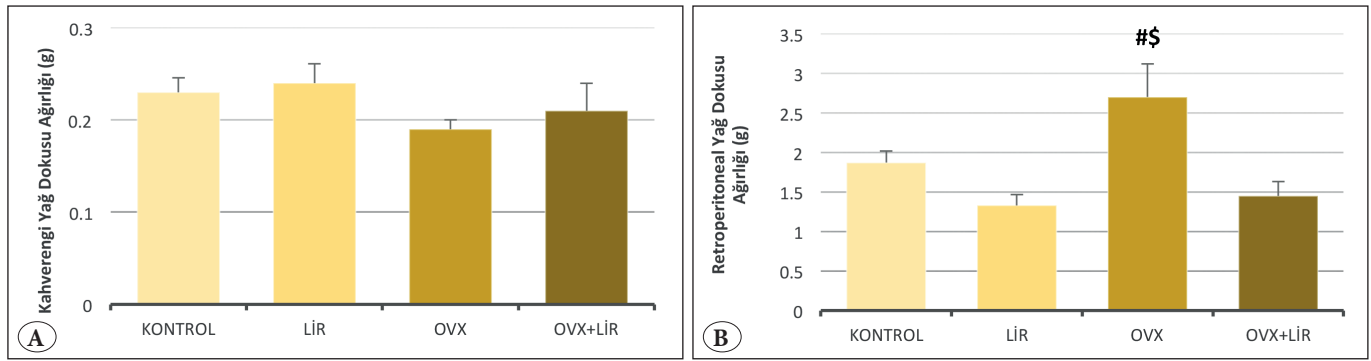
Kahverengi yağ dokusu ağırlıkları Şekil 4A'da gösterilmektedir. Gruplar arasında anlamli farklılık bulunamamıştır. Ancak retroperitoneal yağ dokusu ağırlığı ovariektomi ile artmıştır ve OVX grubunda LİR ve OVX+liraglutid grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli bir artış saptanmıştır ($p=0,002$, $p=0,006$) (Şekil 3B).

TARTIŞMA

Çalışmamızda ovariektominin kalp dokusunda nitrat düzeylerinde azalmaya ve glikojen düzeylerinde artışa neden olduğu gözlemlendi. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeyleri yedi haftalık ovariektomi sonrasında kalp dokusunda değişmemiştir. İnsülin salınımını artırıcı etkisiyle tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan GLP-1 analogu liraglutid deneysel menopoz modelinde kalp dokusunda GSH düzeylerini ve glikojen düzeylerini artırmıştır. Ayrıca hemodinamik parametreler açısından liraglutidin sistolik, diyastolik ve ortalama arteryel basınçta düşürücü bir etki ortaya çıkardığı gözlemlendi. Kalp dokusunda NO metaboliti olan nitrat düzeyleri ovariektomi ile belirgin aza-



Şekil 2: Kalp dokusu askorbik asit, glikojen ve nitrat değerleri. Askorbik asit düzeylerinde anlamli bir değişim gözlenmemiştir (A). Kalp dokusu glikojen düzeyleri ovariektomi ve Liraglutid tedavisi ile artmıştır (B). Kalp dokusu nitrat düzeyleri ovariektomi ile azalırken, liraglutid ile bu azalmaya engellenmiştir (C). * Kontrol grubuna, # LİR grubuna göre $p<0,05$, değerler ortalama+SE olarak verilmiştir.



Şekil 3: Gruplara ait kahverengi ve retroperitoneal yağ dokusu ağırlığı. Kahverengi yağ dokusu ağırlığı açısından gruplar arasında anlamli değişim bulunmamıştır (A). Retroperitoneal yağ dokusu ovariektomi ile artarken, liraglutid tedavisi ile azaltılabildiği (B). # LİR grubuna, \$ OVX+LİR grubuna göre $p<0,05$, değerler ortalama+SE olarak verilmiştir.

larken, liraglutid tedavisi ile bu azalma engellenebilmiştir. Bu sonuçlarla liraglutidin kalpte nitrik oksit miktarını artırarak hemodinamik parametreler üzerinde etki gösterdiğini önermekteyiz. Ayrıca liraglutid, kalp dokusu hücre içi en önemli antioksidan olan GSH yapımını artırarak ovariektominin neden olduğu oksidatif stres artışına karşı koruyucu etkinlik gösterebilmiştir.

Menopoz döneminde endojen östrojen seviyelerinde hızlı bir düşüş ve androjen seviyelerinde bir yükselme sonrasında visceral yağlanma indeksinde artış meydana gelir (21). Bu "hormonal değişim", kardiyovasküler hastalıkların riskinin artmasına katkıda bulunan insülin direnci ve endotelial disfonksiyon gelişiminde çok önemli bir rol oynar. Östrojenin koruyucu etkisi dikkate alındığında, fiziksel aktivite ve azaltılmış kalori alımına dayalı klasik bir önleyici stratejiye ek olarak hormon tedavisi bu riski sınırlamanın tek etkili yolu olmaya devam etmektedir. Östrojenler, eNOS yoluyla güçlü bir vazodilatör olan NO üretimini ve biyoyararlanımını artırarak hem vasküler düz kas hücreleri hem de endotelial hücreler üzerinde etki eder. Endotel disfonksiyonu, NO üretimini veya biyolojik aktivitesinin kaybindan kaynaklanabilecek azalmış NO miktarı ile ilişkilidir (26). Vazodilatasyon etkisinin yanı sıra NO, hücre sinyalizasyonu, anjiyogenez, trombosit agregasyonunun önlenmesi ve inflammatuar süreçlerin baskılanmasında rol oynar. Bu etkilerinden dolayı NO kardiyoprotektif olarak kabul edilmektedir. İnsan damar duvarlarında östrojen, endotel hücrelerindeki östrojen reseptörlerine bağlanarak eNOS'u aktive eder. Sonuç olarak, östrojen NO salınımını artırır, dolayısıyla endotelial korumayı destekler (27) ve beklendiği gibi ovariektomi yapılmış sıçanlarda endotel disfonksiyonu meydana geldiği gösterilmiştir (28). Östrojen ve NO arasındaki bilinen ilişki nedeniyle çalışmamızda ölçtüğümüz kalp nitrat düzeyleri ovariektomi uygulanan grupta anlamlı olarak azaldı. Liraglutid tedavisinin kalp dokusu nitrat düzeylerini kontrol grubu seviyesinde koruduğu saptandı. GLP-1'in, fare koroner damarlarında NO miktarlarını artırdığı ve bunu da eNOS'u aktive ederek gösterdiği saptanmıştır (29). GLP-1 analoglarının kapiller dolaşım üzerinde doğrudan vazodilatör bir etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (30). Diğer bir GLP-1 analogu olan exenatid-4 uygulamasının cAMP/AMPK-eNOS sinyal yoluyla aortada bozulmuş endotel bağımlı vazodilatasyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (31). Son çalışmalar, GLP-1'in miyokard enfarktüsünden etkilenen alanı azaltabildiğini, iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası kardiyomyosit canlılığını artırabildiğini ve oksidatif stresi azaltabildiğini (32,33) göstermiştir. Liraglutidin kardiy koruyucu etkilerinin içinde endoplazmik retikulum stresi ile tetiklenen apoptozun engellenmesi de yer almaktadır (34). DeNicola ve ark., GLP-1 reseptörlerinin aktive edilmesinin, laktat dehidrojenazdaki azalma, hücre sağ kalı-

mındaki artış, ROS üretimini azaltılması, mitokondrinin korunması, mitokondriyal solunum kapasitesindeki artış ile gösterildiği gibi oksidan strese karşı dikkate değer bir koruyucu etki gösterdiğini ve apoptozun inhibe olduğunu bildirmişlerdir (32). Simanenkova ve ark. diyabetik sıçanlarda kardiyak koruyucu etkinlikleri açısından liraglutid ve metformini karşılaştırdıkları çalışmalarında liraglutidin hemodinamik performansın korunması ve infarkt alanının sınırlandırılmasını sağlarken, metforminin sadece infarkt alanını sınırlandırdığını saptamışlardır (35). Çalışmamızda da NO metaboliti olan nitrat düzeylerinin liraglutid uygulanan hayvan kalplerinde artması, liraglutidin kardiyovasküler koruyucu etkisinde NO yolunun etkili olduğunu düşündürmektedir.

GLP-1 veya GLP-1 reseptör agonistlerinin, kan basıncını düşürme, vasküler endotel hücrelerini koruma ve kalp fonksiyonunu iyileştirme gibi kardiyovasküler sistem üzerinde potansiyel koruyucu etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (36). Çalışmamızda ovariektomi uygulanan sıçanlarda sistolik ve diyastolik kan basıncının arttığı gözlenirken, liraglutide tedavisinin kan basıncını düşürmede etkili olduğu saptandı. Ancak kalp hızı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Liraglutide, tip 2 diyabetli hastaların tedavisi için kullanılan GLP-1 reseptör agonistidir (15). GLP-1 reseptör agonistleri dilate kardiyomyopati, arteriyovenöz yetmezlik (37), miyokard enfarktüsü (38) ve global inmenin (39) deneysel modellerinde koruyucu etkiler gösterir. GLP-1 agonist tedavisinin oksidatif stres ve apoptoz ile ilişkili protein ekspresyonunu etkileyen sinyal yolları üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir (40). Özellikle miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarında oksidatif stresi azaltarak koruyucu etkili olduğu saptanmıştır (41). Ayrıca diyabetik farelerde kalp rüptürü ve enfarktüs boyutunu azalttığı ve kalp debisini iyileştirdiği bildirilmektedir (42). GLP-1 spesifik reseptörlerinin tespit edildiği endotel üzerinde vazodilatasyon ve endotel fonksiyonlarını iyileştirerek kardiyovasküler sistemi etkilemektedir (29). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz hemodinamik sonuçlardan farklı olarak Nakatani ve ark. GLP-1 reseptör agonistlerinin tip 2 diyabet hastalarında sempatik aktiviteyi artırarak kalp hızı ve kan basıncını artırabileceğini öne sürmektedirler (43). Son kardiyovasküler deneme sonuçlarından elde edilen kümülatif kanıtlar, GLP-1R aktivasyonunun etkilerinin kan basıncı ve kardiyovasküler hastalıklar üzerinde faydalı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (13).

Menopoz dönemi kadınlarda gonadal steroid hormonlarının tükenmesi oksidan/antioksidan sistemin dengesizliğine neden olur. Menopozla ilişkili kardiyovasküler hastalıkların genellikle östrojenin antioksidan fonksiyonunun eksikliği ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir. Oksidatif stres, ate-

roskleroz, endotel disfonksiyonu, iskemik kalp hastalığı, hipertansiyon ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisi ile doğrudan ilişkilidir (2). Östrojen eksikliğinin premenopozal ve menopoz dönemindeki kadınlarda lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan plazma MDA düzeyinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (44). Machi ve ark., hem genç (3 ay) hem de yaşlı (22 ay) sıçanlarda ovariektomiden 10 hafta sonra kalp dokusunda MDA düzeylerinin arttığını göstermiştir. Kalp dokusunda hem yaşlı hem de genç hayvanlarda artan oksidatif stresin östrojenlerin antioksidan özellikleri ve antioksidan enzimler üzerindeki düzenleyici etkileri ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (45). Bizim çalışmamızda ise ovariektomiden yedi hafta sonra kalp dokusu MDA düzeylerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Lipid peroksidasyonunda değişimin gözlenmemesinin ovariektominin süresine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Benzer şekilde kalp dokusu aksorbik asit ve GSH düzeylerinde de ovariektomi ile önemli değişim saptanmamıştır. Ancak liraglutid uygulanan OVX hayvanlarda GSH düzeyleri artmış olarak saptanmıştır. GSH, hücre içinde en fazla bulunan antioksidandır, serbest radikalleri doğrudan temizleyebilir ve redoks sinyalizasyon yollarını kontrol eder (2). GLP-1'in antioksidan etkileri önceki çalışmalarda bildirilmiştir (46). Liraglutidin antioksidan etkilerinin içinde doku GSH miktarını artırması ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (47).

Ovariektomi retroperitoneal yağ dokusunda anlamlı artışa neden olurken liraglutid tedavisi ile bu artış azaltılmıştır. Bu sonuçlar Model ve ark.'nın sonuçlarına benzerdir. Bu araştırmacılar da kahverengi yağ, perigonadal ve perirenal yağ dokusunda OVX ile bir değişiklik saptamazlarken, retroperitoneal yağ dokusu artışını saptamışlar ve bunun da liraglutid tedavisi ile azaldığını gözlemişlerdir (21). İnsülin direnci ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimini tetikleyen yağ dokusu artışının liraglutid tedavisi ile engellenmesi ovariektomi ile ortaya çıkan riskin azaltılmasında etkili olabilen diğer bir mekanizma olarak görülebilir. GLP-1 reseptör agonistleri klinikte kilo kontrolü amacıyla tip 2 diyabet hastalarında kullanılmaktadır (48).

Bildiğimiz kadarıyla, ovariektomi sonrası kalp glikojen düzeylerini açıklayan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda, ovariektomi ve liraglutid uygulanan gruplarda kalp glikojen düzeyleri belirgin olarak arttı. Model ve ark. çalışmalarında ovariektomiden sonra kalp glikojen seviyesinin arttığını ve liraglutid ile glikojenin normale döndüğünü bildirmekteyler (20). Ancak çalışmamızda liraglutid kardiyak glikojen miktarını azaltmada etkili olmamıştır. Liraglutid bu çalışmada 60 gün uygulanmıştır. Biz çalışmamızda 15 gün liraglutid uygulaması gerçekleştirdik. Glikojen içeriğinin liraglutid ile değişmemesinin kullanım

süresine bağlı gerçekleşmiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, çalışmamızda cerrahi menopoz modelinde liraglutidin koruyucu etkilerinin kan basıncının ve yağ dokusunun azaltılması, kardiyak NO yapımı ve GSH miktarının artırılması ile ilişkili saptanmıştır. Menopoz sonrası insidansı artan kardiyovasküler hastalıkların engellenmesi ve tedavisinde GLP-1 reseptör agonistleri yeni bir potansiyel terapötik strateji olarak değerlendirilmelidir.

Teşekkür

Yok.

Yazarların Katkıları

HS çalışmanın planlanması ve yürütülmesi, veri analizi ve makalenin yazımı, İT ve CS deneysel çalışmaların yapılması, SE hemodinamik ölçümlerin yapılması, İT, CS ve HS biyokimyasal ölçümlerin yapılması.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan etmektedirler.

Finansal Destek

Yok.

Etik Kurul Onayı

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (etik onay numarası: 2021-09-03/06).

Hakemlik Süreci

Kör Hakemlik süreci sonrası yayınlanmaya uygun bulunmuş ve kabul edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. de Fátima Laureano Martins J, Souza-Silva TG, Paula HAA, Rafael VDC, Sartori SSR, Ferreira CLLF. Yacon-based product improves intestinal hypertrophy and modulates the production of glucagon-like peptide-1 in postmenopausal experimental model. *Life Sci.* 2022;291:120245.
2. Marinho PM, Salomon TB, Andrade AS, Behling CS, Putti JS, Benfato MS, Hackenhaar FS. The effect of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and lipoic acid on the heart in the ovariectomized rat model of menopause. *Free Radic Res.* 2019;53(6):669-679.
3. Yang XP, Reckelhoff JF. Estrogen, hormonal replacement therapy and cardiovascular disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2011;20:133-138.
4. Prokai-Tatrai K, Perjesi P, Rivera-Portalatin NM, Simpkins JW, Prokai L. Mechanistic investigations on the antioxidant action of a neuroprotective estrogen derivative. *Steroids.* 2008;73(3):280-288.
5. Gorrini C, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nat Rev Drug Discov.* 2013;12:931-947.

6. Castardo-de-Paula JC, de Campos BH, Amorim EDT, da Silva RV, de Farias CC, Higachi L, Pinge-Filho P, Barbosa DS, Martins-Pinge MC. Cardiovascular risk and the effect of nitric oxide synthase inhibition in female rats: The role of estrogen. *Exp Gerontol.* 2017;97:38-48.
7. Knowlton AA, Lee AR. Estrogen and the cardiovascular system. *Pharmacol Ther.* 2012;135(1):54-70.
8. Phungphong S, Kijawornrat A, Wattanapernpool J, Bupha-Intr T. Improvement in cardiac function of ovariectomized rats by antioxidant tempol. *Free Radic Biol Med.* 2020;160:239-245.
9. Rutter MK, Parise H, Benjamin EJ, Levy D, Larson MG, Meigs JB, Nesto RW, Wilson PW, Vasan RS. Impact of glucose intolerance and insulin resistance on cardiac structure and function: Sex-related differences in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2003;107(3):448-454.
10. Bhuiyan MS, Fukunaga K. Characterization of an animal model of postmenopausal cardiac hypertrophy and novel mechanisms responsible for cardiac decompensation using ovariectomized pressure-overloaded rats. *Menopause.* 2010;17:213-221.
11. Shi N, He J, Guo Q, Liu T, Han J. Liraglutide protects against diabetes mellitus complicated with focal cerebral ischemic injury by activating mitochondrial ATP-sensitive potassium channels. *Neuroreport.* 2019;30(7):479-484.
12. Hölscher C. Central effects of GLP-1: New opportunities for treatments of neurodegenerative diseases. *J Endocrinol.* 2014;221:T31.
13. Yaribeygi H, Farrokhi FR, Abdalla MA, Sathyapalan T, Banach M, Jamialahmadi T, Sahebkar A. The effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidylpeptidase-4 inhibitors on blood pressure and cardiovascular complications in diabetes. *J Diabetes Res.* 2021;2021:6518221.
14. Deng C, Cao J, Han J, Li J, Li Z, Shi N, He J. Liraglutide activates the Nrf2/HO-1 antioxidant pathway and protects brain nerve cells against cerebral ischemia in diabetic rats. *Comput Intell Neurosci.* 2018;2018:3094504.
15. Hu SY, Zhang Y, Zhu PJ, Zhou H, Chen YD. Liraglutide directly protects cardiomyocytes against reperfusion injury possibly via modulation of intracellular calcium homeostasis. *J Geriatr Cardiol.* 2017;14(1):57-66.
16. Chen WR, Hu SY, Chen YD, Zhang Y, Qian G, Wang J, Yang JJ, Wang ZF, Tian F, Ning QX. Effects of liraglutide on left ventricular function in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Am Heart J.* 2015;170(5):845-854.
17. Eid RA, Bin-Meferij MM, El-Kott AF, Eleawa SM, Zaki MSA, Al-Shraim M, El-Sayed F, Eldeen MA, Alkhateeb MA, Alharbi SA, Aldera H, Khalil MA. Exendin-4 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury by upregulation of SIRT1 and SIRT3 and activation of AMPK. *J Cardiovasc Transl Res.* 2021;14(4):619-635.
18. Yin W, Borniger JC, Wang X, Maguire SM, Munselle ML, Bezner KS, Tesfamariam HM, Garcia AN, Hofmann HA, Nelson RJ, Gore AC. Estradiol treatment improves biological rhythms in a preclinical rat model of menopause. *Neurobiol Aging.* 2019;83:1-10.
19. Barthem CS, Rossetti CL, Carvalho DP, da-Silva WS. Metformin ameliorates body mass gain and early metabolic changes in ovariectomized rats. *Endocr Connect.* 2019;8(12):1568-1578.
20. Model JFA, Lima MV, Ohlweiler R, Lopes Vogt É, Rocha DS, Souza SK, Türck P, Araújo ASDR, Vinagre AS. Liraglutide improves lipid and carbohydrate metabolism of ovariectomized rats. *Mol Cell Endocrinol.* 2021;524:111158.
21. Kim JH, Cho HT, Kim YJ. The role of estrogen in adipose tissue metabolism: Insights into glucose homeostasis regulation. *Endocr J.* 2014;61(11):1055-1067.
22. Casini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *Am J Pathol.* 1986;123(3):520-531.
23. Aykac G, Uysal M, Yalçın AS, Kocak-Toker N, Sivas A, Oz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology.* 1986;36:71-76.
24. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* 2001;5(1):62-71.
25. Berger J, Shepard D, Morrow F, Taylor A. Relationship between dietary intake and tissue levels of reduced and total vitamin C in the nonscorbutic guinea pig. *J Nutr.* 1989;119:734-740.
26. Bendale DS, Karpe PA, Chhabra R, Shete SP, Shah H, Tikoo K. 17- β Oestradiol prevents cardiovascular dysfunction in postmenopausal metabolic syndrome by affecting SIRT1/AMPK/H3 acetylation. *Br J Pharmacol.* 2013;170(4):779-795.
27. Woo JS, Kim W, Ha SJ, Kim JB, Kim SJ, Kim WS, Seon HJ, Kim KS. Cardioprotective effects of exenatide in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: Results of exenatide myocardial protection in revascularization study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(9):2252-2260.
28. Gortan Cappellari G, Losurdo P, Mazzucco S, Panizon E, Jevnicar M, Macaluso L, Fabris B, Barazzoni R, Biolo G, Carretta R, Zanetti M. Treatment with n-3 polyunsaturated fatty acids reverses endothelial dysfunction and oxidative stress in experimental menopause. *J Nutr Biochem.* 2013;24(1):371-379.
29. Wu H, Xiao C, Zhao Y, Yin H, Yu M. Liraglutide Improves Endothelial Function via the mTOR Signaling Pathway. *J Diabetes Res.* 2021;2021:2936667.
30. Aung MM, Slade K, Freeman LAR, Kos K, Whatmore JL, Shore AC, Gooding KM. Locally delivered GLP-1 analogues liraglutide and exenatide enhance microvascular perfusion in individuals with and without type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2019;62(9):1701-1711.

31. Han L, Yu Y, Sun X, Wang B. Exendin-4 directly improves endothelial dysfunction in isolated aortas from obese rats through the cAMP or AMPK-eNOS pathways. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012;97(3):453-460.
32. DeNicola M, Du J, Wang Z, Yano N, Zhang L, Wang Y, Qin G, Zhuang S, Zhao TC. Stimulation of glucagon-like peptide-1 receptor through exendin-4 preserves myocardial performance and prevents cardiac remodeling in infarcted myocardium. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014;307(8):E630-643.
33. Chang G, Zhang P, Ye L, Lu K, Wang Y, Duan Q, Zheng A, Qin S, Zhang D. Protective effects of sitagliptin on myocardial injury and cardiac function in an ischemia/reperfusion rat model. *Eur J Pharmacol.* 2013;718(1-3):105-113.
34. Chinda K, Chattipakorn S, Chattipakorn N. Cardioprotective effects of incretin during ischaemia-reperfusion. *Diab Vasc Dis Res.* 2012;9:256-269.
35. Simanenkova A, Minasian S, Karonova T, Vlasov T, Timkina N, Shpilevaya O, Khalzova A, Shimshilashvili A, Timofeeva V, Samsonov D, Borshchev Y, Galagudza M. Comparative evaluation of metformin and liraglutide cardioprotective effect in rats with impaired glucose tolerance. *Sci Rep.* 2021;11(1):6700.
36. Guan G, Zhang J, Liu S, Huang W, Gong Y, Gu X. Glucagon-like peptide-1 attenuates endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in H9c2 cardiomyocytes during hypoxia/reoxygenation through the GLP-1R/PI3K/Akt pathways. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2019;392(6):715-722.
37. Nikolaidis LA, Elahi D, Hentosz T, Doverspike A, Huerbin R, Zourelis L, Stolarski C, Shen YT, Shannon RP. Recombinant glucagon-like peptide-1 increases myocardial glucose uptake and improves left ventricular performance in conscious dogs with pacing-induced dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 2004;110(8):955-961.
38. Grieve DJ, Cassidy RS, Green BD. Emerging cardiovascular actions of the incretin hormone glucagon-like peptide-1: Potential therapeutic benefits beyond glycaemic control? *Br J Pharmacol.* 2009;157(8):1340-1351.
39. Chien CT, Jou MJ, Cheng TY, Yang CH, Yu TY, Li PC. Exendin-4-loaded PLGA microspheres relieve cerebral ischemia/reperfusion injury and neurologic deficits through long-lasting bioactivity-mediated phosphorylated Akt/eNOS signaling in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2015;35(11):1790-1803.
40. Li PC, Liu LF, Jou MJ, Wang HK. The GLP-1 receptor agonists exendin-4 and liraglutide alleviate oxidative stress and cognitive and micturition deficits induced by middle cerebral artery occlusion in diabetic mice. *BMC Neurosci.* 2016;17(1):37.
41. Cui X, Liang H, Hao C, Jing X. Liraglutide preconditioning attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury via homer1 activation. *Aging. (Albany NY)* 2021;13(5):6625-6633.
42. Noyan-Ashraf MH, Momen MA, Ban K, Sadi AM, Zhou YQ, Riazi AM, Baggio LL, Henkelman RM, Husain M, Drucker DJ. GLP-1R agonist liraglutide activates cytoprotective pathways and improves outcomes after experimental myocardial infarction in mice. *Diabetes.* 2009;58(4):975-983.
43. Nakatani Y, Kawabe A, Matsumura M, Aso Y, Yasu T, Banba N, Nakamoto T. Effects of GLP-1 receptor agonists on heart rate and the autonomic nervous system using holter electrocardiography and power spectrum analysis of heart rate variability. *Diabetes Care.* 2016;39(2):e22-23.
44. Kaur A, Negi P, Sarna V, Prasad R, Chavan BS, Malhotra A, Kaur G. The appraisalment of antioxidant and oxidant status in women undergoing surgical menopause. *Indian J Clin Biochem.* 2017;32(2):179-185.
45. Machi JF, Dias Dda S, Freitas SC, de Moraes OA, da Silva MB, Cruz PL, Mostarda C, Salemi VM, Morris M, De Angelis K, Irigoyen MC. Impact of aging on cardiac function in a female rat model of menopause: Role of autonomic control, inflammation, and oxidative stress. *Clin Interv Aging.* 2016;11:341-350.
46. Hussein AM, Eid EA, Taha M, Elshazli RM, Bedir RF, Lashin LS. Comparative study of the effects of GLP1 analog and SGLT2 inhibitor against diabetic cardiomyopathy in type 2 diabetic rats: Possible underlying mechanisms. *Biomedicines.* 2020;8(3):43.
47. Abdelsameea AA, Abbas NA, Abdel Raouf SM. Liraglutide attenuates partial warm ischemia-reperfusion injury in rat livers. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2017;390(3):311-319.
48. Chao AM, Tronieri JS, Amaro A, Wadden TA. Semaglutide for the treatment of obesity. *Trends Cardiovasc Med.* 2021;21:S1050-1738(21)00158-4.