



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FARMACOLOGIA  
E TERAPÊUTICA

Josimar Macedo de Castro

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE  
RIBOSÍDEO DE NICOTINAMIDA SOBRE PARÂMETROS  
BIOMÉTRICOS, METABÓLICOS, OXIDATIVOS E INFLAMATÓRIOS  
EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS AO MODELO DE OBESIDADE**

Porto Alegre

2019

**JOSIMAR MACEDO DE CASTRO**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE RIBOSÍDEO DE  
NICOTINAMIDA SOBRE PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, METABÓLICOS,  
OXIDATIVOS E INFLAMATÓRIOS EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS AO  
MODELO DE OBESIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, em Farmacologia e Terapêutica.

Orientador(a): Prof. Dra. Iraci LS Torres

Porto Alegre

2019

## Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

### CIP - Catalogação na Publicação

de Castro, Josimar Macedo  
Avaliação dos efeitos da administração de Ribosídeo  
de Nicotinamida sobre parâmetros biométricos,  
metabólicos, oxidativos e inflamatórios em ratos  
Wistar submetidos ao modelo de obesidade / Josimar  
Macedo de Castro. -- 2019.  
88 f.  
Orientadora: Iraci Lucena da Silva Torres.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da  
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Biológicas: Farmacologia e Terapêutica, Porto Alegre,  
BR-RS, 2019.

1. Obesidade. 2. Dieta de cafeteria. 3. Síndrome  
metabólica. 4. Ribosídeo de nicotinamida. 5. Modelo  
animal. I. Lucena da Silva Torres, Iraci, orient. II.  
Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## Carta de aprovação do presente projeto de pesquisa cedido pelo CEUA/HCPA



### GRUPO DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Certificamos que o projeto abaixo, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) e pelas áreas de apoio indicadas pelo pesquisador.

**Projeto:** 180049 **Data de Aprovação do Projeto:** 09/03/2018  
**Título:** Os efeitos da administração de Ribosídeo de Nicotinamida na sinalização da Proteína Quinase Ativada por AMP (AMPK) e perfil metabólico de ratos Wistar obesos **Data de Término:** 02/03/2020

**Pesquisador Responsável:** IRACLI LUCENA DA SILVA TORRES

#### Equipe de pesquisa:

BETTEGA COSTA LOPES

CARLA DE OLIVEIRA

JOSIMAR MACEDO DE CASTRO

Submissão	Documento	Espécie/Linhagem	Sexo/Idade	Qtd.	Data Reunião	Situação
24/01/2018	APROVAÇÃO	RATO - WISTAR	M/60dias	50	27/02/2018	APROVADO

**Total de Animais:** 50

ANA HELENA DA ROSA PAZ

Coordenadora

Comissão de Ética no Uso de Animais

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEUA/HCPA.

## Ata de apresentação de dissertação



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA



### ATA DE APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica  
Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica - Mestrado Acadêmico  
Ata de defesa de Dissertação

Aluno: Josimar Macedo de Castro, com ingresso em 04/09/2017  
Título: **Avaliação dos efeitos do Ribosídeo de Nicotinamida sobre parâmetros biométricos, metabólicos, oxidativos e inflamatórios em ratos Wistar submetidos ao modelo de obesidade**  
Orientador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iraci Lucena da Silva Torres

Data: 10/09/2019  
Horário: 10:30  
Local: Salão Nobre - ICBS

<u>Banca Examinadora</u>	<u>Origem</u>
Adriane Ribeiro Rosa	UFRGS
Karla Suzana Moresco	Uniritter
Ionara Siqueira	UFRGS

Porto Alegre, 10 de setembro de 2019.

Conceito Geral da Banca: (**Aprovado**) Correções solicitadas: (  ) Sim (  ) Não

**Observação:** Esta Ata não pode ser considerada como instrumento final do processo de concessão de título ao aluno.

  
\_\_\_\_\_  
Aluno

  
\_\_\_\_\_  
Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Coordenadora do PPGFT

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica  
Rua Sarmiento Leite, 500 202 - Bairro Centro - Telefone 51 33083183  
Porto Alegre -

[www.ufrgs.br/farmacologia](http://www.ufrgs.br/farmacologia)

Que o “**Mestre dos Mestres**” lhe ensine que  
nas falhas e lágrimas se esculpe a  
sabedoria.

Que o “**Mestre da Sensibilidade**” lhe ensine  
a contemplar as coisas simples e a navegar  
nas águas da emoção.

Que o “**Mestre da Vida**” lhe ensine a não ter  
medo de viver e a superar os momentos  
mais difíceis da sua história.

Que o “**Mestre do Amor**” lhe ensine que a  
vida é o maior espetáculo no teatro da  
existência.

Que o “**Mestre Inesquecível**” lhe ensine que  
os fracos julgam e desistem, enquanto os  
fortes compreendem e têm esperança.

Não somos perfeitos. Decepções,  
frustrações e perdas sempre acontecerão.

Mas **Deus** é o artesão do espírito e da alma  
humana. Não tenha medo.

Depois da mais longa noite surgirá o mais  
belo amanhecer.

Espere-o.

(AUGUSTO CURY, 2005)

## DEDICATÓRIA

A **Deus**, a minha **mãe, Mariza F.R. Macedo**, e a **todos que sempre confiaram, ajudaram e me fortaleceram** durante esta, e toda, trajetória pessoal e profissional. Pois, sem sobra de dúvidas, foram, e continuam sendo, minha fonte inesgotável de força para todos os momentos da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

À professora, também minha orientadora, **Dra. Iraci LS Torres**, por ter aberto as portas de seu laboratório oportunizando, confiando e viabilizando a realização deste projeto.

Aos colegas de grupo de pesquisa do **Laboratório Farmacologia de Dor e Neuromodulação: Investigações Pré-clínicas (LaFDOR)**, especialmente **Bettega C. Lopes, Camila L. de Oliveira, Daniela S. Santos, Helouise R. Medeiros, Liciane F. Medeiros, Lisiane S. da Silva, Roberta Stroher, Stefania G. Cioato e Vanessa S. de Souza**. Parte de tudo isso sucedeu-se por meio do apoio, da força, e da ajuda de cada um de vocês.

À **Dra. Carla de Oliveira, Dr. José A.F. Assumpção e Dr. Dirson J. Stein** pelos ensinamentos repassados, por toda atenção cedida, pela amizade criada, e pela disposição permanentemente em auxiliar-me tanto em questões pessoais quanto profissionais. Levo a amizade de cada um para a vida!

Aos colaboradores que contribuíram ao projeto: **Prof. Dr. Alex S. R Araújo** (PPG Fisiologia – UFRGS), **Dra. Cristina C. Carraro** (Laboratório de Fisiologia Cardiovascular – UFRGS), **Prof. Dr. Mário Reis A. da Silva** e **Profa. Dra. Carolina Uribe Cruz** (PPG Gastroenterologia/Hepatologia – UFRGS).

Aos prestativos e dedicados estudantes de iniciação científica do grupo LaFDOR, **Arthur A. Salvi, Diego E. S. Rios, João Pedro A. da Silva, Jeovana Ceresa**, que quando solicitados sempre executavam com louvor as tarefas designadas.

A todos professores, integrantes e colegas do **Departamento de Farmacologia** e do **Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica** da UFRGS pelo convívio, apoio e auxílio rotineiro.

À **Unidade de Experimentação Animal (UEA)** e à **Unidade de Análises Moleculares e Proteína (UAMP)** do **Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)** onde foram desenvolvidas, virtuosamente, as diversas etapas deste trabalho.

Aos colegas e companheiros do **Laboratório de Hepatologia e Gastreenterologia** do HCPA, em especial à **Larisse Longo e Gabriel T. S. Guerreiro** que foram, e continuam sendo, pessoas excepcionais, profissionais, queridas e de simpatia inenarrável.

Aos meus familiares: irmã, **Fabiana Macedo**; cunhado, **Mauro Silva**; sobrinhos **Andrey, Arthur, Lorenzo e Eduardo**; meus pais, **Mariza F.R. Macedo e João M. de Castro** (*In memoriam*). Registro aqui os efetivos agradecimentos por todo amor, carinho, compreensão e incentivo, mesmo nos momentos mais difíceis e conturbados desta etapa acadêmica.

Por último, não menos importante, à minha namorada, companheira e guia **Micheli S. Costa**, por, mesmo quando distante, compreender, ajudar e incentivar incondicionalmente todo o caminho percorrido durante esses dois anos.



## RESUMO

A obesidade é uma doença crônica, inflamatória e multifatorial, correlacionada a danos oxidativos e neuroinflamatórios. A fisiopatologia, em nível celular, decorre de alterações do metabolismo bioenergético que culminam na diminuição de intermediários como Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo oxidado (NAD<sup>+</sup>). A restrição calórica (RC) e compostos precursores de NAD<sup>+</sup> são alternativas efetivas para restabelecer e equilibrar esses níveis. Deste modo, a presente dissertação teve como objetivo avaliar os efeitos do nutracêutico Ribosídeo de Nicotinamida (RN), um potente precursor de NAD<sup>+</sup>, sobre parâmetros biométricos, metabólicos, peso de órgãos, estresse oxidativo cardíaco e neuroinflamação hipotalâmica, em ratos Wistar machos submetidos a obesidade pelo modelo de dieta de cafeteria (CAF). O experimento consistiu na utilização de 52 ratos, induzidos à obesidade por 6 semanas e tratados (RN 400mg/kg ou RC ou RN+RC) por mais 4 semanas, subsequentemente. Como resultado, a exposição a CAF em 6 semanas induziu fenótipo de obesidade, e em 10 semanas induziu síndrome metabólica e aumento do volume do coração. O tratamento com RN suprimiu o ganho de peso final, atenuou o acúmulo de tecido adiposo (visceral e subcutâneo), reduziu a RI e melhorou a relação TG/HDLc. No coração, o tratamento aumentou nível de TBARS e diminuiu atividade da enzima NADPH oxidase. A intervenção com RC promoveu reversão da obesidade, proporcionou perda de peso corporal e menor consumo alimentar calórico. Além disso, RC diminuiu a atividade da enzima catalase no coração e proporcionou menor nível sérico de TG, redução da RI e baixa TG/HDLc. A RC combinada ao RN, potencializou a perda de peso, elevou níveis séricos de TG, aumentou a atividade da enzima catalase no coração, e, no hipotálamo, diminuiu níveis de TNF- $\alpha$ . Sob condições fisiológicas (animais magros) o tratamento com RN, após 1 semana, impediu o desenvolvimento do peso corporal, diminuiu o ganho de peso final, aumentou o volume do coração, níveis séricos de glicose e diminuiu a atividade da NADPH oxidase. Em conclusão, o tratamento com RN na obesidade favorece a perda da adiposidade, modula estresse oxidativo cardíaco e diminuiu agravos metabólicos. Combinado com a restrição calórica, potencializa a perda de peso e modula positivamente a atividade antioxidante. Em estado fisiológico, o tratamento com RN proporciona estabilidade do peso corporal e diminuição da atividade de NADPH oxidase. Ressalta-se, como adversidades ao tratamento com RN, aumentos nos níveis de TG quando em estado de restrição calórica e de glicose quando em estado de eutrofia. Além disso, também nos animais eutróficos, o tratamento com RN aumentou o peso do coração. Em conjunto, os resultados sugerem uma potencial utilização de RN como alternativa para o tratamento da obesidade. Mais estudos ainda são necessários para elucidar seus mecanismos de ação, sobretudo na investigação de potenciais eventos adversos.

**Palavras-chave:** obesidade, dieta de cafeteria, ribosídeo de nicotinamida.

## ABSTRACT

Obesity is a chronic, inflammatory and multifactorial disease, correlated to oxidative and neuroinflammatory damage. The Physiopathology, at the cellular level, stems from alterations of the bioenergetic metabolism that culminate in the decrease of intermediates as oxidized nicotinamide-adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>). Caloric restriction (CR) and NAD<sup>+</sup> precursors compounds are effective alternatives to restore and balance these levels. Thus, this dissertation aimed to evaluate the effects of the nutraceutical nicotinamide riboside (NR), a potent precursor of NAD<sup>+</sup>, on biometrics, metabolic, organ weight, cardiac oxidative stress and neuroinflammation hypothalamic parameters in male Wistar rats subjected to obesity by cafeteria diet model (CAF). The experiment consisted of the use of 52 rats, induced to obesity for 6 weeks and treated (NR 400mg/kg or CR or CR+NR) for another 4 weeks, subsequently. As a result, the exposure to CAF in 6 weeks induced a phenotype of obesity, and in 10 weeks induced metabolic syndrome and increased heart size. Treatment with NR suppressed the final weight gain, attenuated the accumulation of adipose tissue (visceral and subcutaneous), reduced IR and improved the TG/HDLc ratio. Moreover, at heart, treatment increased the level of TBARS and decreased activity of the enzyme NADPH oxidase. The intervention with CR promoted reversal of obesity, provided loss of body weight and lower caloric food intake. In addition, CR decreased the activity of the catalase enzyme in the heart and provided lower serum TG levels, reduced IR and low TG/HDLc. Combined CR to NR, potentiated weight loss, elevated serum TG levels, increased the activity of the catalase enzyme in the heart, and, in the hypothalamus, decreased TNF- $\alpha$  levels. Under physiological conditions (lean animals) the treatment with NB, after 1 week, prevented the development of body weight, decreased the final weight gain, increased heart volume, serum glucose levels and decreased the activity of NADPH oxidase. In conclusion, treatment with NR in obesity favors the loss of adiposity, modulates cardiac oxidative stress and decreased metabolic problems. Combined with caloric restriction, it potentializes weight loss and positively modulates antioxidant activity. In a physiological state, treatment with NB provides stability of body weight and decreased NADPH oxidase activity. It is noteworthy, as adversities to the treatment with NB, increases in TG levels when in a state of caloric restriction and glucose when in a state of eutrophy. Moreover, in eutrophic animals, treatment with NB increased the weight of the heart. Together, the results suggest a potential use of NB as an alternative for the treatment of obesity. Further studies are still needed to elucidate its mechanisms of action, especially in the investigation of potential adverse events.

**Keywords:** obesity; cafeteria diet; nicotinamide riboside.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Reflexos evolutivos da transposição do homem primitivo ao homem moderno .....	18
<b>Figura 2.</b> Diferenciação e caracterização funcional e histológica de tecido adiposo marrom, bege e branco.....	22
<b>Figura 3.</b> Vias biosintéticas de NAD <sup>+</sup> .....	34
<b>Figura 4.</b> Estrutura química do Ribosídeo de Nicotinamida e seus efeitos em nível celular .....	38

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1</b>	<b>EPIDEMIOLOGIA DA OBESIDADE.....</b>	<b>16</b>
<b>1.2</b>	<b>COMPREENSÃO EVOLUTIVA DA OBESIDADE .....</b>	<b>17</b>
<b>1.3</b>	<b>PROBLEMÁTICA E ASPECTOS GERAIS DA OBESIDADE.....</b>	<b>19</b>
<b>1.3.1</b>	<b>TECIDO ADIPOSEO E O FENÓTIPO DA OBESIDADE .....</b>	<b>19</b>
<b>1.3.2</b>	<b>SISTEMA NERVOSO CENTRAL E OBESIDADE.....</b>	<b>23</b>
<b>1.4</b>	<b>DIAGNÓSTICO DA OBESIDADE.....</b>	<b>26</b>
<b>1.5.</b>	<b>COMPLICAÇÕES DA OBESIDADE.....</b>	<b>27</b>
<b>1.5.1</b>	<b>DOENÇAS CARDIOVASCULARES RELACIONADAS A OBESIDADE.....</b>	<b>28</b>
<b>1.7</b>	<b>TRATAMENTO DA OBESIDADE.....</b>	<b>30</b>
<b>1.8</b>	<b>HISTÓRICO FARMACOLÓGICO DO NICOTINAMIDA-ADENINA DINUCLEOTÍDEO.....</b>	<b>31</b>
<b>1.8.1</b>	<b>NICOTINAMIDA-ADENINA DINUCLEOTÍDEO .....</b>	<b>31</b>
<b>1.8.2</b>	<b>Biossíntese do Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo .....</b>	<b>33</b>
<b>1.8.3</b>	<b>IMPORTANCIA DA NICOTINAMIDA-ADENINA DINUCLEOTÍDEO COMO ALVO TERAPÊUTICO .....</b>	<b>35</b>
<b>1.9</b>	<b>RIBOSÍDEO DE NICOTINAMIDA .....</b>	<b>36</b>
<b>1.9.1</b>	<b>RIBOSÍDEO DE NICOTINAMIDA COMO PRECURSOR DE NICOTINAMIDA-ADENINA DINUCLEOTÍDEO .....</b>	<b>36</b>
<b>1.9.2</b>	<b>EFEITOS TERAPÊUTICOS DO RIBOSÍDEO DE NICOTINAMIDA.....</b>	<b>37</b>
<b>1.10</b>	<b>MODELOS ANIMAIS DE OBESIDADE.....</b>	<b>38</b>
<b>2.</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>40</b>
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>41</b>
<b>3.2</b>	<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>41</b>
<b>3.2.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>41</b>
<b>4.</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>42</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>69</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>70</b>

## ABREVIATURAS E SIGLA

<b>•NO<sub>2</sub></b>	Dióxido de nitrogênio
<b>•NO</b>	Óxido nítrico
<b>AgRP</b>	Peptídeo relacionado ao gene agouti
<b>AMP</b>	Adenosina monofosfato
<b>Arc</b>	Núcleo arqueado
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>AVE</b>	Acidente Vascular Encefálico
<b>BDNF</b>	Fator neurotrófico derivado do cérebro
<b>CA</b>	Circunferência Abdominal
<b>CAF</b>	Dieta de cafeteria
<b>CART</b>	Transcritos relacionados à anfetamina e cocaína
<b>CAT</b>	Enzima catalase
<b>DC</b>	Dobras cutâneas
<b>DCNT</b>	Doenças Crônicas Não-Transmissíveis
<b>DCV</b>	Doenças cardiovasculares
<b>DEXA</b>	Ressonância magnética e densitometria por dupla emissão de raios-X
<b>DHGNA</b>	Doença hepática gordurosa não alcoólica
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DM2</b>	Diabetes mellitus do tipo 2
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>EO</b>	Estresse Oxidativo
<b>ERO</b>	Espécies Reativas de Oxigênio
<b>ERN</b>	Espécies Reativas de Nitrogênio
<b>GPx</b>	Enzima glutathiona peroxidase
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrogênio
<b>HAS</b>	Hipertensão Arterial Sistêmica
<b>HDL</b>	Colesterol ligado a lipoproteína de alta densidade
<b>HClO</b>	Ácido hipocloroso
<b>HO•</b>	Radical Hidroxila
<b>HT</b>	Hipotálamo
<b>IAM</b>	Infarto Agudo do Miocárdio

**IDO** Enzima Indoleamina 2,3-dioxigenase

**IL-1 $\beta$**  Interleucina 1 beta

**IL-10** Interleucina 10

**IL-6** Interleucina 6

**IMC** Índice de Massa Corporal

**KFO** Enzima quinurenina formidase (do inglês kynurenine formylase)

**KYN** L-Quinurenina (do inglês L-kynurenine)

**LCR** Líquido Cefalorraquidiano

**LDL** Colesterol ligado a lipoproteína de baixa densidade

**LEP** Gene do hormônio leptina

**LEPR** Gene do receptor do hormônio leptina

**LPS** Lipopolissacarídeo

**MC4R** Receptor de melanocortina 4

**MCP-1** Proteína quimiotática de monócitos-1

**MDA** Malondialdeído

**NA** Ácido Nicotínico ou Niacina

**NAD<sup>+</sup>** Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo oxidado

**NAD** Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo

**NaAD** Ácido nicotínico adenina-dinucleotídeo

**NADSYN** Enzimas de família NAD<sup>+</sup> sintase

**NADH** Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo reduzido

**NADPH** Nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato reduzido

**NAM** Niacinamida ou Nicotinamida

**NAMN** Ácido nicotínico mononucleotídeo

**NAMPT** Enzima nicotinamida fosforribosiltransferase

**NCD RisC** do inglês *Non-Communicable Diseases Risk Factor Collaboration*

**NMN** Mononucleotídeo de Nicotinamida

**NMNAT** Enzima nicotinamida mononucleotídeo adeniltransferase

**NO<sub>2</sub>** Nitrito

**NO<sub>3</sub>** Nitrato

**NPY** Neuropeptídeo Y

**NRK** Enzima nicotinamida ribosídeo quinase

**O<sub>2</sub>** Oxigênio singlet

**O<sub>2</sub><sup>•</sup>** Radical superóxido

**OC** Obesidade Central / Obesidade androide

**ONOO<sup>·</sup>** Peroxinitrito

**OMS** Organização Mundial da Saúde

**PARP** Poli(ADP-Ribose) Polimerase

**PCSK1** Gene da pró-proteína convertase subtilisina/kexina 1 (do inglês Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 1)

**POMC** Pró-opiomelanocortina

**QA** Ácido quinurênico

**QAPRT** Enzima quinolinato fosforibosiltransferase

**RCQ** Relação cintura-quadril

**RI** Resistência à insulina

**RN** Ribosídeo de Nicotinamida

**RO<sup>·</sup>** Radical alcóxila

**ROO<sup>·</sup>** Radical peróxila

**SIM1** do inglês Single-minded homolog 1

**SIRT** Sirtuína

**SM** Síndrome Metabólica

**SN** Sistema Nervoso

**SNC** Sistema Nervoso Central

**SNP** Sistema nervoso periférico

**SNS** Sistema nervoso simpático

**SOD** Enzima superóxido dismutase

**TA** Tecido adiposo

**TAB** Tecido adiposo branco

**TAM** Tecido adiposo marrom

**TBARS** Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

**TOD** Enzima triptofano 2,3-dioxigenase

**TG** Triglicérides / Triacilglicerol

**TNF- $\alpha$**  Fator de necrose tumoral alfa

**Trp** Aminoácido triptofano

**UCP1** Proteína Desacopladora 1 / Termogenina-1

**VIGITEL** Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 EPIDEMIOLOGIA DA OBESIDADE

Atualmente a prevalência da obesidade exhibe índices pandêmicos, sendo considerada um problema de saúde pública global. Últimos dados publicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam aproximadamente 650 milhões de indivíduos adultos no mundo em estado de obesidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Além disso, casos da doença tem aumentado exponencialmente ao decorrer dos anos, passando de 7% em 1980 para 12,5% em 2015. Estima-se ainda que a incidência do sobrepeso e obesidade obteve um aumento próximo de 80% em menos de quatro décadas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Em esfera global, o número absoluto de indivíduos adultos acima do peso aumentou drasticamente, passando de 921 milhões em 1980 (cerca de 27,5% da população na época) para 2,3 bilhões em 2013 (cerca de 47,1% da população a época) (NG et al., 2014). Ainda, em 2013 estipulou-se que em muitos países, sobretudo aqueles emergentes, a prevalência do excesso de peso, incluído sobrepeso e obesidade, ultrapassou 50% (HRUBY e HU, 2015).

A população brasileira está entre as principais contribuintes para o perfil pandêmico da obesidade. Observações da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), sustentada pelo Ministério da Saúde, apontam que em 2016 mais da metade (53,8%) dos brasileiros estavam acima do peso e, destes, 18,9% eram obesos (BRASIL, 2017). No que tange ao crescimento, a proporção de obesos no intervalo de 10 anos (2006 a 2016) mais que duplicou atingindo aumento de 60,1% conforme dados do VIGITEL (BRASIL, 2017). O NCD RisC (*Non-Communicable Diseases Risk Factor Collaboration*), órgão internacional engajado no estudo de doenças crônicas não transmissíveis coordenado pela OMS, projeta que o Brasil ocupe, em 2025, a oitava colocação dentre os treze países sul-americanos com maior população obesa (NCD-RISC, 2019b). Adicionalmente, estima-se que a probabilidade desses países estabilizarem a ascensão é pequena. Neste sentido, o Brasil demonstra pior prognóstico, apresentando 0.4% da possibilidade efetiva do controle incidente da obesidade até 2025 (NCD-RISC, 2019b).



## 1.2 COMPREENSÃO EVOLUTIVA DA OBESIDADE

Aspectos antropológicos são fundamentais para compreender fenômenos evolutivos que desencadearam o surgimento de diversas doenças nas últimas décadas (WELLS, 2006; ZIMMET, 2000). O desenvolvimento socioeconômico vertiginoso favoreceu o avanço urbanístico, tecnológico e cultural. Em contrapartida, o progresso gerado atribuiu à humanidade hábitos de vida inapropriados como consumo de alimentos processados, industrializados e altamente calóricos, acompanhado de uma rotina de trabalho extenuante, favorecendo o sedentarismo. Essas mudanças repentinas tornaram o genoma humano suscetível a polimorfismos e mutações, dando origem às diversas doenças crônicas, em particular, a obesidade (JEW, ABUMWEIS, JONES, 2009; WELLS, 2006; ZIMMET, 2000).

Contemporaneamente, a prevalência de obesidade apresenta graus epidêmicos e deletérios sem precedentes. Além disso, o aumento de massa adiposa era pouco evidente no homem ancestral (WELLS, 2006; BATESON, 2004). Em 1962, Neel apresentou a hipótese “*thrifty genotype*” (genótipo poupador), propondo que determinadas populações apresentavam maior propensão à resistência insulínica, tanto por seleção quanto por aspectos genéticos (NEEL, 1962). Deste modo, na superabundância de alimentos e estilo de vida sedentário, o genótipo poupador seria instigado desencadeando eventos metabolicamente desvantajosos. Entretanto, com o avanço do conhecimento científico a hipótese foi reformulada sugerindo que tal fenômeno poderia derivar-se predominantemente de eventos epigenéticos acarretados por variações ambientais (CASTILLO, ORLANDO, GARVER, 2017). Corroborando essa hipótese, trabalhos recentes esclarecem e reforçam o ambiente como o principal catalisador da obesidade (DE ANDRADE AOYAMA et al., 2018; MAYNE, AUCHINCLOSS, MICHAEL, 2015). A Figura 1 ilustra este panorama.

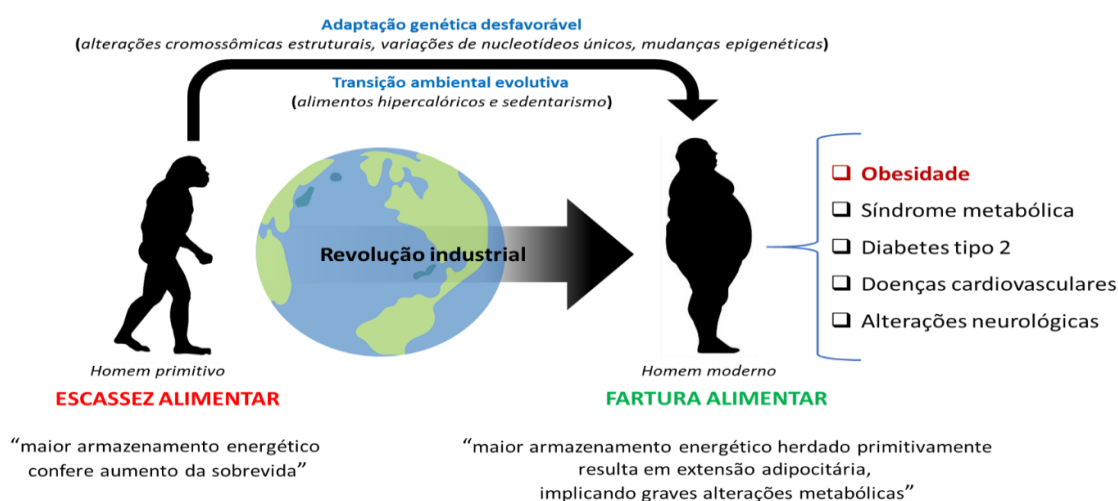
Baseado nas características genéticas da sociedade moderna, três formas fenotípicas da obesidade podem se apresentar: obesidade monogênica sindrômica, obesidade monogênica não-sindrômica e obesidade poligênica (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015). A forma monogênica (sindrômica e não-sindrômica) da obesidade resulta da alteração em um único gene, acometendo 5% da população (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015). Apesar de pouco prevalente, esta forma comumente inicia-se de modo precoce e

conduz à obesidade severa, acarretando alterações endócrino-metabólicas e mentais importantes (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015).

A obesidade monogênica não-sindrômica representa 10% dos casos de obesidade na infância e adolescência, envolvendo conhecidamente oito genes mutados envolvidos no controle da ingestão alimentar e no gasto energético, dentre eles estão: gene da leptina (LEP); gene do receptor de leptina (LEPR); gene pró-opiomelanocortina (POMC); gene pró-proteína convertase 1 (PCSK1); gene do receptor de melanocortina-4 (MC4R); gene do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF); ortólogo do gene *Single-minded homolog 1* de drosófila (SIM1); gene do receptor tirosina-quinase neurotrófico tipo 2 (NTRK2) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015).

Por fim, a obesidade poligênica, condição etiologicamente mais observada e prevalente na população moderna. Esta patologia é definida pelo efeito cumulativo de múltiplas deleções genéticas, especialmente em genes relacionados ao metabolismo energético. Tais deleções descendem de adaptações negativas do DNA, gerando alelos permissivos ao desenvolvimento de obesidade. Mesmo que estas variantes poligênicas renunciem a doença, nem todos indivíduos acometidos manifestarão o fenótipo obeso. Além disso, seguindo a lógica contrária, naqueles sem predisposição genética, a instauração da obesidade também pode ser vista com regularidade. Todos estes fatores denotam o perfil heterogêneo da doença e ilustram a importância do ambiente no princípio fisiopatológico (PIGEYRE *et al.*, 2016; ALBUQUERQUE *et al.*, 2015).

**Figura 1.** Reflexos evolutivos da transposição do homem primitivo ao homem moderno



**Fonte:** o autor.

### **1.3 PROBLEMÁTICA E ASPECTOS GERAIS DA OBESIDADE**

A OMS define obesidade como uma condição físico-orgânica caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, sobretudo na região abdominal, podendo induzir o surgimento de inúmeras comorbidades, como síndrome metabólica (SM), diabetes (DM), alterações cardiovasculares e câncer (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Somado a isso, é atualmente considerada uma doença crônica, inflamatória, complexa, de etiologia multifacetada, apresentando características fisiopatológicas e morbidades próprias que se relacionam com problemas físicos, orgânicos e emocionais (SCHETZ *et al.*, 2019).

De modo geral, obesidade é o reflexo do desequilíbrio metabólico entre armazenamento e gasto energético (CASTILLO, ORLANDO, GARVER, 2017). Este desequilíbrio é oriundo do excesso de consumo alimentar associado ao sedentarismo, gerando assim um balanço energético positivo e conseqüentemente o fenótipo obeso (CASTILLO, ORLANDO, GARVER, 2017; MELDRUM, MORRIS, GAMBONE, 2017). No entanto, fatores como estresse físico-mental, tabagismo e agentes infecciosos também contribuem para o surgimento da obesidade (MELDRUM, MORRIS, GAMBONE, 2017). Ademais, estudos recentes demonstram forte associação da microbiota intestinal, quando em disbiose, ao desenvolvimento da obesidade e disfunções neuro-endocrinológicas adjacentes (GOMES, HOFFMANN, MOTA, 2018; RASTELLI, KNAUF, CANI, 2018).

#### **1.3.1 TECIDO ADIPOSEO E O FENÓTIPO DA OBESIDADE**

O tecido adiposo (TA) é classicamente conhecido como um subtipo especializado de tecido conjuntivo, composto predominantemente de células pré-adiposas e adipócitos maduros (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2013). Linhagens celulares estromais mesenquimais, endoteliais, fibroblásticas e imunológicas também compõem a estrutura do TA (MORENO-NAVARRETE, FERNÁNDEZ-REAL, 2017; CHOE *et al.*, 2016). Adipócitos maduros constituem um terço do TA que, por sua vez, representa cerca de 15 a 25% do peso corporal total de um indivíduo eutrófico (MORENO-NAVARRETE, FERNÁNDEZ-REAL, 2017; JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2013). Os adipócitos possuem formato poliédrico, grande diâmetro (25 – 200 micrômetros -  $\mu\text{m}$ ) e podem ser representados por três grupos celulares com origem, morfologia e função distintos: célula

adiposa branca (ou unilocular); célula adiposa marrom/parda (ou multilocular); e célula adiposa bege (LUO, LIU, 2016). Conforme ilustrado em Figura 2.

Adipócitos pardos compõem o tecido adiposo marrom (TAM), cuja estrutura é extremamente especializada, vascularizada e innervada pelo sistema nervoso simpático (SNS) (LUO, LIU, 2016; CHOE *et al.*, 2016). O grande número de mitocôndrias vinculadas a pequenas gotículas lipídicas fragmentadas no citoplasma proporciona aos adipócitos pardos o fenômeno pigmentar castanho, que justifica sua denominação (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2013). Como principal função, TAM dissipa energia química na forma de calor (processo termogênico), utilizando, para tal, reservas energéticas próprias em reações oxidativas mitocondriais, especialmente via proteína desacopladora-1 (UCP1) (MORENO-NAVARRETE, FERNÁNDEZ-REAL, 2017; LUO, LIU, 2016; CHOE *et al.*, 2016).

Em roedores, adipócitos pardos estão naturalmente presentes e encontram-se sobre regiões subcutâneas ao dorso (ZHANG *et al.*, 2018). Inicialmente, acreditava-se que presença significativa de TAM se limitava a neonatos (KUZAWA, 1998). Posteriormente, Cypess *et al.*, (2009) identificou TAM em indivíduos adultos saudáveis sobre regiões cervicais e claviculares. Na atualidade, pesquisas conotam extensos benefícios deste tecido para a saúde humana, associando o acúmulo de TAM à sensibilidade à insulina (CHONDRONIKOLA *et al.*, 2013), metabolismo da glicose (MATSUSHITA *et al.*, 2014), aumento de gasto energético corporal (OUELLET *et al.*, 2012), além de correlação inversa com o tecido adiposo branco (TAB) (SAITO *et al.*, 2009), graus elevados do índice de massa corpórea (IMC) e níveis de glicose (CYPESS *et al.*, 2009). Assim, enquanto TAM está relacionado à proteção e flexibilidade metabólica, o TAB é relacionado a doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e alterações metabólicas (MORENO-NAVARRETE, FERNÁNDEZ-REAL, 2017; LUO, LIU, 2016; CHOE *et al.*, 2016; CHONDRONIKOLA *et al.*, 2013).

Em humanos, o tecido adiposo branco está situado, em considerável quantidade, sob compartimentos corporais subcutâneos (região abdominal, glútea e femoral) e viscerais (região retroperitoneal, omental e mesentérica). Este TAB realiza funções relevantes ao organismo, como proteção de órgãos, absorção de impactos físicos, modelamento corporal e isolamento térmico (MORENO-NAVARRETE, FERNÁNDEZ-REAL, 2017; LUO, LIU, 2016). Além disso, TAB também está relacionado ao armazenamento de energia, podendo chegar a 300 quilocalorias (kcal) a cada 50 gramas (g) de massa adiposa corporal (ZHANG *et al.*, 2018). Recentemente, TAB foi descrito

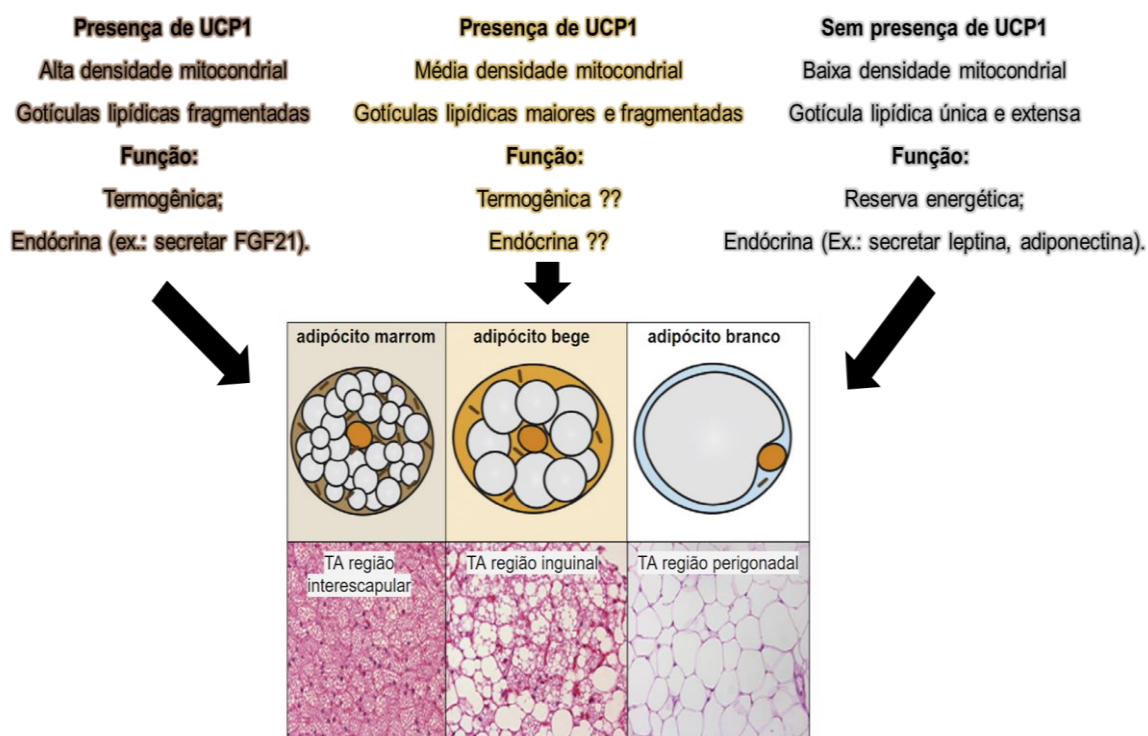
como uma glândula endócrina no qual células de base, adipócitos brancos (ou uniloculares), sintetizam, secretam e metabolizam mensageiros químicos que sensibilizam múltiplos órgãos e sistemas (CINTI, 2018; COELHO, OLIVEIRA, FERNANDES, 2013). Fatores adipócito-derivados, como leptina, adiponectina e resistina, atuam no organismo regulando o consumo alimentar, metabolismo energético e inflamação, respectivamente. Ademais, citocinas mediadoras de processos inflamatórios e recrutamento imunológico, como o fator de necrose tumor alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e interleucina 6 (IL-6), também são expressas e secretadas por TAB (UNAMUNO *et al.*, 2018; FASSHAUER, BLÜHER, 2015).

Por fim, recentemente, um subtipo de estrutura adiposa branca (denominada tecido adiposo bege) tem sido relacionado com a saúde metabólica e atividade termogênica adaptativa (PARK, KIM, BAE, 2014). Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstram que a subpopulação adipocitária bege, derivada de pré-adipócitos ou transdiferenciada de adipócitos brancos maduros, apresenta função e morfologia semelhantes às células adiposas do TAM, promovendo benefícios contra doenças crônicas metabólicas (PARK, KIM, BAE, 2014; SHABALINA *et al.*, 2013).

Notoriamente o consumo alimentar exagerado é relacionado ao excesso energético alimentar que, posteriormente, é armazenado em TAB, na forma de triglicerídeos (TG). Essa rotina por longos períodos viabiliza o processo adipogênico, caracterizado pelo aumento de volume (hipertrofia) e número (hiperplasia) de células do TAB, aumentando assim a adiposidade corporal e ectópica (ex.: coração, fígado, tecido muscular) (MORENO-NAVARRETE, FERNÁNDEZ-REAL, 2017; LUO, LIU, 2016; CHOE *et al.*, 2016). Agravando o quadro, a baixa atividade locomotora (seja pela inatividade física facultativa ou por afecções osteomusculares) desacelera o requerimento endógeno de energia, diminuindo reações potencialmente contrarreguladoras, incluindo a degradação de TG armazenados e sua utilização para gerar adenosina trifosfato (ATP). Adicionalmente, a expansão irregular de TAB é relacionada à geração de mediadores pró-inflamatórios, induzindo resposta imunológica inata e adaptativa, resultando em fibrose tecidual (ex.: no fígado) e alterações em funções endócrinas (ex.: resistência central e periférica à insulina e leptina) (UNAMUNO *et al.*, 2018). Somando-se a isso, aumentos aos níveis séricos de adipocinas levam a alterações do metabolismo oxidativo e resistência periférica à insulina (RI) as quais são relacionadas à SM, dislipidemia e inflamação crônica de baixo grau (FASSHAUER, BLÜER, 2015).

A obesidade androide (ou central), em humanos, é caracterizada por acúmulo de TAB predominantemente na região troncular. Consensualmente, tanto o aumento de tecido adiposo branco sistêmico quanto o acúmulo específico em região troncular representam graves riscos à saúde (VAN MEIJEL, BLAAK, GOOSSENS, 2019). Barroso *et al.* (2017) demonstrou associação positiva da obesidade central (OC) com hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus do tipo 2 (DM2) e dislipidemia. Yang *et al.* (2017) também trouxe novas evidências relacionando OC com risco de morte por causas gerais. Por fim, diversos estudos ligam OC ao risco de desenvolvimento de diversos tipos de câncer (PANG *et al.*, 2019; HIDAYAT *et al.*, 2016; NAGRANI *et al.*, 2016; GENKINGER *et al.*, 2015). Neste sentido, o armazenamento de gordura em região troncular (ou intra-abdominal) é um importante fator para o desenvolvimento de comorbidades e prognóstico da obesidade.

**Figura 2.** Diferenciação e caracterização funcional e histológica de tecido adiposo marrom, bege e branco



Fonte: Modificado de Jung, Sanchez-Gurmaches, Guertin, 2018.

### 1.3.2 SISTEMA NERVOSO CENTRAL E OBESIDADE

O controle da fisiologia endócrina é regulado por inúmeras regiões e estruturas centrais, tomando grande importância para o entendimento das doenças crônicas endócrino-metabólicas especialmente na obesidade.

O sistema nervoso (SN) é constituído por duas organizações anatômicas distintas: o sistema nervoso central (SNC), correspondente ao encéfalo, tronco encefálico e medula espinhal; e o sistema nervoso periférico (SNP), representado por nervos e gânglios correlatos (LECHAN, TONI, 2016). Em conjunto, estes dois sistemas atuam mantendo a homeostase do organismo (ESPERIDIÃO-ANTONIO et al., 2008). Áreas complexas do SNC abrangem funções fisiológicas de controle e manutenção do peso corporal. A exemplo disso, o hipotálamo (HT), localizado em mamíferos na região diencefálica e constituído por inúmeros núcleos, é o principal centro homeostático do organismo, ligando o SN ao sistema endócrino, sintetizando e secretando neurohormônios (LECHAN, TONI, 2016). Dentre as funções ligadas ao HT está o controle da termorregulação, do ritmo circadiano, do metabolismo energético e da ingestão alimentar e hídrica. Além disso, o HT encontra-se estritamente conectado ao sistema límbico, associado a comportamentos emocionais, sociais e instintos (HALILOGLU, BERKET, 2018; LECHAN, TONI, 2016).

Situado na porção mediobasal do HT, o núcleo arqueado (Arc) é arquitetado pela conjunção de redes neuronais dicotômicas, sendo responsável pelo controle do apetite (neurônios orexígenos) e saciedade (neurônios anorexígenos) (LECHAN, TONI, 2016). Entre a subpopulação orexígena estão neurônios relacionados à secreção de neuropeptídeo Y (NPY) e de proteína relacionada Agouti (AgRP), ambos capazes de ativar neurônios de segunda ordem, induzindo aumento do apetite e diminuição do gasto energético basal (HALILOGLU, BERKET, 2018). De mecanismo semelhante, porém com atividade oposta, o agrupamento anorexígeno, composto por neurônios pró-ópio-melanocortina (POMC) e neurônios que expressam transcritos relacionados à anfetamina e cocaína (CART) estimulam a saciedade e aumentam o metabolismo energético basal (HALILOGLU, BERKET, 2018; WOODS, D'ALESSIO, 2008; MORTON *et al.*, 2006).

A ativação ou inibição de neurônios NPY/AgRP (fome) e POMC/CART (saciedade) decorre de flutuações do estado energético endógeno, níveis hormonais e fatores neuroquímicos (HALILOGLU, BERKET, 2018). Enquanto NPY/AgRP são

estimulados por longos períodos de jejum, quedas na glicemia e secreção aumentada do hormônio grelina, os neurônios POMC/CART sensibilizam-se após elevação dos níveis plasmáticos de suprimentos nutricionais energéticos (ácidos-graxos, aminoácidos, glicose) e hormonais, como colecistoquina (CCK), peptídeo YY (PYY) e peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) e insulina (WOODS, D'ALESSIO, 2008; MORTON *et al.*, 2006). Embora estes fatores sejam os principais mecanismos indutores e/ou inibitórios do apetite e da saciedade, outros mediadores tem sido investigados, com ação bivalente em ambas classes neuronais, por exemplo: a) neurotransmissores oxitocina, dopamina e serotonina (MILLER, 2017); b) fatores adipócito-derivados leptina, adiponectina, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  (MAKKI, FROGUEL, WOLOWCZUK, 2013; AHIMA, LAZAR, 2008); c) quimiocinas como lipopolissacarídeo (LPS) e proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) (BOUTAGY *et al.*, 2016; MAKKI; FROGUEL; WOLOWCZUK, 2013).

A gênese da obesidade em nível central deriva de danos e/ou alterações em núcleos da estrutura hipotalâmica, levando ao ganho de peso acelerado, disfunções do metabolismo energético, e, indiretamente, transtornos alimentares (HALILOGLU, BEREKET, 2018; MELDRUM, MORRIS, GAMBONE, 2017), confirmados por exames de neuroimagem (PUIG *et al.*, 2015; VAL-LAILLET *et al.*, 2015; CARNELL *et al.*, 2012; THALER *et al.*, 2012).

A exposição crônica a dietas hipercalóricas (CAI, 2013) e a expansão desordenada de TAB (PARIMISSETTY *et al.*, 2016) também estão associadas a alterações hipotalâmicas, sobretudo relacionadas à neuroinflamação na região. Nesse sentido, em modelos animais, a neuroinflamação hipotalâmica é decorrente da ativação de vias de sinalização celular inflamatória (DOUGLASS *et al.*, 2017; VALDEARCOS *et al.*, 2017; POSEY *et al.*, 2009), ação e infiltração microglial (VALDEARCOS *et al.*, 2017; WAISE *et al.*, 2015; YI *et al.*, 2012), aumento dos níveis de citocinas IL-6, IL1- $\beta$ , TNF- $\alpha$  (WANG *et al.*, 2012; MILANSKI *et al.*, 2009) e diminuição de IL-10 (NAKATA *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2012).

Ainda que estudos pré-clínicos demonstrem relação entre hipotálamo, inflamação e obesidade, evidências clínicas são mais limitadas. Assim, em indivíduos obesos, para análise indireta de neuroinflamação são utilizados líquido cefalorraquidiano (LCR) (VAN DE SANDE-LEE, VELLOSO 2012) e exames de neuroimagem (CARNELL *et al.*, 2012). Larsson *et al.* (2015) identificou 19 biomarcadores neuroinflamatórios no LCR associados a graus elevados de IMC. Kreutzer *et al.* (2017), Schur *et al.* (2015) e Thaler *et al.*, 2012, utilizando métodos de imagem, demonstraram que a neuroinflamação em



indivíduos obesos pode ser mediada por gliose em região mediobasal do hipotálamo. Portanto, tem sido proposto que a inflamação precipita e/ou agrave a condição fisiopatológica da obesidade. Assim, o desenvolvimento de terapias que busquem atenuar ou inibir os processos inflamatórios é relevante tanto em nível experimental quanto clínico (D O'BRIEN *et al.*, 2017).

## 1.4 DIAGNÓSTICO DA OBESIDADE

Tradicionalmente, o grau de obesidade é avaliado por meio do IMC (razão entre peso corporal total e a altura do indivíduo, classificando-o como eutrófico (18,5 – 24,9 kg/m<sup>2</sup>), sobrepeso (25,0 – 29,9 kg/m<sup>2</sup>) e obeso ( $\geq 30,0$  kg/m<sup>2</sup>) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Embora amplamente utilizado, o IMC é pouco sensível para diagnóstico do fenótipo obeso (ROMERO-CORRAL *et al.*, 2008; FRANKENFIELD *et al.*, 2001), pois não distingue peso livre de gordura (tecido ósseo, peso hídrico e/ou massa muscular) de peso gordo (tecido adiposo *per se*) (DEURENBERG, YAP, VAN STAVEREN, 1998). Além disto, este índice é afetado pelo sexo biológico, idade, e natureza do próprio tecido adiposo (subcutâneo e/ou visceral) (HRUBY e HU, 2015; ROMERO-CORRAL *et al.*, 2008; FRANKENFIELD *et al.*, 2001).

O fenótipo obeso se configura pelo excesso e acúmulo de gordura corporal e ectópica. Métodos de imagem, como tomografia computadorizada, ressonância magnética e densitometria por dupla emissão de raios-X (DEXA) destacam-se como padrão ouro para discriminação do fenótipo (SHUSTER *et al.*, 2012). Alternativamente, a medida de dobras cutâneas (DC), uma técnica antropométrica, apresenta-se conveniente na prática clínica, fornecendo resultado rápido, confiável e de baixo custo (PARENTE, 2016; SHUSTER, 2012). Em reforço ao diagnóstico, a aferição da circunferência abdominal (CA) e relação da circunferência cintura-quadril (RCQ) [formula:  $RCQ = \text{circunferência da cintura (cm)} / \text{circunferência do quadril (cm)}$ ] é habitualmente utilizada para estimar o grau de adiposidade visceral (obesidade central) e morbidades cardiovasculares relacionadas à obesidade (SHUSTER *et al.*, 2012; ROMERO-CORRAL *et al.*, 2008; FRANKENFIELD *et al.*, 2001).

Na esfera clínica e na pesquisa básica, hiperglicemia, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia e resistência à insulina são frequentemente coexistentes em estágios moderados a severos de obesidade (MASON *et al.*, 2019; HU *et al.*, 2018; KIM, PARK, 2018; MARQUES *et al.*, 2016; GISHTI, 2015). Neste sentido, a análise desses parâmetros por meio de dosagens séricas é crucial ao indivíduo, pois, permitem caracterizar o nível de comprometimento metabólico e prognóstico da doença.

## 1.5. COMPLICAÇÕES DA OBESIDADE

A obesidade afeta negativamente a qualidade de vida do indivíduo, levando à alterações metabólicas, dificuldades respiratórias e locomotoras, e risco de morte precoce em casos de obesidade mais severa (HOARE et al., 2019; HRUBY, HU, 2015). Inúmeras DCNTs e alterações endócrino-metabólicas são ocasionadas e/ou influenciadas pela obesidade, a exemplo SM, DM2, doenças cardiovasculares (DCV), doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), alterações osteomusculares, câncer, entre outras (ABDELAAL, LE ROUX, DOCHERTY, 2017; PROSPECTIVE STUDIES COLLABORATION et al., 2009).

Indivíduos obesos apresentam maior nível de sintomas de ansiedade e de depressão, influenciando diretamente o comportamento alimentar, emocional e social (MELDRUM, MORRIS, GAMBONE, 2017). Na infância, a adiposidade correlaciona-se positivamente com a compulsão alimentar, refratariedade dietoterápica e transtornos alimentares relacionados à idade (TANOFSKY-KRAFF *et al.*, 2006). Hoare e colaboradores (2019) demonstraram que crianças em sobrepeso e obesidade apresentam escores de saúde física, emocional, social e escolar menores quando comparadas àquelas em eutrofia.

Em relação à mortalidade, o estudo multicêntrico *Prospective Studies Collaboration* (2009) revelou que a cada 5,0 kg/m<sup>2</sup> acima do índice eutrófico do IMC, o risco de óbito eleva-se em 30%. Ainda, índices mais altos de IMC também estão relacionados a redução na expectativa de vida. Dados de meta-análise evidenciam que graus elevados de obesidade implicam no aumento do número de mortes, tanto por causa específica quanto geral (FLEGAL *et al.*, 2013). Quando acompanhada de outras alterações metabólicas (RI, tolerância à glicose, dislipidemia, entre outros), indivíduos obesos têm probabilidade de morte precoce quatro vezes maior que a de indivíduos saudáveis. Em casos onde há comorbidades, este risco é intensificado, aumentando a letalidade em 60 - 120% na associação de DM2, em 40% DCV, 20% em complicações respiratória e 10% em neoplasias, reforçando claramente o risco eminente à saúde do portador (PROSPECTIVE STUDIES COLLABORATION *et al.*, 2009).

### 1.5.1 DOENÇAS CARDIOVASCULARES RELACIONADAS A OBESIDADE

Ocorrências cardiovasculares se potencializam com a instauração da obesidade, aumentando em 40% a chance de o indivíduo ir a óbito por quaisquer eventos cardiometabólicos (PROSPECTIVE STUDIES COLLABORATION *et al.*, 2009). Doenças do sistema cardiovascular posicionam-se como a principal causa de letalidade no mundo, com aproximadamente 17,9 milhões de óbitos anuais, representando cerca de 31% das mortes no âmbito global (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019b). Dentre estes, 85% são devido a infarto agudo do miocárdio (IAM) e acidente vascular encefálico (AVE) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019b). Estudos apontam a obesidade como determinante independente para desenvolvimento de doenças cardíacas (CSIGE *et al.*, 2018; BADIMON *et al.*, 2017).

O estilo de vida obesogênico (tipificado pelo sedentarismo, excesso de peso e consumo de alimentos hipercalóricos e refinados) dificulta o tratamento e piora o prognóstico de doenças cardíacas (CSIGE *et al.*, 2018; BADIMON *et al.*, 2017; ST-ONGE *et al.*, 2017). Fatores precipitados pelo quadro de obesidade, como dislipidemias, desequilíbrio de lipoproteínas séricas (relação HDL/LDL), hiperglicemia, RI e inflamação sistêmica em baixo grau (HU *et al.*, 2018; KIM e PARK, 2018; GISHTI *et al.*, 2015) participam efetivamente na patogênese de DCV (ST-ONGE *et al.*, 2017).

#### 1.5.1.1 ESTRESSE OXIDATIVO NA ETIOLOGIA DAS DOENÇAS CARDÍACAS

Estresse oxidativo (EO) é resultado da produção excessiva de compostos pró-oxidantes, derivados de processos metabólicos intracelulares naturais, sem a compensação efetiva do maquinário antioxidante endógeno (GUTTERIDGE e HALLIWELL, 2018).

Entre os agentes pró-oxidativos, duas classes são essencialmente encontradas nos sistemas biológicos: 1. Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), distribuídos em dois grupos: ERO radicalares – hidroxila ( $\text{HO}^{\bullet}$ ), superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), peroxila ( $\text{ROO}^{\bullet}$ ) e alcóxila ( $\text{RO}^{\bullet}$ ); e ERO não-radicalares – oxigênio single *singlet* ( $\text{O}_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ); 2. Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN) representada pelos elementos óxido nítrico ( $\text{NO}^{\bullet}$ ), peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ), dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2^{\bullet}$ ), e outros agentes nitrosantes (ex.: nitrito –  $\text{NO}_2^-$ ; nitrato –  $\text{NO}_3^-$ ) (GUTTERIDGE e HALLIWELL, 2018; HARDY *et al.*, 2018).

Contra regulando os radicais livres estão os antioxidantes, produzidos pelo organismo ou absorvidos da dieta, que possuem capacidade de regenerar as substâncias por reação de redução ou atenuação do processo de oxidação (GUTTERIDGE e HALLIWELL, 2018; HARDY *et al.*, 2018; BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006). Os antioxidantes endógenos podem ser enzimáticos e não enzimáticos (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006). Dentre os antioxidantes intrínsecos enzimáticos estão o superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx). Por outro lado, entre intrínsecos não enzimáticos estão glutathione, ácido úrico e ubiquinona (PISOSCHI, POP, 2015; BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006). Os antioxidantes extrínsecos, provenientes da dieta, incluem o alfa-tocoferol (vitamina-E), beta-caroteno (pro-vitamina-A), ácido ascórbico (vitamina-C), e compostos fenólicos onde se destacam os flavonóides e poliflavonóides (LIGUORI *et al.*, 2018; PISOSCHI, POP, 2015).

As EROs e/ou ERNs compõem um processo contínuo e fisiológico, cumprindo funções biológicas essenciais para sobrevivência, funcionamento e manutenção da homeostase celular (GUTTERIDGE e HALLIWELL, 2018). No entanto, a produção destas moléculas de maneira crônica, característica do EO, leva a danos diretos ao DNA, membrana e organelas celulares. Essa situação é relacionada a gênese molecular de inúmeras doenças como as cardiovasculares (VAN DER POL *et al.*, 2019; BADIMON *et al.*, 2017). Tal condição é reforçada tanto por estudos pré-clínicos (DIGUET *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2017; DHALLA, HILL e SINGAL, 1996) quanto clínicos (GUAN *et al.*, 2003; SINGH *et al.*, 1996; ARSTALL *et al.*, 1995).

O comportamento hiperfágico, alimentação rica em gorduras saturadas e açúcar refinado, e sedentarismo associados à obesidade atuam como promotores de EO em tecido cardíaco (NIEMANN *et al.*, 2017). Em roedores obesos, marcadores de EO encontram-se em níveis elevados em tecido cardíaco como, por exemplo, espécies reativas oxigênio total (ROS total), malondialdeído (MDA), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e sistemas geradores, como a enzima nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase (APAIJAI *et al.*, 2019; CHESEREK *et al.*, 2016; CHARRADI *et al.*, 2011; NOEMAN, HAMOODA e BAALASH, 2011; VINCENT *et al.*, 2001). Em diversos ensaios pré-clínicos, moléculas antioxidantes foram capazes de contra regular eficientemente o EO, deste modo atenuando danos estruturais no tecido cardíaco (APAIJAI *et al.*, 2019; CHESEREK *et al.*, 2016; CHARRADI *et al.*, 2011). Portanto, tem sido considerado o uso de antioxidantes como uma ferramenta terapêutica no combate ao

EO, diminuiu o risco de doenças cardiovasculares, sendo o controle e combate da obesidade um importante adjuvante desta terapêutica (FRANCISQUETI *et al.*, 2017).

## 1.7 TRATAMENTO DA OBESIDADE

Ao contrário da manutenção do peso (condição preventiva que objetiva atenuar vetores obesogênicos ambientais por meio do controle dietoterápico e incentivo à atividade física), a terapêutica na obesidade é extremamente complexa, de difícil adesão, e necessita de acompanhamento profissional multidisciplinar por longos períodos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). O tratamento convencional da obesidade se baseia na eliminação da gordura corporal excedente, por restrições calóricas e aumento na frequência de atividades físicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Em situações de obesidade severa ou comorbidades, o uso de terapia farmacológica é implementado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

Dado o fato de que a doença implica em alterações neurológicas (VOLKOW, WANG; BALER, 2011) e hormonais (MILLER, 2017) que, respectivamente, afetam campos centrais da motivação (ex.: sistema límbico) e vias hormonais de regulação alimentar (ex: insulina, grelina e leptina), o tratamento convencional apoiado somente na perda de peso não tem se mostrado eficaz. Além disso, em nível molecular, inúmeras vias de sinalização, rotas bioenergéticas e sistemas celulares podem ser alteradas pela obesidade (PALOU, 2000).

De forma a estabelecer um tratamento mais eficaz da obesidade, ferramentas adjuvantes vêm sendo incorporadas focando em seus conhecidos mecanismos fisiopatológicos (HANN, 2011). Entre os fatores moleculares alterados pela obesidade está o cofator enzimático nicotinamida-adenina dinucleotídeo (NAD) (OKABE *et al.*, 2019). Compostos precursores de NAD, como a nicotinamida e o ribosídeo de nicotinamida, tem demonstrado potencial efeito no tratamento da obesidade posicionando-os como alternativas farmacológicas promissoras (GARIANI *et al.*, 2016; PENKE *et al.*, 2015; CANTÓ *et al.*, 2012; YOSHINO *et al.*, 2011).

## 1.8 HISTÓRICO FARMACOLÓGICO DO NICOTINAMIDA-ADENINA DINUCLEOTÍDEO

O nucleosídeo NAD foi descrito pela primeira vez no século passado pelo bioquímico inglês Arthur Harden, identificando-o como uma *co-zimase* de baixo peso molecular responsável pela fermentação de carboidrato em leveduras (HARDEN, 1905). O isolamento e a caracterização estrutural foram descritos, posteriormente, pelo químico sueco Hans von Euler-Chelpin, caracterizando-o quimicamente como uma combinação de Adenosina Monofosfato (AMP) e Mononucleotídeo de Nicotinamida (NMN) (VON EULER, 1999). Em relação à sua funcionalidade, na década de 30, o bioquímico e fisiologista alemão Otto Heinrich Warburg descreveu a capacidade do composto de carrear e dispersar hidrogênios em reações bioquímicas, demonstrando sua participação em reações de oxirredução (WARBURG, 1931). E, finalmente, em 1948, iniciavam-se os estudos para descrição de rotas biosintéticas de NAD pelo bioquímico americano Arhur Kornberg (KORNBERG, 1948).

Estudos envolvendo NAD emergiram em associação ao surgimento da doença pelagra. Inicialmente relatada por Gaspar Casal em 1735, esta doença manifesta-se por lesões cutâneas, problemas gastrointestinais e alterações neurológicas (WAN, MOAT, ANSTEY, 2011). Posteriormente, tal doença foi descrita como consequência de déficit nutricional, sobretudo da vitamina do complexo B3 e/ou do aminoácido essencial triptofano (WAN, MOAT, ANSTEY, 2011; SPIES, BEAN, ASHE, 1939). O envolvimento de NAD na fisiopatologia da pelagra foi relatado na década de 1960, quando Srikantia *et al.* (1968) demonstrou que indivíduos acometidos por pelagra possuíam menor capacidade de sintetizar NAD e nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato (NADP) quando comparados a indivíduos saudáveis.

### 1.8.1 NICOTINAMIDA-ADENINA DINUCLEOTÍDEO

NAD, tanto na forma oxidada ( $\text{NAD}^+$ ) quanto reduzida (NADH), é uma coenzima presente em compartimentos celulares (citoplasma, núcleo e organelas) com atividade sobre o metabolismo energético e redox (glicólise, ciclo tricarboxílico e fosforilação oxidativa). Além dessas, este cofator enzimático está envolvida em mecanismos de sinalização intracelular responsáveis pela deacetilação e ribosilação de compostos

orgânicos, via Sirtuínas (SIRT) e Poli(ADP-Ribose) Polimerase (PARP), respectivamente. Deste modo, NAD regula não apenas estado bienergético como também reparo à danos ao DNA, expressão genica, resposta à inflamação, apoptose e autofagia (OKABE *et al.*, 2019; YANG; SAUVE, 2016). Em indivíduos saudáveis, o conteúdo total de NAD<sup>+</sup> pode chegar a 3g do peso corporal total, envolvendo-se em mais de 500 reações enzimáticas orgânicas essenciais para manutenção da homeostase celular (RAJMAN, CHWALEK, SINCLAIR, 2018).

Em células eucarióticas, NAD<sup>+</sup> encontra-se em forma instável, com alto fluxo de síntese, degradação e reciclagem não apenas no citoplasma, mas também em organelas como mitocôndrias, complexo de Golgi, peroxissomos e em compartimento nuclear (OKABE *et al.*, 2019; YANG e SAUVE, 2016). A concentração plasmática, muscular esquelética e cerebral de NAD<sup>+</sup> em seres humanos saudáveis corresponde a 23.86 nmol/L, 0.45 mmol/kg e 0.27  $\mu$ mol/kg, respectivamente (SEYEDSADJADI *et al.*, 2018; DASH *et al.*, 2008; ZHU *et al.*, 2015). Tecido adiposo, muscular e hepático concentram níveis relativamente altos de NAD<sup>+</sup> (HOUTKOOOPER *et al.*, 2010).



### 1.8.2 Biossíntese do Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo

A biossíntese de  $\text{NAD}^+$  em mamíferos pode ocorrer por meio de processos distintos que removem ou introduzem agrupamentos amino em uma molécula precursora. Em sentido à desaminação, utilizam-se como compostos intermediários o ácido quinurênico (QA) e a vitamina B3 em forma ácida (ex.: ácido nicotínico/niacina – NA). Em paralelo, no processo de aminação, encontra-se a vitamina B3 previamente amidada (ex.: niacinamida/nicotinamida – NAM) e seu análogo ribosídeo de nicotinamida (RN) (FLETCHER, LAVERY, 2018). Coletivamente estes precursores são obtidos por meio da dieta ou pelo próprio *turnover* de  $\text{NAD}^+$ , metabolizados em três rotas centrais, seguindo a via de síntese *de novo*, via *Preiss-Handler*, ou via de reciclagem (ilustrado em Figura 3) (FLETCHER e LAVERY, 2018).

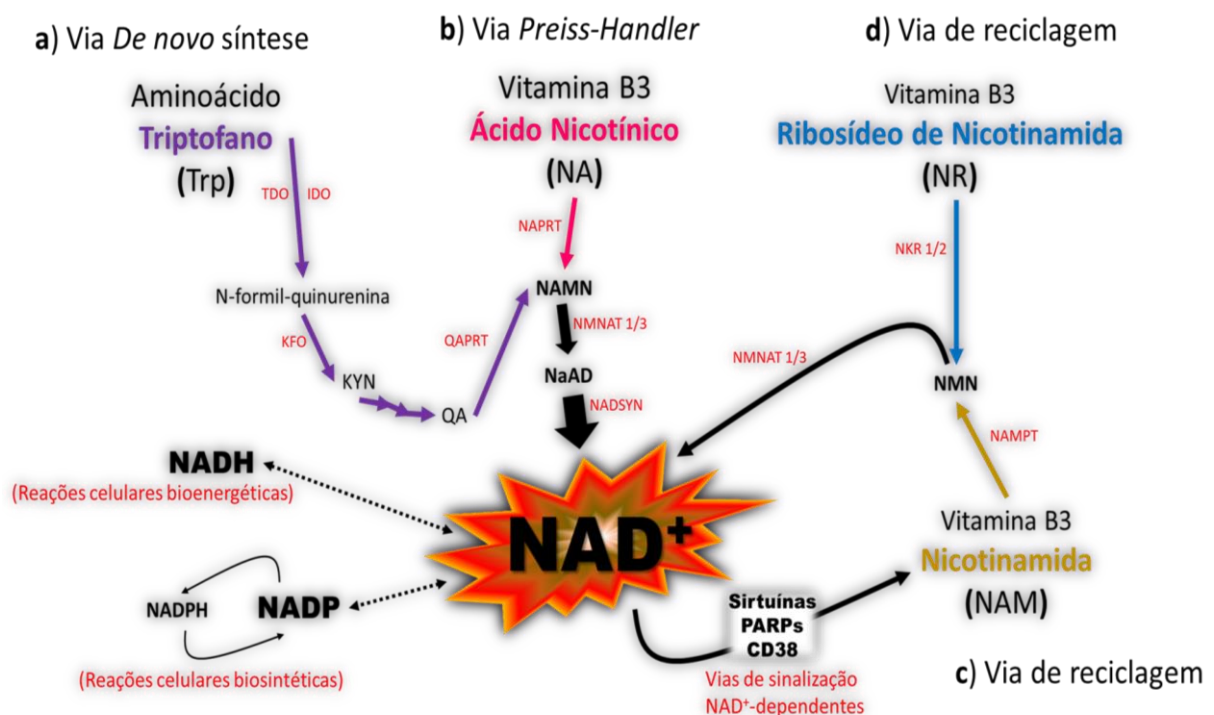
A via de síntese *de novo* integra o processo de desaminação, na qual o intermediário QA, do catabolismo do aminoácido triptofano (Trp), é utilizado para produção de  $\text{NAD}^+$  (FLETCHER e LAVERY, 2018). Trp, assim que biodisponível à célula, sofre clivagem por enzimas com atividade tecido-dependentes, como Triptofano 2,3-dioxigenase (TDO) (fígado) e Indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO) (demais órgãos/tecidos), resultando na formação do metabólito N-formil quinurenina. Tal metabólito é posteriormente convertido à L-quinurenina (KYN) pela ação da enzima Quinurenina formamidase (KFO). KYN por sua vez passa por quatro reações em cadeia, resultando na formação de QA, que é catalisado pela enzima Quinolinato fosforibosiltransferase (QAPRT) dando origem ao ácido nicotínico mononucleotídeo (NAMN) que, posteriormente, é convertido à ácido nicotínico adenina-dinucleotídeo (NaAD) por ação de enzimas da subfamília nicotinamida mononucleotídeo adeniltransferase (NMNAT 1-3). Na última etapa do ciclo, NaAD é aminado por uma  $\text{NAD}^+$  sintase (NADSYN), culminando assim na geração de  $\text{NAD}^+$  intracelular (Figura 3a) (FLETCHER e LAVERY, 2018).

Descrita por Jack Preiss e Philip Handler, os quais conferiram nome a rota, a via *Preiss-Handler* é tida como o processo clássico de síntese de  $\text{NAD}^+$  em vista da suplementação de vitamina B3 (PREISS e HANDLER, 1958). Esta via consiste na degradação do NA em três reações subsequentes: 1. NA é convertido a ácido nicotínico mononucleotídeo (NAMN) pela enzima ácido nicotínico fosforibosiltransferase (NAPRT); 2. NAMN sintetizado é convertido a NaAD por enzimas NMNAT; 3. NaAD, por meio de enzimas NADSYN, é convertido à  $\text{NAD}^+$ . Esta via, nas duas últimas reações,

apresenta mesma trajetória biosintética presente na via de síntese *de novo* NAD<sup>+</sup> (Figura 3b) (FLETCHER e LAVERY, 2018).

Diferente das vias de síntese *de novo* (L-triptofano = QA = NAD<sup>+</sup>) e *Preiss-Handler* (NA = NAD<sup>+</sup>), com pontos iniciais e finais estabelecidos, a via de reciclagem produz NAD<sup>+</sup> por caminhos alternativos e complementares (OKABE *et al.*, 2019). Preferencialmente, a via utiliza o subproduto NAM proveniente de reações celulares NAD<sup>+</sup>-dependentes (mediadas por SIRT, PARP, CD38) ou de NAM proveniente da dieta (IMAI, GUARENTE, 2014). NAM percorre dois caminhos enzimáticos consecutivos.: 1. A enzima nicotinamida fosforribosiltransferase (NAMPT) converte NAM em nicotinamida mononucleotídeo (NMN); 2. Posteriormente, NMN é convertido em NAD<sup>+</sup> por diferentes enzimas NMNATs (Figura 3c). A produção de NAD<sup>+</sup> pela via de reciclagem pode ainda ser influenciada pela presença de RN cujo maquinário enzimático correspondente ao composto, enzimas nicotinamida ribosídeo quinases (NRK), o converte em NMN que, após sintetizado, segue o mesmo caminho final de NAM (ilustrado Figura 3d) (FLETCHER e LAVERY, 2018).

**Figura 3.** Vias biosintéticas de NAD<sup>+</sup>



Fonte: Elaborado pelo autor.

Em linhas gerais, o fígado dispõe de todas as enzimas implicadas às rotas biosintéticas de  $\text{NAD}^+$ , sendo considerado o sítio principal da síntese desse nucleosídeo (FLETCHER e LAVERY, 2018). Entretanto, essa produção local é indisponível aos demais tecidos, pelo fato de  $\text{NAD}^+$  ser relativamente impermeável a membranas e pouco estável quando na corrente sanguínea (OKABE *et al.*, 2019). Alternativamente, vias envolvendo as enzimas NMNAT e NAMPT, expressas em praticamente todos os tecidos periféricos, são as principais envolvidas na síntese de  $\text{NAD}^+$ , dispensando metabolismo de primeira passagem (RAJMAN, CHWALEK e SINCLAIR, 2018; OKABE, YAKU e TOBE, 2019; FLETCHER e LAVERY, 2018).

### **1.8.3 IMPORTANCIA DA NICOTINAMIDA-ADENINA DINUCLEOTÍDEO COMO ALVO TERAPÊUTICO**

Reduções nos níveis de  $\text{NAD}^+$  estão relacionadas, além da pelagra, a doenças crônicas elevando o risco do envelhecimento precoce, transtornos neurodegenerativos, doenças cardiovasculares, alterações ósseas, síndrome metabólica e alguns tipos de câncer (RAJMAN, CHWALEK e SINCLAIR, 2018; YANG e SAUVE, 2016). Um fenômeno não patológico responsável por isto, é o envelhecimento que enfraquece progressivamente as reações metabólicas requerentes de  $\text{NAD}^+$  (AMAN *et al.*, 2018; IMAI, 2009). Por outro lado, na doença, alterações celulares decorrentes da disfunção mitocondrial, inflamação crônica e estresse oxidativo também induzem depleção de  $\text{NAD}^+$  (OKABE *et al.*, 2019). Evidências emergentes apontam que tanto em humanos quanto em animais, a obesidade ou consumo energético alimentar excessivo resultam na redução de concentrações celulares de  $\text{NAD}^+$  (JUKARAINEN *et al.*, 2016; SEYSSEL *et al.*, 2014; GARIANI *et al.*, 2016; PENKE *et al.*, 2015).

Mais recentemente, a família das proteínas SIRT6 (de 1 a 6) vem sendo estudada como possíveis alvos terapêuticos em inúmeras doenças de natureza endócrino-metabólica, particularmente, a obesidade (KANE, SINCLAIR, 2018). A elevada atividade das sirtuínas confere proteção ao tecido-alvo sensibilizado, aumentando o conteúdo mitocondrial citoplasmático, equilibrando o metabolismo oxidativo, protegendo contra alterações metabólicas e danos ao DNA (KANE e SINCLAIR, 2018). Esta sinalização assume funções regulatórias na presença de altos níveis de  $\text{NAD}^+$ , em oposição a condição obesogênica. Deste modo, terapêuticas visando este mecanismo tem

se tornado alvo de investigações. Yoshino *et al.* (2011) e Cantó *et al.* (2012) demonstraram que a suplementação com precursores de NAD<sup>+</sup> induziram efetivamente aumentos na atividade de SIRT1, atenuando danos metabólicos causados pela obesidade em modelo animal.

## 1.9 RIBOSÍDEO DE NICOTINAMIDA

Purificado em 1942 (SCHLENK, 1942), com propriedades biológicas descritas em 1944 (GINGRICH e SCHLENK, 1994) e encontrado em células mamíferas em 1951 (ROWEN e KORNBERG, 1951), o ribosídeo de nicotinamida apenas recentemente foi identificado como um composto precursor de NAD<sup>+</sup> com atribuições terapêuticas em humanos (BIEGANOWSKI e BRENNER, 2004). Este nucleosídeo de piridina, 1-(β-D-ribofuranosil) nicotinamida, com fórmula e peso molecular C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup> e 255.25g/mol, respectivamente (PUBCHEM, 2019), é considerado uma vitamina da classe B3 presente naturalmente em produtos lácteos e derivados alimentícios de levedura (CHI e SAUVE, 2016).

### 1.9.1 RIBOSÍDEO DE NICOTINAMIDA COMO PRECURSOR DE NICOTINAMIDA-ADENINA DINUCLEOTÍDEO

O mecanismo de ação do RN é baseado no impulsionamento do *pool* intracelular de NAD<sup>+</sup> (YANG, SAUVE, 2016). Em linhagens celulares, tais como células-tronco embrionárias de camundongo (AB1), células humanas embrionárias de rim (HEK293) e células de neuroblastoma (N2a), a adição de RN aumentou em 130%, 160% e 270%, respectivamente, o conteúdo citoplasmático deste nucleosídeo (YANG, CHAN e SAUVE, 2007). Cantó *et al.* (2012) observou aumentos significativos de NAD<sup>+</sup> em tecido muscular, hepático e adiposo de roedores após administração oral de 400mg/kg de RN. Sua utilização em indivíduos saudáveis aumenta em 60% o nível NAD<sup>+</sup> em células mononucleares sanguíneas (MARTENS *et al.*, 2018). Em adição, Airhart *et al.* (2017) demonstrou, também em indivíduos saudáveis, um aumento médio de 2 vezes na quantidade de NAD<sup>+</sup> sanguíneo (dia 9) quando comparado ao valor basal (dia 0) após doses diárias crescentes (250mg a 1000mg) de RN. Em estudo clínico, doses diárias de

300mg e 1000mg ao longo de 8 semanas induziram aumento eficaz em níveis de NAD<sup>+</sup> plasmático sem indicação de efeitos adversos significativos (CONZE, BRENNER e KRUGER, 2019).

### 1.9.2 EFEITOS TERAPÊUTICOS DO RIBOSÍDEO DE NICOTINAMIDA

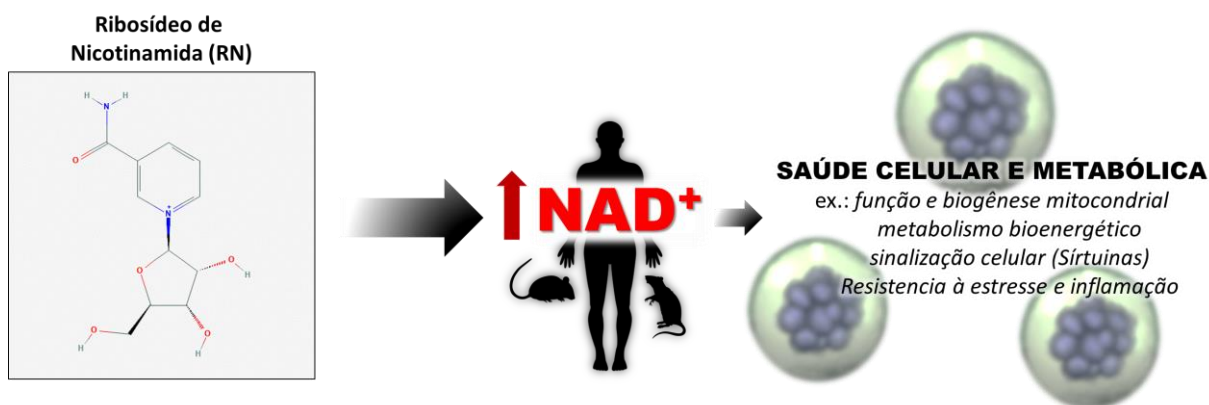
O RN tem sido relacionado a proteção e promoção da saúde metabólica em diversos contextos fisiopatológicos. Em ensaios pré-clínicos (*in vivo*), a administração de RN diminuiu o ganho de peso, atenuou a obesidade e comorbidades associadas, e aumentou a capacidade do tecido adiposo metabolizar substratos energéticos (CONZE, CRESPO-BARRETO e KRUGER, 2016; CANTÓ *et al.*, 2012; SHI *et al.*, 2017). Em doença hepática, a administração de RN preveniu a inflamação e a fibrose tecidual (PHAM *et al.*, 2019; GARIANI *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2015;). Adicionalmente, outros estudos demonstraram reforço na biogênese e função mitocondrial em estrutura muscular esquelética (FREDERICK *et al.*, 2016; KHAN *et al.*, 2014) e melhora na função cognitiva aumentando neuroplasticidade em doença neurodegenerativa (GONG *et al.*, 2013). Entretanto, no contexto patológico obesogênico pouco se sabe sobre os efeitos terapêuticos do RN. Somente cinco trabalhos investigaram os efeitos do consumo do composto sobre dietas hipercalóricas (SHI *et al.*, 2017; GARIANI *et al.*, 2016; TRAMMELL *et al.*, 2016; ZHOU *et al.*, 2016; CANTÓ *et al.*, 2012) e destes, somente Shi *et al.* (2017) e Cantó *et al.* (2012) discutem os efeitos em modelo de obesidade diretamente.

Até o presente momento há poucos estudos clínicos sobre o uso de RN como terapêutica em diferentes contextos. Em revisão manual simples no *PubMED* (01, de julho, 2019), notou-se somente cinco estudos clínicos que avaliaram o efeito da administração oral de RN (DOLLERUP *et al.*, 2018; MARTENS *et al.*, 2018; AIRHART *et al.*, 2017; DELLINGER *et al.*, 2017; TRAMMELL *et al.*, 2016). Em paralelo, no mesmo período, 23 ensaios clínicos de fase 1 e 2 estão registrados na plataforma *ClinicalTrials.gov* e em desenvolvimento (CLINICAL TRIALS, 2019).

O uso clínico de RN tem demonstrado que o composto não apresenta efeitos adversos significativos sendo capaz de elevar os níveis de NAD<sup>+</sup> plasmático eficientemente (DOLLERUP *et al.*, 2018; MARTENS *et al.*, 2018; AIRHART *et al.*, 2017; DELLINGER *et al.*, 2017; TRAMMELL *et al.*, 2016). No entanto, os aspectos

farmacocinéticos, farmacodinâmicos e toxicológicos deste composto ainda não estão completamente elucidados, necessitando de mais estudos tanto pré-clínicos quanto clínicos, buscando maiores evidências que indiquem e suportem com maior robustez a sua utilização na terapêutica clínica, particularmente na obesidade.

**Figura 4.** Estrutura química do Ribosídeo de Nicotinamida e seus efeitos em nível celular



Fonte: Elaborado pelo autor.

## 1.10 MODELOS ANIMAIS DE OBESIDADE

A utilização de animais na pesquisa biomédica, com a finalidade de se compreender os fenômenos biológicos, são extremamente cruciais para manutenção e evolução da saúde da sociedade (ANDERSEN, WINTER, 2017). Além disso, o desenvolvimento de estudos clínicos é frequentemente impossibilitado devido a questões éticas e, por tal motivo, a utilização de modelos pré-clínicos viabiliza e possibilita a busca de novos fármacos, procedimentos e dispositivos médicos (CONN, 2017). Ao que tange o descobrimento de novos fármacos e compostos bioativos, pesquisas pré-clínicas são elementais para avaliação de aspectos farmacodinâmicos, farmacocinéticos e toxicológicos (GREAVES, WILLIAMS e EVE, 2004).

O modelo pré-clínico mais amplamente utilizado para induzir obesidade animal é caracterizada pela modulação dietética na qual animais permanecem expostos a alimentos hipercalóricos padronizados (ex.: ração hiperlipídica) ou hiperpalatáveis comuns à humanos (ex.: alimentos ultra processados e refinados) (ROSINI, DA SILVA, DE MORAES, 2012).

A indução da obesidade por meio de alimentos hiperpalatáveis (frequentemente denominada *Western diet*, *Junk food*, ou dieta de cafeteria) busca a translacionalidade do hábito alimentar ocidental moderno, no qual alimentos como refrigerantes, bolachas recheadas, salgadinhos de milho, embutidos, e bebidas açucaradas são livremente consumidos (NILSSON *et al.*, 2012; ROSINI, DA SILVA e DE MORAES, 2012). Adicionalmente, este modelo possui grande robustez não somente para elucidação da obesidade poligênica, mas também para o estudo da síndrome metabólica, alterações cardiovasculares, hepáticas e neurais associadas a dieta (BUYUKDERE, GULEC e AKYOL, 2019; BORTOLIN *et al.*, 2018; GIL-CARDOSO *et al.*, 2017; JOHNSON *et al.*, 2016).

Em modelos de dieta de cafeteria (CAF), foram relatados aumento da adiposidade e dislipidemia (MACEDO *et al.*, 2012), alterações aos níveis de leptina (DE OLIVEIRA *et al.*, 2014), potencialização de periodontites e doenças associadas (CAVAGNI *et al.*, 2013), desenvolvimento de comportamentos do tipo ansioso e depressivo (DA COSTA ESTRELA *et al.*, 2015) e alterações em níveis centrais de neurotransmissores (MACEDO *et al.*, 2015) e de citocinas inflamatórias (DE OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Como validação ao modelo utiliza-se comumente, em roedores, a comparação do peso corporal total, taxas/índices de ganho de peso, índice de Lee (SIMSON; GOLD, 1982), índice de massa corporal animal (NOVELLIE *et al.*, 2007) e a circunferência abdominal (GERBAIX *et al.*, 2010). Estas métricas, em conjunto, permitem uma análise fidedigna, sem necessidade de eutanásia, do grau de adiposidade e agravos correlatos dos animais obesos induzidos (GERBAIX *et al.*, 2010; NOVELLIE *et al.*, 2007; SIMSON; GOLD, 1982).

## 2. JUSTIFICATIVA

Em vista do rápido crescimento prevalente da obesidade, uma doença de caráter pandêmico e na qual os pacientes frequentemente são refratários ao tratamento convencional, a busca de novas terapias que atuem em mecanismos moleculares e em diferentes rotas de sinalização deve ser estimuladas, buscando desta forma intervir de modo eficiente no processo de doença. Neste sentido, o nucleosídeo  $\text{NAD}^+$  é um importante intermediário do metabolismo que desempenha papel regulador na homeostase celular. Estudos tem demonstrado que, em certas condições fisiopatológicas, ocorre redução do conteúdo intracelular de  $\text{NAD}^+$ , o que pode estar associado à etiologia de doenças metabólicas, sobretudo no contexto obesogênico. Recentemente, investigações pré-clínicas demonstraram, em mamíferos, que o RN é um potente precursor de  $\text{NAD}^+$  celular. Poucos estudos, porém, têm abordado a utilização deste composto como adjuvante no tratamento da obesidade particularmente no possível restabelecimento de  $\text{NAD}^+$  nessa condição. Deste modo, esta dissertação buscou fornecer evidências pré-clínicas sobre o uso de RN na intervenção da obesidade e comorbidades associadas em ratos obesos induzidos por dieta de cafeteria.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.2 OBJETIVO GERAL**

Investigar os efeitos da administração de Ribosídeo de Nicotinamida, isoladamente ou em combinação ao tratamento dietético (restrição calórica), sobre parâmetros relacionado à obesidade em ratos *Wistar* machos adultos induzidos a obesidade pelo modelo de dieta de cafeteria.

##### **3.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

a) Verificar efeitos da administração de RN, isoladamente ou em combinação ao tratamento dietético (restrição calórica), em animais obesos sobre os seguintes parâmetros:

- Biométricos: Índice de Lee; IMC; Circunferência abdominal; Comprimento nasolabial; Peso corporal total; Delta de ganho de peso.
- Pesos brutos e relativos: Tecido adiposo (mesentérico e inguinal); Coração.
- Metabólicos (sérico): Glicose; Triglicerídeos; HDL colesterol; Resistência periférica à insulina (HOMA-IR); Risco cardiometabólico (relação triglicerídeos / HDL-colesterol).
- Oxidativos cardíacos: Lipoperoxidação lipídica (TBARS); Atividade enzimática pró-oxidativa (NADPH oxidase); Atividade enzimática antioxidante (Catalase).
- Inflamatórios hipotalâmicos: TNF- $\alpha$  e IL-10.

#### 4. ARTIGO CIENTÍFICO

### **Nicotinamide riboside in obese Wistar rats improves obesity-related alterations and enhances weight loss in caloric restriction**

Josimar Macedo de Castro<sup>1,2,5</sup>, José Antônio Assumpção<sup>2,4,5</sup>, Dirson João Stein<sup>2,4,5</sup>, Roberta Ströher<sup>1,2,5</sup>, Lisiane Santos da Silva<sup>2,4,5</sup>, Cristina Campos Carrara<sup>3</sup>, Wolnei Caumo<sup>4,5</sup>, Alex Sander da Rosa Araujo<sup>3</sup>, Iraci LS Torres<sup>1,2,3,5\*</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica – Instituto de Ciências Básicas da Saúde- Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratório de Farmacologia da Dor e Neuromodulação: Investigações Pré-clínicas– Departamento de Farmacologia – ICBS – UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>3</sup>Laboratório de Fisiologia Cardiovascular, Departamento de Fisiologia – ICBS – UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>4</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas - Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, - Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>5</sup>Unidade de Experimentação Animal e Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

#### **Funding**

This research was supported by the following Brazilian funding agencies: Research Support Foundation of the State of Rio Grande do Sul - FAPERGS (J.M.de Castro), Doc-Fix 2018/FAPERGS (Dr. J.A. Assumpção), National Council for Scientific and Technological Development–CNPq (Dr. I.L.S. Torres, Dr A.S.R. Araujo, Dr. W. Caumo); Brazilian Committee for the Development of Higher Education Personnel – CAPES (Dr. D.J. Stein, R. Ströher); Graduate Research Group of Hospital de Clínicas de Porto Alegre - GPPG (I.L.S. Torres – Grant #16-0558).

**Declaration of interest** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

\*CORRESPONDING AUTHOR:

Iraci L. S. Torres, PhD  
Departamento de Farmacologia - ICBS, UFRGS.  
Rua Sarmiento Leite, 500 sala 305.  
90050-170 - Porto Alegre, RS, Brasil.  
Phone: +55 (51) 3308 3183.  
Email: iltorres@hcpa.edu.br

**Abstract**

This study aimed to investigate the effects of the nutraceutical nicotinamide riboside (NR), a NAD<sup>+</sup> booster, isolated or combined with caloric restriction (CR), on diet-induced obesity in adult male Wistar rats. 52 animals were offered 6 weeks of the hypercaloric cafeteria (CAF) diet and/or standard lab rodent chow and treated with NR (400mg/kg) associated or not to caloric restriction. Biometric (body mass index, Lee index, body weight, naso-anal length, delta weight gain and abdominal circumference) and metabolic (glucose, insulin, triglycerides and HDLc) parameters, cardiac oxidative stress (TBARS, catalase and NADPH oxidase activity) and neuroinflammation (TNF- $\alpha$  and IL-10) were evaluated. Caloric restriction (CR) was able to reverse obesity and modulate cardiac oxidative stress. The combination of CR and treatment with NR increased weight loss and decreased TNF- $\alpha$  production in hypothalamus. Obese animals treated with NR had lower visceral and subcutaneous body fat mass, lower insulin resistance and a decreased TG/HDLc ratio. Treatment with NR decreased NADPH oxidase activity in both lean and obese rats. Taken together, these results show that NR may be a potent adjuvant, alone or combined with CR, in the treatment of obesity.

**Keywords:** nicotinamide riboside; obesity; metabolic syndrome; cafeteria diet; caloric restriction;

## 1. INTRODUCTION

Obesity currently affects ~19% of people worldwide, negatively impacting expectancy and quality of life. Obesity is classically defined as irregular and excessive accumulation of body white adipose tissue (WAT), distributed in visceral and subcutaneous regions, and ectopically in organs (BLÜHER, 2019). It is also responsible for inducing low-grade systemic inflammation, peripheral insulin resistance (IR) and changes in glucose and lipid metabolism. The clinical diagnosis of obesity is defined by a Body Mass Index (BMI) equal to or higher than  $30\text{kg/m}^2$  (BLÜHER, 2019).

Obesity is a consequence of excessive calorie intake and a lack of effective countermeasures, such as mobilization or expenditure of stored energy (HAN, LEAN, 2016). Environmental (e.g. smoking, pollution) and genetic (e.g. polymorphisms and chromosome abnormality) factors -as well as the socioeconomic context (e.g. access to information, education and awareness - contribute to the etiology of the disease (HAN, LEAN, 2016). The most common associated comorbidities are type 2 diabetes mellitus (T2DM), metabolic syndrome (MS), respiratory and musculoskeletal diseases, and cancer (BLÜR, 2019; HEYMSFIELD, WADDEN, 2017). Accompanied by hypertriglyceridemia, alterations in low- and high-density (LDLc and HDLc) serum lipoproteins, insulin resistance and systemic inflammation, the increased body adiposity triggers cardiovascular diseases (CVD) (MANNA, JAIN, 2015), also being related to the development of neurological disorders (D O'BRIEN et al., 2017).

Reportedly, cardiovascular risk has been associated not only to obesity, but also oxidative stress (OS) (BRUNELLI, LA RUSSA, PELLEGRINO, 2017; KEANEY JR et al., 2003). OS is defined as an imbalance between the generation of reactive oxygen (ROS) and nitrogen species (RNS), and the capability of endogenous antioxidants to counteract their deleterious effects (MANNA, JAIN, 2017). In agreement with the interplay between obesity, oxidative stress and cardiovascular diseases, animal models of diet-induced obesity show oxidative damage in the rodent heart (NOEMAN, HAMOODA, BAALASH, 2011; BALLAL et al., 2010).

The obese phenotype also induces alterations in the central nervous system, including neuroinflammation, impairment of cognitive function and alterations in the neuroendocrine control, while also precipitating the development of neuropsychiatric diseases (D O'BRIEN et al., 2017; HEYMSFIELD, WADDEN, 2017). In the brain, the hypothalamus' microglial activation promotes local inflammation due to an increase in circulating levels of WAT-related adipokines and intestinal dysbiosis-related chemokines (MENDES et al., 2018). Furthermore, proinflammatory mediators, such as tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), and anti-inflammatory cytokines, such as interleukin-10 (IL-10), are respectively increased and decreased in the hypothalamus of animals submitted to hypercaloric and hyper lipidic diets (GUILLEMOT-LEGRIS, MUCCIOLI, 2017).

While treating obesity and obesity-related comorbidities, therapeutic interventions focus on body fat loss. Treatments include behavioral therapy, pharmacotherapy, and bariatric surgery. Additionally, natural food-derived compounds have been shown to act as potent adjuvants in the treatment of obesity (BLÜR, 2019; HEYMSFIELD, WADDEN, 2017). Recent studies reported biological activities of nicotinamide riboside (NR), a vitamin B3 analogue (nicotinic acid and nicotinamide) present in dairy products and yeast derivatives (KHAN et al., 2014). NR-supplemented rodents show delayed weight gain (CANTÓ et al., 2012), improved oxidative metabolism on WAT (SHI et al., 2017) and improved mitochondrial function and biogenesis (KHAN et al., 2014). Also, in an experimental model of sepsis and endotoxemia, treatment with NR prevented cardiac cellular oxidative damage in mice (HONG et al., 2018), while in an animal model of Alzheimer's disease, treatment with NR improved cognitive function and modulated synaptic plasticity (GONG et al., 2013). Furthermore, NR is a potent nicotinamide-adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>) precursor, a key intermediary for modulating cellular and metabolic health through cellular signaling pathways, including the activation of the sirtuin pathway (SIRT) (CANTÓ et al., 2012).

This study aimed to investigate the effects of oral administration of NR - isolated or combined to caloric restriction - upon adiposity, neuroinflammation

and cardiac oxidative stress parameters on a model of diet-induced obesity in male Wistar rats.

## 2. MATERIALS AND METHODS

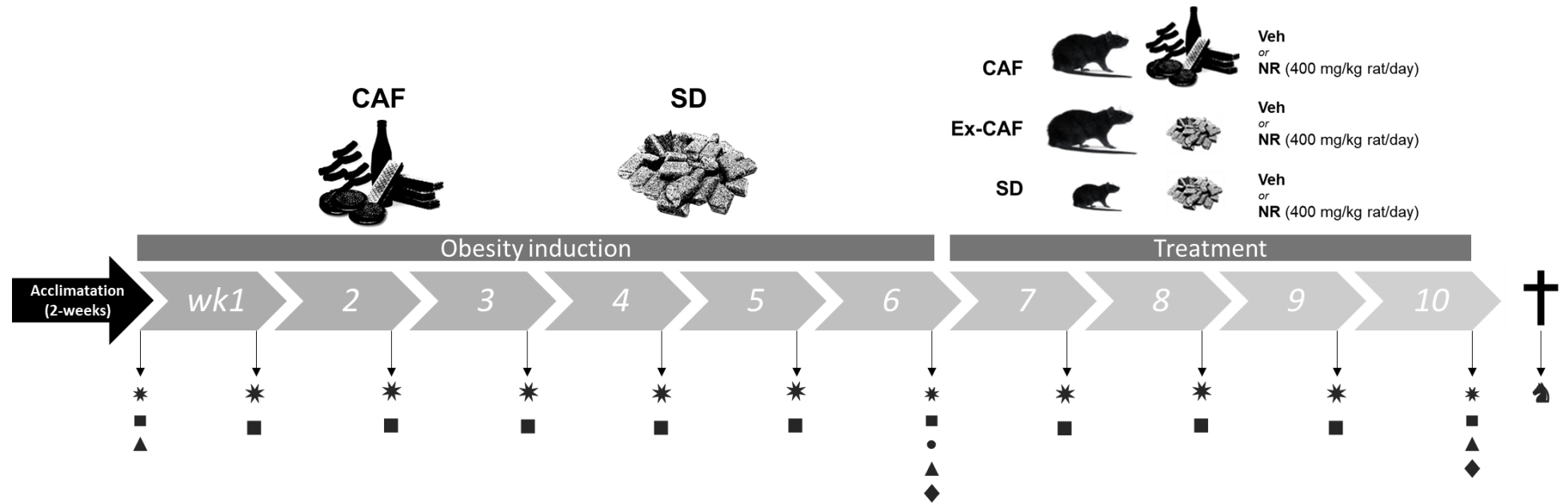
### 2.1 *Animals*

A total of 52 adult male Wistar rats (60 - 67 days old; ranging from 250 to 300g) from the Center for Reproduction and Experimentation of Laboratory Animals of the Federal University of Rio Grande do Sul (CREAL/UFRGS, Rio Grande do Sul, Brazil) were used in this study. Individuals were randomly distributed (based on body weight) and housed in groups of 3 to 4 rats per polypropylene cage (49x34x16cm) with sawdust-covered floors. All animals were maintained in a controlled environment ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ;  $50\pm 5\%$  air humidity), under a standard light-dark cycle (lights-on at 7 a.m. and lights-off at 7 p.m.), with *ad libitum* water and rodent chow (Nuvital®, Curitiba, Brazil). Experiments and procedures were approved by the Institutional Committee for Animal Care and Use (GPPG-HCPA protocol#2018-0049) and were performed in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8<sup>th</sup> ed. 2011) and Law #11.794 (Brazil, 2008). The experimental protocol complied with the ethical and methodological standards of the ARRIVE guidelines (Kilkenny et al., 2010). The number of animals used in the experiments was the minimum required to produce reliable scientific data.

### 2.2 *Experimental Design*

Before starting the experiments, rats were acclimated to the maintenance room for two weeks. The study lasted 10 weeks, divided into two experimental periods: obesity induction and treatment. Initially, rats were divided into two groups: standard diet (SD; n=18) and hypercaloric (cafeteria) diet (CAF; n=34). Obesity induction in animals fed with hypercaloric diet lasted for 6 weeks. Subsequently, SD and CAF animals were subdivided into 6 subgroups: standard diet plus vehicle (SD+Veh; n=9); standard diet plus NR (SD+NR; n=9); cafeteria diet withdrawal plus vehicle (Ex-CAF+Veh; n=8); cafeteria diet withdrawal plus NR (Ex-CAF+NR; n=8); cafeteria diet plus vehicle (CAF+Veh; n=9); cafeteria diet

plus NR (CAF+NR; n=9). In this period, groups were exposed to therapeutic intervention for 28 days (from week 7 to week 10). Rats were euthanized by decapitation after 24h of the end of treatment. Throughout the experiment, body weight and naso-anal length were weekly evaluated. Lee Index and BMI were evaluated before treatment and at weeks 7 and 10. Abdominal circumference was evaluated after the obesity-induction period. The SD and the CAF were daily replaced with fresh ingredients (Figure 1).



**Figure 1.** Experimental design. wk - week; CAF - cafeteria diet; SD - standard diet; Ex-CAF - caloric restriction; Veh - vehicle; NR - nicotinamide riboside; \* body weight; ■ naso-anal length; ▲ Lee index and BMI; ◆ delta weight gain; ● abdominal circumference; † euthanasia; ♀ collection and weighing of biological structures/materials; † euthanasia.



### 2.3 *Diet-Induced Obesity (Cafeteria diet)*

Obesity induction was done using a hypercaloric diet protocol (CAF), which consists on offering densely caloric and highly palatable foods common to humans, mimicking western-eating habits (SAMPEY et al., 2011). The CAF model was adapted from previous studies (DE OLIVEIRA et al., 2019; MACEDO et al., 2012) in order to reinforce caloric density and lipid content. Thus, in addition to offer foods such as cookies, wafers, sausages, chips, condensed milk and soda, we included sweet milk, chocolate, bacon and bologna (supplementary table S1). Hypercaloric nutritional values were as follows: 10.2% kcal/protein; 48.3% kcal/carbohydrates; 41.5% kcal/lipids; 1.43% g/fiber; 0.75% g/sodium. Weekly dietary patterns were diversified in order to avoid saturation of diet palatability. The obesity-induction period was established for 6 weeks according to previous works by our research group, which conducted the diet for the same period and effectively evidenced the obese phenotype in animals (DE OLIVEIRA et al., 2019; MACEDO et al., 2012). Animals from the control group (SD) received standard chow (NuvilabCR-1, NUVITAL®, Curitiba, PR, Brazil), providing 2.6 kcal/g, each gram being nutritionally composed of 44.5% carbohydrates, 22% protein, 4% lipids, 7% fiber, 0.27% sodium, and other micronutrients (vitamins and minerals). Both CAF and SD animals obtained the dietary constituents freely dispensed over the cage. Caloric consumption was measured as described by Oliveira et al. (2015), with foods being weighed (offered and residual) and replaced daily.

### 2.4 *Nicotinamide Riboside treatment*

The dietary therapeutic intervention started after 6 weeks of the diet-induced obesity and lasted 28 days. NR or vehicle administration was performed in the light cycle (between 11 a.m. and 13 p.m.), with animals always being handled by the same researchers. Active treatment consisted of oral administration (gavage) of Nicotinamide Riboside Chloride (NR) (ChromaDex Corporate, Irvine, CA, USA) at a dose of 400 mg/kg (GARIANI et al., 2016; CANTÓ et al., 2012). It is estimated that 400 mg/kg in rodents is equal to 41.54mg/kg body weight in humans (NAIR, JACOB, 2016), considering the NOAEL and LOAEL values, which determine the range between effectiveness and toxicity (300 and 1000 mg/kg body weight, respectively) (CONZE, CRESPO-

BARRETO, KRUGER, 2016). The control group received distilled water (0.5mL/kg).

## 2.5 *Biochemical, hormonal and insulin resistance analyzes*

Rats were euthanized by decapitation 24h after the end of treatment (under 12h of fasting). This interval is required for insulin resistance calculation (ANTUNES et al., 2016). Adipose (mesenteric and inguinal region), cardiac and hypothalamic structures were collected weighed using a semi-analytical balance and stored at -80°C. Blood was centrifuged (10 min, 5000RPM, 5°C) for serum separation, collection and storage at -80°C. Glucose, triglycerides and HDL-cholesterol analyzes were performed by closed-loop photometric assays (Cobas® c 702). Serum insulin levels were measured using the commercially available Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method (Sigma-Aldrich, Rat Ins1; RAB0904-1KT). Experiments were performed according to the manufacturer's instructions. Insulin resistance was determined using the Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR), calculated by the formula  $[HOMA-IR = (\text{serum insulin (mmol/L)} * \text{serum glucose (mmol/L)}) / 22.5]$  according to Antunes et al. (2016).

## 2.6 *Oxidative Stress analyzes in the heart*

Total heart was homogenized in an ultra-Turrax blender using 1g of tissue for 5mL of 150mmol/L potassium chloride added to 20mmol/L phosphate buffer, pH 7.4. Homogenates were centrifuged at 1000G for 20min at -2°C, as described by Llesuy et al. (1985). Catalase (CAT) enzyme activity was determined in heart homogenates through the decrease in absorption of hydrogen peroxide (AEBI, 1984). Measurement of NADPH oxidase activity was assayed by spectrophotometry, as described by WEI et al., 2006. Lipid oxidative damage was determined in heart homogenates by the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) method, as described by Ohkawa & Yagi (1979).

## 2.7 *Neuroinflammatory analysis in hypothalamus*

IL-10 and TNF- $\alpha$  production were determined using standard sandwich ELISA protocol (R&D Systems, Minneapolis, USA). Total protein was measured by Bradford method using bovine serum albumin as standard.

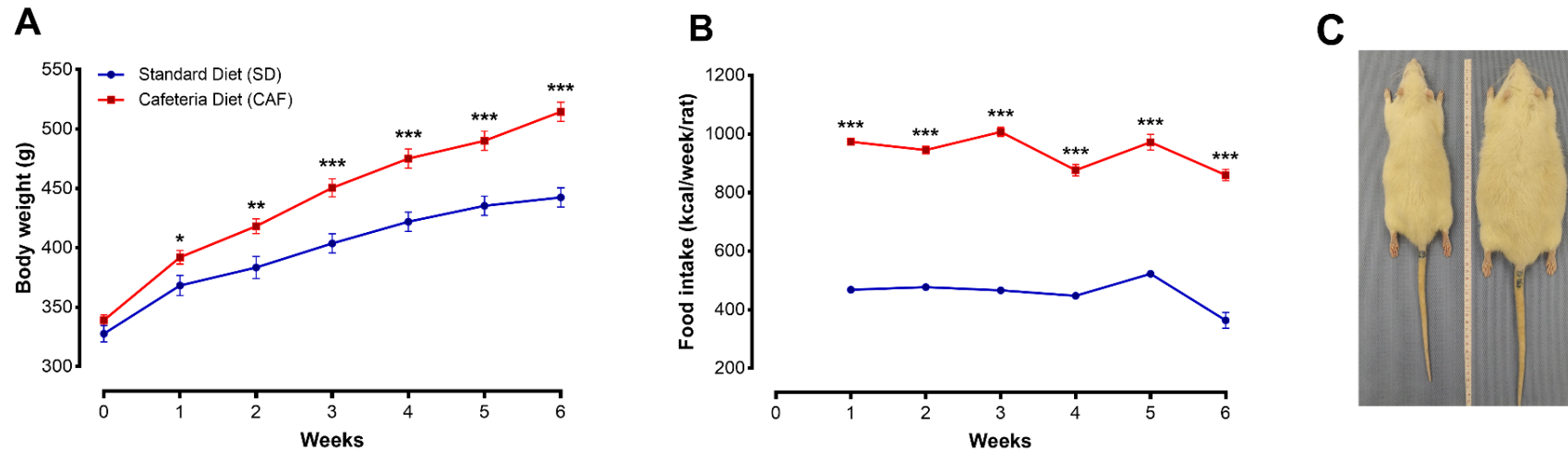
## 2.6 *Statistics*

The distribution of variables was calculated by Shapiro-Wilk test and reinforced by histogram analysis. Assuming normality, 1-way ANOVA (model induction period) or 2-way ANOVA (diet x treatment) were applied. For non-parametric analysis, the Mann-Whitney test (treatment effect) and Kruskal-Wallis test (diet effect) were used. Outcome variables with repeated measurements were examined using multivariable linear regression analysis with generalized estimating equations (GEE). SPSS version 20 software (BM Corporation, Somers, NY) was used for data evaluation. Results were expressed as mean + standard error of the mean (SEM). Statistically significant differences were considered when  $p < 0.05$ .

# 3. RESULTS

## 3.1 *Cafeteria diet for 6 weeks induces obesity*

Exposure to 6 weeks of CAF diet induces an obesity phenotype. Rats submitted to CAF diet consumed significantly more calories than those exposed to standard diet (SD) (Figure 2B; Table. 1A). CAF groups consumed 215% more calories than the SD groups. Animals from the CAF group exhibited significantly higher body weight than animals from the SD group, and this difference started as early as the first week and increased over the following five weeks (Figure 1A). Lee's index, BMI, circumference abdominal and delta weight were increased in the CAF group compared to the SD group (Table 1), confirming the induction of the obese phenotype in the CAF group. Additionally, CAF animals showed larger naso-anal body length when compared to the SD group (Table 1).



**Figure 2.** Body weight and food intake of animals during Diet-Induced Obesity by cafeteria diet. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M. Significance test one-way ANOVA  $P < 0.05$ . A) Average weight throughout 6 weeks. B) Average caloric intake over 6 weeks. C) Representative illustration of animals from each group at the end of 6 weeks (As a criterion for photography, the average Lee index was used in each group, the animal with the index closest to its respective group index was selected. The photograph was recorded in carefully anesthetized live animals).

**Table 1.** Biometric and dietary characteristics among animals submitted to Diet-Induced Obesity (DIO) between the first and last week of model.

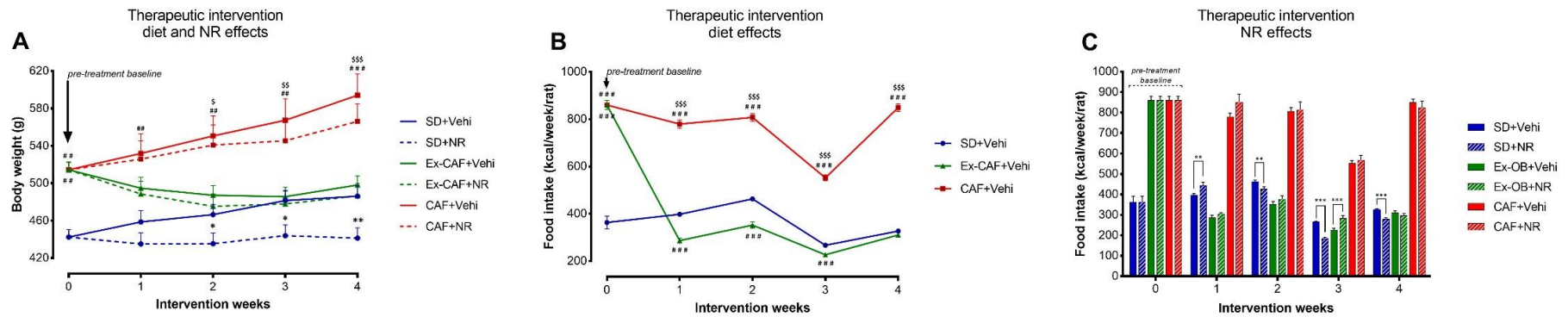
Parameters	Standard Diet	Cafeteria Diet	<i>P</i> Value
<b>Biometric</b>			
Delta body weight wk6 (g)	114.5 ± 4.8	174.5 ± 5.8	<b>.000</b>
Abdominal circumference wk6 (cm)	11 ± 0.2	20.8 ± 0.4	<b>.000</b>
Naso-anal length wk0 (cm)	22.5 ± 0.2	22.9 ± 0.1	.235
Naso-anal length wk6 (cm)	24.3 ± 0.1	25.4 ± 0.1	<b>.000</b>
Lee index wk0	3.05 ± 0.02	3.04 ± 0.02	.719
Lee index wk6	3.11 ± 0.01	3.15 ± 0.01	<b>.038</b>
BMI wk0	64.24 ± 0.99	64.41 ± 0.87	.907
BMI wk6	74.49 ± 1.13	79.59 ± 0.97	<b>.002</b>
<b>Dietary</b>			
Energy intake (kcal/week/rat)	457.4 ± 9.8	938.8 ± 12.2	<b>.000</b>
Kilocalories per gram	2.6	5.3	-
Carbohydrate (%/kcal)	52.7	48.3	-
Protein (%/kcal)	33.6	10.2	-
Lipid (%/kcal)	13.7	41.5	-
Fiber total (g/week/rat)	12.2	2.5	-
Sodium (mg/week/rat)	485.9	1312.6	-
Soda (ml/week/rat)	-	210.8	-
Water (ml/week/rat)	270.8	137.0	-

Data are presented as mean ± S.E.M. Significance test one-way ANOVA  $P < 0.05$ . wk0 – initial week DIO; wk6 – final week DIO; BMI – body mass index; g – gram; mg – milligram; ml – milliliter; cm – centimeters; % - percentage; kcal – kilocalories. Weight delta calculation ( $\Delta$  g/rat = final body weight (wk6) - initial body weight (wk0)).

### 3.2 *Effects of dietary intervention and treatment with nicotinamide riboside on caloric intake and body weight*

After six weeks of obesity induction, animals from the Ex-CAF+Veh and Ex-CAF+NR groups had CAF removed from their diet and were offered standard chow for the 4 subsequent weeks (Table 1). This dietary intervention decreased approximately 68.5% the average caloric consumption when compared to the amount consumed by CAF. In the first three weeks of intervention, calorie-restricted animals consumed significantly fewer calories than obese (CAF+Veh) and eutrophic (SD+Veh) rats. However, in the last week, the Ex-CAF+Veh group presented similar consumption to eutrophic animals (SD+Veh), but lower than obese animals (CAF+Veh). Animals maintained exclusively on the CAF diet (CAF+Veh) continued to consume significantly more calories than eutrophic animals (SD+Veh) during all four weeks (Figure 3B). Caloric restriction induced gradual weight loss throughout the intervention phase. In the second week of intervention Ex-CAF+Veh showed reversal of total body weight, sustained until the tenth week. Obese animals (CAF+Veh) presented significantly higher body weight than eutrophic animals (SD+Veh) during the four weeks of intervention (Figure 2A).

NR treatment in eutrophic animals was found to increase food intake in the first week, but decreased it in the following three weeks (SD+Veh vs SD+RN). In calorie-restricted animals, NR treatment increased energy intake in the third week (Ex-CAF+Veh vs Ex-CAF+RN). NR had no effect upon energy intake of obese animals (CAF+Veh vs CAF+NR) (Figure 3C). NR treatment induced slower weight gain on eutrophic animals (SD+Veh vs SD+NR). Such finding was observed from the second week until the fourth week of treatment (Figure 3A).



**Figure 3.** Effects of diets and nicotinamide riboside on body weight and food intake in the therapeutic intervention period. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M. Significance test two-way ANOVA  $P < 0.05$ , when interaction (diet  $\times$  treatment,  $P < 0.05$ ) for dietary effects were compared (SD+Veh  $\times$  Ex-CAF +Veh  $\times$  CAF+Veh) and treatment effects were compared (Veh vs NR within each diet group). A) Effects of diet and NR on animal weight during 4 weeks of treatment. B) Effect of diets on animal consumption during 4 weeks of treatment. C) Caffeine effect on animal consumption during 4 weeks of treatment.

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  NR group vs Veh group within respective diet group.

# $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$  Different from SD+Veh group.

\$ $P < 0.05$ , \$\$ $P < 0.01$ , \$\$\$ $P < 0.001$  Different from Ex-CAF+Veh group

### *3.3 Effects of dietary intervention and treatment with nicotinamide riboside on biometric parameters*

Animals from the calorie restriction group (Ex-CAF+Veh) showed a reversion of the obese phenotype, evidenced by lower Lee index and BMI when compared to obese animals (CAF+Veh). In addition, Ex-CAF+Veh animals showed an average weight loss of 7 grams after 4 weeks of intervention, demonstrated by the delta weight gain analysis. The naso-anal length in the Ex-CAF+Veh animals was larger than in the SD+Veh group. After four weeks of intervention, obese animals (CAF+Veh) showed significantly higher values of Lee Index, BMI, naso-anal length and delta weight gain than eutrophic animals (SD+Veh) (Table 2)

NR administration in eutrophic animals decreased delta weight gain (SD+Veh vs SD+NR). In calorie restriction, NR increased body weight loss in 3.4-fold, as demonstrated by the weight gain delta (Ex-CAF+Veh vs Ex-CAF+NR). In the obese group, treatment with NR decreased Lee index and increased delta weight gain, leading to decreased obese phenotype (Table 2).



**Table 1.** Effects of diets and nicotinamide riboside on biometric parameters, organ weight and metabolic profile in the therapeutic intervention period.

Parameters	SD		Ex-CAF		CAF	
	Veh	NR	Veh	NR	Veh	NR
<b>Biometric</b>						
Delta body weight wk10 (g)	36.9 ± 4.1	<b>9.1 ± 1.5 ***</b>	<b>-7.2 ± 4.8 ###</b>	<b>-24.8 ± 6.5 **</b>	<b>76.1 ± 6.1### \$\$\$</b>	<b>43.7 ± 5.0 ***</b>
Naso-anal length wk6 (cm)	24.3 ± 0.1	24.3 ± 0.2	25.5 ± 0.1	25.2 ± 0.3	25.5 ± 0.2	25.3 ± 0.2
Naso-anal length wk10 (cm)	25.1 ± 0.1	24.6 ± 0.1	<b>25.8 ± 0.1 #</b>	25.6 ± 0.2	<b>26.1 ± 0.2 ##</b>	26.3 ± 0.2
Lee index wk6	3.11 ± 0.0	3.11 ± 0.0	<b>3.14 ± 0.0 #</b>	3.16 ± 0.3	<b>3.13 ± 0.0 ##</b>	3.17 ± 0.1
Lee index wk10	3.12 ± 0.0	3.06 ± 0.0	3.06 ± 0.0	3.06 ± 0.0	<b>3.21 ± 0.0 # \$\$\$</b>	3.17 ± 0.1
BMI wk6	75.4 ± 1.7	73.5 ± 1.4	77.4 ± 2.3	80.4 ± 2.4	79.1 ± 1.5	81.1 ± 1.6
BMI wk10	76.7 ± 1.3	72.5 ± 1.6	74.4 ± 1.7	74.0 ± 1.6	<b>86.9 ± 2.3 ## \$\$\$</b>	81.7 ± 2.6
<b>Organ Weight</b>						
mWAT (g)	2.35 ± 0.3	2.33 ± 0.2	4.36 ± 0.6	3.26 ± 0.3	<b>13.8 ± 1.3 ### \$\$\$</b>	<b>8.11 ± 0.7 ***</b>
mWAT (%)	0.48 ± 0.0	0.52 ± 0.0	<b>0.86 ± 0.1 #</b>	0.67 ± 0.0	<b>2.29 ± 0.1 ### \$\$\$</b>	<b>1.42 ± 0.1 ***</b>
ingWAT (g)	3.29 ± 0.4	3.48 ± 0.3	3.18 ± 0.4	2.98 ± 0.3	<b>10.6 ± 1.6 ### \$\$\$</b>	<b>6.30 ± 0.8 **</b>
ingWAT (%)	0.67 ± 0.0	0.80 ± 0.1	0.64 ± 0.0	0.61 ± 0.0	<b>1.81 ± 0.2 ### \$\$\$</b>	<b>1.11 ± 0.1 **</b>
Heart (g)	1.54 ± 0.0	<b>1.38 ± 0.0 *</b>	1.53 ± 0.0	1.48 ± 0.0	<b>1.73 ± 0.0 # \$</b>	1.64 ± 0.0
Heart (%)	0.31 ± 0.0	0.31 ± 0.0	0.30 ± 0.0	0.30 ± 0.0	0.29 ± 0.0	0.29 ± 0.0
<b>Metabolic</b>						
Glucose (mg/dl)	112.8 ± 2.8	<b>123.4 ± 2.4 *</b>	120.6 ± 3.2	113.3 ± 3.1	<b>128.7 ± 0.6 ##</b>	121.6 ± 4.7
Insulin (µIU/ml)	7.67 ± 0.5	7.18 ± 0.7	9.11 ± 0.6	7.99 ± 0.8	<b>15.2 ± 2.9 #</b>	11.7 ± 1.4
Triglycerides (mg/dl)	78.0 ± 7.3	80.0 ± 5.8	70.1 ± 7.0	<b>110.7 ± 14.2 *</b>	<b>137.5 ± 12.9 ## \$\$\$</b>	120.8 ± 12.7
HDLc (mg/dl)	57.2 ± 3.6	57.6 ± 3.8	51.0 ± 1.3	54.8 ± 4.0	<b>40.3 ± 2.3 ##</b>	50.1 ± 5.9
HOMA-IR	2.08 ± 0.1	2.17 ± 0.2	2.60 ± 0.1	2.16 ± 0.2	<b>6.24 ± 0.7 ### \$</b>	<b>3.60 ± 0.4 **</b>
TG/HDLc	1.39 ± 0.1	1.40 ± 0.0	1.38 ± 0.1	2.02 ± 0.2	<b>3.64 ± 0.6 #####</b>	<b>2.27 ± 0.2 **</b>

Data are presented as mean ± S.E.M. Significance test two-way ANOVA  $P < 0.05$ , when interaction (diet x treatment,  $P < 0.05$ ) for dietary effects was compared (SD+Vehi x Ex-CAF +Vehi x CAF+Vehi) and treatment effects was compared (Vehi vs NR within each diet group). BMI – body mass index; mWAT – mesenteric white adipose tissue; ingWAT – inguinal white adipose tissue; HDLc – high-density lipoprotein cholesterol; TG/HDLc – ratio of triglycerides to high-density lipoprotein cholesterol; wk6 – initial week therapeutic intervention; wk10 – final week therapeutic intervention; g – gram; mg – milligram; dl – deciliter; µIU – microunits; cm – centimeters; % - percentage;. Weight delta calculation ( $\Delta$  g/rat = final body weight (wk6) - initial body weight (wk0)).

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  NR group vs Veh group within respective diet group.

# $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$  Different from SD+Veh group.

\$ $P < 0.05$ , \$\$ $P < 0.01$ , \$\$\$ $P < 0.001$  Different from Ex-CAF+Veh group

### *3.4 Effects of dietary intervention and treatment with nicotinamide riboside on adipose tissue and cardiac structure weight*

Caloric restriction (Ex-CAF+Veh) promoted significant decreases in inguinal and mesenteric WAT when compared to obese animals (CAF+Veh). When compared to eutrophic animals (SD+Veh) the Ex-CAF+Veh group showed higher relative mWAT weight. As expected, obese animals (CAF+Veh) showed significant increases in all adiposity parameters when compared to the SD+Veh group. Moreover, obese animals had a larger heart size when compared to the group of eutrophic and calorie-restricted animals (Table 2).

NR administration in obese animals attenuated adiposity, decreasing relative and absolute weight of inguinal and mesenteric WAT (CAF+Veh vs CAF+NR). In animals with caloric restriction there was no effect of NR treatment (Ex-CAF + Veh vs Ex-CAF + NR). In eutrophic animals, treatment with NR decreased absolute heart weight (SD+Veh vs SD+NR) (Table 2).

### *3.5 Effects of dietary intervention and treatment with nicotinamide riboside on metabolic parameters*

Animals from the Ex-CAF+Veh group showed lower TG levels, lower TG/HDL ratio and IR when compared to obese animals (CAF+Veh). There were no differences in other analyzed metabolic parameters between the Ex-CAF+Veh group and the CAF+Veh group. Obese animals, when compared to eutrophic animals, showed higher TG, glucose and insulin serum levels. (Table 2).

In eutrophic animals, treatment with NR elevated serum glucose levels (CAF+Veh vs CAF+NR). In animals under caloric restriction, NR treatment increased TG serum levels (Ex-CAF+Veh vs Ex-CAF+NR). In obese animals, treatment with NR decreased the TG/HDL ratio and IR (CAF+Veh vs CAF+NR) (Table 2).

### *3.6 Effects of dietary intervention and treatment with nicotinamide riboside on parameters of oxidative stress in cardiac structure*

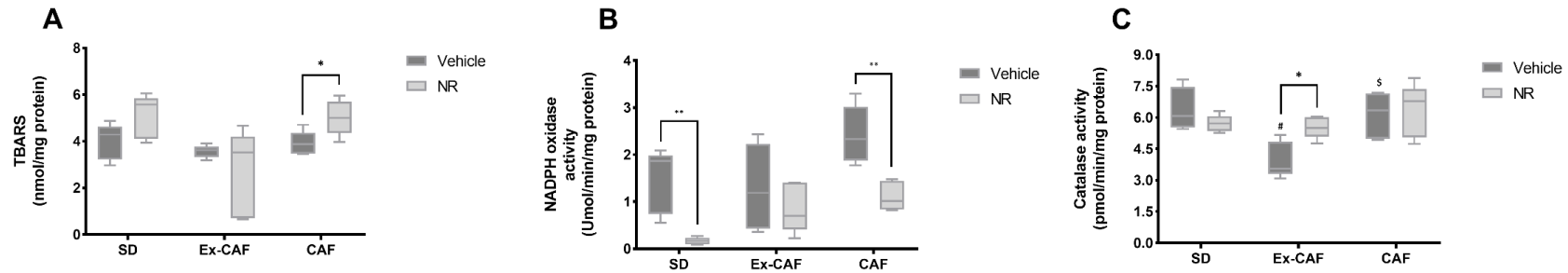
Catalase enzyme activity was lower in the Ex-CAF+Veh group when compared to obese (CAF+Veh) and eutrophic (SD+Veh) groups. There was no

difference in other analyzed oxidative stress' biomarkers between SD+Veh and CAF+Veh groups (Figure 4).

Treatment of eutrophic animals with NR decreased NADPH oxidase activity (SD+Veh vs SD+NR), with no effect on the other biomarkers. In animals under caloric restriction, treatment with NR increased catalase activity (Ex-CAF+Veh vs Ex-CAF+NR). In obese animals, treatment with NR decreased the NADPH oxidase activity and increased TBARS, a biomarker for oxidative damage (CAF+Veh vs CAF+NR) (Figure 4).

### *3.7 Effects of dietary intervention and treatment with nicotinamide riboside on TNF- $\alpha$ and IL-10 production in hypothalamus*

There was no difference between SD+Veh, Ex-CAF+Veh and CAF+Veh groups in the neuroinflammatory parameters in the hypothalamus. NR treatment in the caloric restriction group decreased TNF production in the hypothalamus, with no effect in other groups (Figure 5)

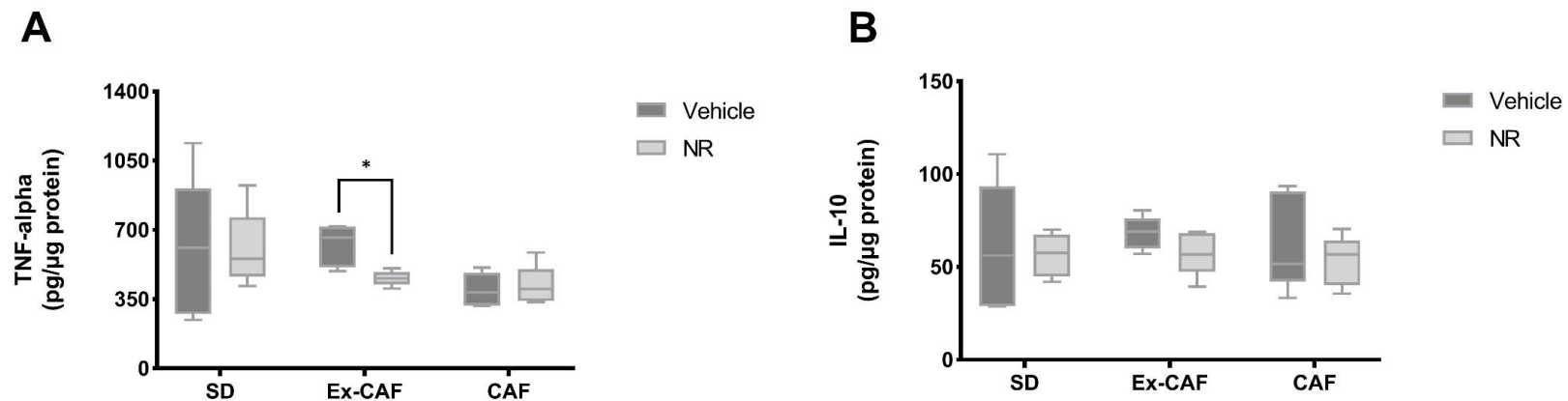


**Figure 4.** Effects of diet and NR on cardiac redox balance in animals. Kruskal-Wallis test was used to analyze dietary effect (adjusting comparison between SD + Vehi x Ex-CAF + Vehi x CAF + Vehi), and Mann-Whitney was used for caffeine effect (adjusting Vehi vs NR comparison within each diet group). A) Effects of diet and NR on lipoperoxidation biomarker - TBARS. B) Effects of diet and NR on free radical producing enzyme - NADPH oxidase. C) Effects of diet and NR on antioxidant enzyme - catalase.

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  NR group vs Vehi group within respective diet group.

# $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$  Different from SD+Vehi group.

$\$P < 0.05$ , \$\$ $P < 0.01$ , \$\$\$ $P < 0.001$  Different from Ex-CAF+Vehi group.



**Figure 5.** Effects of diet and NR on hypothalamic neuroinflammation in animals. Kruskal-Wallis test was used to analyze dietary effect (adjusting comparison between SD + Vehi x Ex-CAF + Vehi x CAF + Vehi), and Mann-Whitney was used for caffeine effect (adjusting Vehi vs NR comparison within each diet group). A) Effects of diet and NR on cytokine tumor necrosis factor-alpha. B) Effects of diet and NR on cytokine interleukin-10.

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  NR group vs Vehi group within respective diet group.

# $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$  Different from SD+Vehi group.

$\$P < 0.05$ , \$\$ $P < 0.01$ , \$\$\$ $P < 0.001$  Different from Ex-CAF+Vehi group.

#### 4. DISCUSSION

In this study we demonstrated that Wistar rats exposed to human-like obesogenic dietary patterns for 10 weeks show an increase in energy intake, weight, visceral adiposity and total body fat. In addition, these animals showed an increase in the size of the heart along with the presence of metabolic syndrome (MetS), IR and high TG/HDLc content, suggesting a situation similar to left ventricular hypertrophy (LVH) disease. LVH is defined by pathological cardiac hypertrophy, clinically observed by the increase in total heart volume (HAN, LEAN, 2016). Other preclinical studies (CHEN et al., 2018; LEOPOLDO et al., 2010) with animal model of obesity, using different diets and periods, also demonstrated and an increase in heart size and LVH-like diseases. Our results are corroborated by recent studies that report overfeeding based on ultraprocessed foods (i.e. foods with low nutritional value, but high energy density) as the main contributor to development of overweight, obesity and metabolic disorders (MONTEIRO et al., 2018; SILVA et al., 2018; STEELE et al., 2018). Moreover, this dietary pattern increases body fat deposits, particularly in the intra-abdominal visceral region, related to MetS and characterized by hyperinsulinemia, hyperglycemia, hypertriglyceridemia and decreased levels of HDLc (HAN, LEAN, Lean, 2016). MetS, IR and high TG/HDLc ratio are associated with LVH in obese humans, a condition that precedes sudden cardiac death, one of the main causes of death in obesity (TUNE et al., 2017; CUSPIDI, 2014).

The aforementioned CAF model successfully induced an obese phenotype in animals after 6 weeks, confirmed by the Lee index, delta weight gain, BMI and abdominal circumference (AC). The Delta weight gain and the Lee index are non-invasive metric tools that validate obesity in rodents, as evidenced by previous studies (DE OLIVEIRA et al., 2019; MACEDO et al., 2012). The animal BMI is a sensitive approach to detect dyslipidemia and body fat in rodents, as observed by Novelli et al. (2012). Additionally, AC allows an assertive evaluation of the magnitude of intra-abdominal visceral adiposity without the need for euthanasia (GERBAIX et al., 2010). In this study, we reinforce the use of non-invasive techniques to determine the obese phenotype.

The caloric restriction protocol in our study is based on the withdrawal of the cafeteria diet (hypercaloric) and exposure to standard diet *ad libitum* for 4 weeks. CR intervention induced a significant decrease in energy intake. However, food consumption was not different from other groups (data not shown). Animals in CR lost approximately 7g of body weight and reversed changes in biometric parameters related to obesity. In humans, dietary modulation through CR is an effective strategy to promote metabolic flexibility and weight maintenance (REDMAN, RAVUSSIN, 2011). Additionally, in the obese population it brought advantages not only in the loss of body fat, but also in the attenuation of systemic alterations related to MetS (SU et al., 2015; XYDAKIS et al., 2004). Although in our study we did not have baseline between the metabolic parameters before the CR-intervention, at the end, however, we observed that the TG and RI levels were significantly lower in the CR-rats compared to the obese rats. In other metabolic parameters, there was no difference between rats in caloric restriction and rats from other groups. Therefore, besides the reversion of the obese phenotype, CR also seems to positively affect IR and attenuate the cardiovascular risk.

Catalase is a key enzyme in the antioxidative system, reducing the amount of ROS through degradation of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) (WONG et al., 2017). CR alone is an effective strategy to modulate oxidative stress through the attenuation of endogenous production of pro-oxidants, such as  $H_2O_2$ . (WONG et al., 2017). In addition, Gredilla et al. (2001) showed that the rats in CR presented a decrease of 40% in the production of  $H_2O_2$  in the heart. Therefore, we can suggest that the decrease in the CAT activity observed in this study is an adaptive response to low ROS levels, particularly  $H_2O_2$ , since there was no difference in ROS in any group (data not shown). NADPH oxidases (NOXs), especially the NOX2 and NOX4 isoforms, are the main generators of ROS (such as superoxide ( $O_2^{\cdot-}$ ) and  $H_2O_2$ ) in the heart. In parallel, Sirt1 (NAD<sup>+</sup> dependent signaling pathway) inhibits Nox4 in the cardiovascular system (ZARZUELO et al., 2013). In our study, we demonstrated that treatment with NR decreased the activity of cardiac NOX in lean and obese animals, indicating an interaction between NR, NAD<sup>+</sup> and Sirt1 in this effect. On the other hand, our results show an increase in the cardiac levels of TBARS (a biomarker of lipid peroxidation) in obese animals treated with NR, suggesting that, in the obese phenotype, the supplementation causes lipoperoxidative damage. However, TBARS has a low

specificity, since it reacts with numerous compounds that do not only result from cellular damage (MARROCCO, ALTIERI, PELUSO, 2017). Finally, the combination of CR and treatment with NR resulted in an increase in antioxidants production, positively modulating CAT activity. A plausible hypothesis would be the fact that the mitochondrial oxidative phosphorylation induced by NAD<sup>+</sup> is able to increase H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production (WONG et al., 2017), which could be counterbalanced by activation of the Sirt1 pathway. This hypothesis would also justify the oxidative damage (TBARS) found in the heart of obese animals treated with NR.

In this study, we demonstrated that obese rats treated with NR presented a decrease in the body weight gain, WAT volume (visceral and subcutaneous) and IR, corroborated by previous studies (GARIANI et al., 2016; CANTÓ et al., 2012). Notably, NR is a NAD<sup>+</sup>-booster, playing a role in the intracellular signaling of SIRT6 (SIRT 1-7) (RAJMAN, CHWALEK, SINCLAIR, 2018). In obesity, a decrease in NAD<sup>+</sup>-Sirt6 signaling is associated with impairments in bioenergetic metabolism and insulin signaling (YAMAGUCHI, YOSHINO, 2017), which could be neutralized by treatment with NR. In addition, NR positively influences physical capacity, metabolic flexibility and basal energy expenditure, which together improve weight loss and insulin sensitivity (RAJMAN, CHWALEK, SINCLAIR, 2018). This would explain NR's effect in decreasing body weight gain of eutrophic animals, and in increasing weight loss in animals in caloric restriction. Our results are in accordance with a previous study that showed a lower body weight in male lean rats supplemented with NR when compared to untreated animals (CONZE, CRESPO-BARRETO & KRUGER, 2016).

In eutrophic animals, treatment with NR increases fasting glycemia. According to Ear et al. (2019), puppies of NR-supplemented mothers presented hyperglycemia after 16 hours of fasting, inferring that the increase in serum glucose levels (related to NR) is part of an adaptive process to hypoglycemia in severe fasting states. In our study, the rats remained fasting for 12 hours, which explains the hyperglycemia as a feedback mechanism against hypoglycemia.

Despite the NR-supplemented eutrophic animals did not present neuroinflammatory alterations, CR-animals treated with NR increased the production of TNF- $\alpha$  in the hypothalamus, suggesting a state-dependent neuroinflammatory modulation. Alterations in hypothalamic nuclei, such as the paraventricular nucleus (PVN), are closely correlated with cardiac and vascular pathophysiological states

(RIGAS et al., 2018). Although there were changes in the TNF- $\alpha$  neuroinflammatory parameter in the CR-fed animals with the treatment of NR, the main alterations in the NR in the eutrophic animals were not observed, which resulted in the reduction of the absolute weight of the heart, suggesting that Animals of the NR could be modulating other inflammatory parameters that culminated in the cardiac system. It is important to emphasize that further studies are needed to examine the effects of NR on the biomarkers of cardiac remodeling, glucose metabolism and neuroinflammation, so that more precise conclusions can be made.

In conclusion, treatment with NR alone in obese animals showed to be efficient in decreasing body adiposity and related metabolic alterations. The treatment, combined with caloric restriction, potentially increases weight loss. These results suggest that NR is a potent adjuvant in the treatment of obesity. However, further studies are needed to elucidate its mechanisms of action and clinical applicability, while also further elucidating the adverse effects of this compound.

## REFERENCES

- AEBI, Hugo. [13] Catalase in vitro. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 1984. p. 121-126.
- BALLAL, Kalpana et al. Obesogenic high fat western diet induces oxidative stress and apoptosis in rat heart. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 344, n. 1-2, p. 221-230, 2010.
- BLÜHER, Matthias. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, p. 1, 2019.
- BRUNELLI, E.; LA RUSSA, D.; PELLEGRINO, D. Impaired oxidative status is strongly associated with cardiovascular risk factors. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, 2017.
- CAI, Dongsheng; KHOR, Sinan. "Hypothalamic Microinflammation" Paradigm in Aging and Metabolic Diseases. **Cell metabolism**, v. 30, n. 1, p. 19-35, 2019.



CANTÓ, Carles et al. The NAD<sup>+</sup> precursor nicotinamide riboside enhances oxidative metabolism and protects against high-fat diet-induced obesity. **Cell metabolism**, v. 15, n. 6, p. 838-847, 2012.

CHEN, Dan et al. A high-fat diet impairs mitochondrial biogenesis, mitochondrial dynamics, and the respiratory chain complex in rat myocardial tissues. **Journal of cellular biochemistry**, v. 119, n. 11, p. 9602-9602, 2018.

CONZE, D. B.; CRESPO-BARRETO, J.; KRUGER, C. L. Safety assessment of nicotinamide riboside, a form of vitamin B3. **Human & experimental toxicology**, v. 35, n. 11, p. 1149-1160, 2016.

CUSPIDI, Cesare et al. Left-ventricular hypertrophy and obesity: a systematic review and meta-analysis of echocardiographic studies. **Journal of hypertension**, v. 32, n. 1, p. 16-25, 2014.

D O'BRIEN, Phillipe et al. Neurological consequences of obesity. **The Lancet Neurology**, v. 16, n. 6, p. 465-477, 2017.

DE OLIVEIRA, Carla et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) modulates biometric and inflammatory parameters and anxiety-like behavior in obese rats. **Neuropeptides**, v. 73, p. 1-10, 2019.

EAR, Po Hien et al. Maternal nicotinamide riboside enhances postpartum weight loss, juvenile offspring development, and neurogenesis of adult offspring. **Cell reports**, v. 26, n. 4, p. 969-983. e4, 2019.

GARIANI, Karim et al. Eliciting the mitochondrial unfolded protein response by nicotinamide adenine dinucleotide repletion reverses fatty liver disease in mice. **Hepatology**, v. 63, n. 4, p. 1190-1204, 2016.

GERBAIX, Maude et al. Visceral fat mass determination in rodent: validation of dual-energy X-ray absorptiometry and anthropometric techniques in fat and lean rats. **Lipids in health and disease**, v. 9, n. 1, p. 140, 2010.

GONG, Bing et al. Nicotinamide riboside restores cognition through an upregulation of proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$  regulated  $\beta$ -secretase 1 degradation and mitochondrial gene expression in Alzheimer's mouse models. **Neurobiology of aging**, v. 34, n. 6, p. 1581-1588, 2013.

GUILLEMOT-LEGRIS, Owein; MUCCIOLI, Giulio G. Obesity-induced neuroinflammation: beyond the hypothalamus. **Trends in Neurosciences**, v. 40, n. 4, p. 237-253, 2017.

GREDILLA, Ricardo et al. Caloric restriction decreases mitochondrial free radical generation at complex I and lowers oxidative damage to mitochondrial DNA in the rat heart. **The FASEB Journal**, v. 15, n. 9, p. 1589-1591, 2001.

HAN, Thang S.; LEAN, Mike EJ. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. **JRSM cardiovascular disease**, v. 5, p. 2048004016633371, 2016.

HEYMSFIELD, Steven B.; WADDEN, Thomas A. Mechanisms, pathophysiology, and management of obesity. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 3, p. 254-266, 2017.

HONG, Guangliang et al. Administration of nicotinamide riboside prevents oxidative stress and organ injury in sepsis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 123, p. 125-137, 2018.

KHAN, Nahid A. et al. Effective treatment of mitochondrial myopathy by nicotinamide riboside, a vitamin B3. **EMBO molecular medicine**, v. 6, n. 6, p. 721-731, 2014.

KEANEY JR, John F. et al. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 23, n. 3, p. 434-439, 2003.

LLESUY, Susana F. et al. Comparison of lipid peroxidation and myocardial damage induced by adriamycin and 4'-epiadriamycin in mice. **TumoriJournal**, v. 71, n. 3, p. 241-249, 1985.

LEOPOLDO, André Soares et al. Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 26, n. 8, p. 423-429, 2010.

MACEDO, I. C. et al. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides**, v. 38, n. 1, p. 189-196, 2012.

MANNA, Prasenjit; JAIN, Sushil K. Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic

strategies. **Metabolic syndrome and related disorders**, v. 13, n. 10, p. 423-444, 2015.

MARROCCO, Ilaria; ALTIERI, Fabio; PELUSO, Ilaria. Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, 2017.

MENDES, Natália F. et al. Hypothalamic Microglial Activation in Obesity: A Mini-Review. **Frontiers in neuroscience**, v. 12, p. 846, 2018.

MONTEIRO, Carlos Augusto et al. Household availability of ultra-processed foods and obesity in nineteen European countries. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 18-26, 2018.

NOEMAN, Saad A.; HAMOODA, Hala E.; BAALASH, Amal A. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 3, n. 1, p. 17, 2011.

NOVELLI, E. L. B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory animals**, v. 41, n. 1, p. 111-119, 2007.

OHKAWA, Hiroshi; OHISHI, Nobuko; YAGI, Kunio. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

RAPPOU, Elisabeth et al. Weight loss is associated with increased NAD<sup>+</sup>/SIRT1 expression but reduced PARP activity in white adipose tissue. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 101, n. 3, p. 1263-1273, 2016.

RAJMAN, Luis; CHWALEK, Karolina; SINCLAIR, David A. Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: the in vivo evidence. **Cell metabolism**, v. 27, n. 3, p. 529-547, 2018.

REDMAN, Leanne M.; RAVUSSIN, Eric. Caloric restriction in humans: impact on physiological, psychological, and behavioral outcomes. **Antioxidants & redox signaling**, v. 14, n. 2, p. 275-287, 2011.

SHI, Wenbiao et al. Effects of a wide range of dietary nicotinamide riboside (NR) concentrations on metabolic flexibility and white adipose tissue (WAT) of mice fed a

mildly obesogenic diet. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 8, p. 1600878, 2017.

SILVA, Fernanda Marcelina et al. Consumption of ultra-processed food and obesity: cross sectional results from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) cohort (2008–2010). **Public health nutrition**, v. 21, n. 12, p. 2271-2279, 2018.

RIGAS, Antonios et al. Hypothalamic dysfunction in heart failure: pathogenetic mechanisms and therapeutic implications. **Heart failure reviews**, v. 23, n. 1, p. 55-61, 2018

STEELE, Euridice Martínez et al. Ultra-processed foods, protein leverage and energy intake in the USA. **Public health nutrition**, v. 21, n. 1, p. 114-124, 2018.

SU, H. Y. et al. A calorie-restriction diet supplemented with fish oil and high-protein powder is associated with reduced severity of metabolic syndrome in obese women. **European journal of clinical nutrition**, v. 69, n. 3, p. 322, 2015.

TUNE, Johnathan D. et al. Cardiovascular consequences of metabolic syndrome. **Translational Research**, v. 183

XYDAKIS, Antonios M. et al. Adiponectin, inflammation, and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals: the impact of rapid weight loss through caloric restriction. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2697-2703, 2004.

ZARZUELO, María José et al. SIRT1 inhibits NADPH oxidase activation and protects endothelial function in the rat aorta: implications for vascular aging. **Biochemical pharmacology**, v. 85, n. 9, p. 1288-1296, 2013.

WEI, Yongzhong et al. Angiotensin II-induced NADPH oxidase activation impairs insulin signaling in skeletal muscle cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 46, p. 35137-35146, 2006.

WONG, Hoi-Shan et al. Production of superoxide and hydrogen peroxide from specific mitochondrial sites under different bioenergetic conditions. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 41, p. 16804-16809, 2017.

## 5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Este trabalho foi o primeiro a demonstrar os efeitos da administração oral e controlada de RN sobre o robusto modelo de obesidade induzida por dieta de cafeteria. Os resultados desta dissertação demonstraram que o tratamento com RN, isolado ou em combinação com a intervenção dietoterápica de restrição calórica, promoveu efeitos protetores em danos relacionados a obesidade, além, ainda, de controlar o desenvolvimento do peso corporal e massa adiposa. No entanto, mais estudos são necessários para elucidar seus mecanismos de ação, sobretudo na investigação do significado de eventos adversos observados como hiperglicemia no estado de eutrofia, hipertrigliceridemia e aumento de TNF- $\alpha$  hipotalâmico no estado de restrição calórica e aumento de marcador oxidativo cardíaco no estado de obesidade. Em suma, as descobertas presentes sugerem a utilização do composto natural, RN, como promissora alternativa para o tratamento adjuvante da obesidade.

## REFERÊNCIAS

ABDELAAL, Mahmoud; LE ROUX, Carel W.; DOCHERTY, Neil G. Morbidity and mortality associated with obesity. **Annals of translational medicine**, v. 5, n. 7, 2017.

AHIMA, Rexford S.; LAZAR, Mitchell A. Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance. **Molecular endocrinology**, v. 22, n. 5, p. 1023-1031, 2008.

AIRHART, Sophia E. et al. An open-label, non-randomized study of the pharmacokinetics of the nutritional supplement nicotinamide riboside (NR) and its effects on blood NAD<sup>+</sup> levels in healthy volunteers. **PloS one**, v. 12, n. 12, p. e0186459, 2017.

ALBUQUERQUE, David et al. Current review of genetics of human obesity: from molecular mechanisms to an evolutionary perspective. **Molecular genetics and genomics**, v. 290, n. 4, p. 1191-1221, 2015.

AMAN, Yahyah et al. Therapeutic potential of boosting NAD<sup>+</sup> in aging and age-related diseases. **Translational Medicine of Aging**, 2018.

ANDERSEN, MONICA L.; WINTER, LUCILE MF. Animal models in biological and biomedical research-experimental and ethical concerns. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, n. AHEAD, p. 0-0, 2017.

APAIAI, Nattayaporn et al. High-Saturated Fat High-Sugar Diet Accelerates Left-Ventricular Dysfunction Faster than High-Saturated Fat Diet Alone via Increasing Oxidative Stress and Apoptosis in Obese-Insulin Resistant Rats. **Molecular nutrition & food research**, v. 63, n. 2, p. 1800729, 2019.

ARSTALL, Margaret A. et al. N-acetylcysteine in combination with nitroglycerin and streptokinase for the treatment of evolving acute myocardial infarction: safety and biochemical effects. **Circulation**, v. 92, n. 10, p. 2855-2862, 1995.

BADIMON, Lina et al. Position paper of the European Society of Cardiology–working group of coronary pathophysiology and microcirculation: obesity and heart disease. **European heart journal**, v. 38, n. 25, p. 1951-1958, 2017.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, n. 1, p. 113, 2006.

BATESON, Patrick et al. Developmental plasticity and human health. **Nature**, v. 430, n. 6998, p. 419, 2004.

BERGER, Felicitas; RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, María H.; ZIEGLER, Mathias. The new life of a centenarian: signalling functions of NAD (P). **Trends in biochemical sciences**, v. 29, n. 3, p. 111-118, 2004.

BIEGANOWSKI, Pawel; BRENNER, Charles. Discoveries of nicotinamide riboside as a nutrient and conserved NRK genes establish a Preiss-Handler independent route to NAD<sup>+</sup> in fungi and humans. **Cell**, v. 117, n. 4, p. 495-502, 2004.

BORTOLIN, R. C. et al. A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. **International Journal of Obesity**, v. 42, n. 3, p. 525, 2018.

BOUTAGY, Nabil E. et al. Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant?. **Biochimie**, v. 124, p. 11-20, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigitel Brasil 2016: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília, 2017.

BRAY, George A.; GALLAGHER, Jr TF. Manifestations of hypothalamic obesity in man: a comprehensive investigation of eight patients and a review of the literature. **Medicine**, v. 54, n. 4, p. 301-330, 1975.

BRAY, George A. Syndromes of hypothalamic obesity in man. **Pediatric annals**, v. 13, n. 7, p. 525, 1984.

BRAY, George A. Pathophysiology of obesity. **The American journal of clinical nutrition**, v. 55, n. 2, p. 488S-494S, 1992.

BUYUKDERE, Yucel; GULEC, Atila; AKYOL, Asli. Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. **PeerJ**, v. 7, p. e6656, 2019.

CAI, Dongsheng. Neuroinflammation and neurodegeneration in overnutrition-induced diseases. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 24, n. 1, p. 40-47, 2013.

CANTÓ, Carles et al. The NAD<sup>+</sup> precursor nicotinamide riboside enhances oxidative metabolism and protects against high-fat diet-induced obesity. **Cell metabolism**, v. 15, n. 6, p. 838-847, 2012.

CARNELL, Susan et al. Neuroimaging and obesity: current knowledge and future directions. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 1, p. 43-56, 2012.

CASTILLO, Joseph J.; ORLANDO, Robert A.; GARVER, William S. Gene-nutrient interactions and susceptibility to human obesity. **Genes & nutrition**, v. 12, n. 1, p. 29, 2017.

CAVAGNI, Juliano et al. Obesity may increase the occurrence of spontaneous periodontal disease in Wistar rats. **Archives of oral biology**, v. 58, n. 8, p. 1034-1039, 2013

CHARRADI, Kamel et al. Grape seed extract alleviates high-fat diet-induced obesity and heart dysfunction by preventing cardiac siderosis. **Cardiovascular toxicology**, v. 11, n. 1, p. 28-37, 2011.

CHESEREK, Maureen Jepkorir et al. Cardioprotective effects of lipoic acid, quercetin and resveratrol on oxidative stress related to thyroid hormone alterations in long-term obesity. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 33, p. 36-44, 2016.

CHI, Yuling; SAUVE, Anthony A. Nicotinamide riboside, a trace nutrient in foods, is a vitamin B3 with effects on energy metabolism and neuroprotection. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 16, n. 6, p. 657-661, 2013.

CHOE, Sung Sik et al. Adipose tissue remodeling: its role in energy metabolism and metabolic disorders. **Frontiers in endocrinology**, v. 7, p. 30, 2016.

CHOOI, Yu Chung; DING, Cherlyn; MAGKOS, Faidon. The epidemiology of obesity. **Metabolism**, v. 92, p. 6-10, 2019.

CHONDRONIKOLA, Maria et al. Effect of prolonged, mild cold exposure on metabolic regulation in insulin resistant overweight and obese men. 2013.



CINTI, Saverio. Adipose organ development and remodeling. **Comprehensive Physiology**, v. 8, p. 1357-1431, 2018.

CLINICAL TRIALS. U. S. National Library of Medicine. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=nicotinamide+riboside>>. Acesso em: 20 jul. 2019.

COELHO, Marisa; OLIVEIRA, Teresa; FERNANDES, Ruben. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Archives of medical science: AMS**, v. 9, n. 2, p. 191, 2013.

CONN, P. Michael (Ed.). **Animal models for the study of human disease**. Academic Press, 2017

CONZE, Dietrich; BRENNER, Charles; KRUGER, Claire L. Safety and Metabolism of Long-term Administration of NIAGEN (Nicotinamide Riboside Chloride) in a Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Clinical Trial of Healthy Overweight Adults. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 9772, 2019.

CONZE, D. B.; CRESPO-BARRETO, J.; KRUGER, C. L. Safety assessment of nicotinamide riboside, a form of vitamin B3. **Human & experimental toxicology**, v. 35, n. 11, p. 1149-1160, 2016.

CSIGE, Imre et al. The Impact of obesity on the cardiovascular system. **Journal of diabetes research**, v. 2018, 2018.

CYPESS, Aaron M. et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1509-1517, 2009.

D O'BRIEN, Phillipe et al. Neurological consequences of obesity. **The Lancet Neurology**, v. 16, n. 6, p. 465-477, 2017

DA COSTA ESTRELA, Dieferson et al. Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria diet and stress. **Physiology & behavior**, v. 151, p. 252-263, 2015.

DASH, Ranjan K. et al. Metabolic dynamics in skeletal muscle during acute reduction in blood flow and oxygen supply to mitochondria: in-silico studies using a multi-scale, top-down integrated model. **PloS one**, v. 3, n. 9, p. e3168, 2008.

DE ANDRADE AOYAMA, Elisângela et al. Genética e meio ambiente como principais fatores de risco para a obesidade/Genetics and the environment as major risk factors for obesity. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 1, n. 2, p. 477-484, 2018.

DE OLIVEIRA, Carla et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) modulates biometric and inflammatory parameters and anxiety-like behavior in obese rats. **Neuropeptides**, v. 73, p. 1-10, 2019

DE OLIVEIRA, Carla et al. Obesity and chronic stress are able to desynchronize the temporal pattern of serum levels of leptin and triglycerides. **Peptides**, v. 51, p. 46-53, 2014.

DELLINGER, Ryan W. et al. Repeat dose NRPT (nicotinamide riboside and pterostilbene) increases NAD<sup>+</sup> levels in humans safely and sustainably: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **npj Aging and Mechanisms of Disease**, v. 3, n. 1, p. 17, 2017.

DEURENBERG, Paul; YAP, Mabel; VAN STAVEREN, Wija A. Body mass index and percent body fat: a meta analysis among different ethnic groups. **International journal of obesity**, v. 22, n. 12, p. 1164, 1998.

DHALLA, Arvinder K.; HILL, Michael F.; SINGAL, Pawan K. Role of oxidative stress in transition of hypertrophy to heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 28, n. 2, p. 506-514, 1996.

DIGUET, Nicolas et al. Nicotinamide riboside preserves cardiac function in a mouse model of dilated cardiomyopathy. **Circulation**, v. 137, n. 21, p. 2256-2273, 2018.

DOLLERUP, Ole L. et al. A randomized placebo-controlled clinical trial of nicotinamide riboside in obese men: safety, insulin-sensitivity, and lipid-mobilizing effects. **The American journal of clinical nutrition**, v. 108, n. 2, p. 343-353, 2018.

DOUGLASS, J. D. et al. Astrocyte IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling is required for diet-induced obesity and hypothalamic inflammation. **Molecular metabolism**, v. 6, n. 4, p. 366-373, 2017.

ESPERIDIÃO-ANTONIO, Vanderson et al. Neurobiology of the emotions. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 35, n. 2, p. 55-65, 2008.

FASSHAUER, Mathias; BLÜHER, Matthias. Adipokines in health and disease. **Trends in pharmacological sciences**, v. 36, n. 7, p. 461-470, 2015

FEILLET-COUDRAY, C. et al. Oxidative stress in rats fed a high-fat high-sucrose diet and preventive effect of polyphenols: Involvement of mitochondrial and NAD (P) H oxidase systems. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 46, n. 5, p. 624-632, 2009.

FLEGAL, Katherine M. et al. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. **Jama**, v. 309, n. 1, p. 71-82, 2013.

FLETCHER, Rachel S.; LAVERY, Gareth. The emergence of the nicotinamide riboside kinases in the regulation of NAD<sup>+</sup> metabolism. **Journal of molecular endocrinology**, v. 1, n. aop, 2018.

FRANCISQUETI, Fabiane Valentini et al. The role of oxidative stress on the pathophysiology of metabolic syndrome. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 63, n. 1, p. 85-91, 2017.

FRANKENFIELD, David C. et al. Limits of body mass index to detect obesity and predict body composition. **Nutrition**, v. 17, n. 1, p. 26-30, 2001.

FREDERICK, David W. et al. Loss of NAD homeostasis leads to progressive and reversible degeneration of skeletal muscle. **Cell metabolism**, v. 24, n. 2, p. 269-282, 2016.

GARIANI, Karim et al. Eliciting the mitochondrial unfolded protein response by nicotinamide adenine dinucleotide repletion reverses fatty liver disease in mice. **Hepatology**, v. 63, n. 4, p. 1190-1204, 2016.

GERBAIX, Maude et al. Visceral fat mass determination in rodent: validation of dual-energy X-ray absorptiometry and anthropometric techniques in fat and lean rats. **Lipids in health and disease**, v. 9, n. 1, p. 140, 2010.

GIL-CARDOSO, Katherine et al. A cafeteria diet triggers intestinal inflammation and oxidative stress in obese rats. **British Journal of Nutrition**, v. 117, n. 2, p. 218-229, 2017.

GINGRICH, Wendell; SCHLENK, Fritz. Codehydrogenase I and Other Pyridinium Compounds as V-Factor for *Hemophilus influenzae* and *H. parainfluenzae*. **Journal of bacteriology**, v. 47, n. 6, p. 535, 1944.

GISHTI, Olta et al. BMI, total and abdominal fat distribution, and cardiovascular risk factors in school-age children. **Pediatric research**, v. 77, n. 5, p. 710, 2015.

GONG, Bing et al. Nicotinamide riboside restores cognition through an upregulation of proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$  regulated  $\beta$ -secretase 1 degradation and mitochondrial gene expression in Alzheimer's mouse models. **Neurobiology of aging**, v. 34, n. 6, p. 1581-1588, 2013.

GOMES, Aline Corado; HOFFMANN, Christian; MOTA, Joao Felipe. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. **Gut Microbes**, v. 9, n. 4, p. 308-325, 2018.

GREAVES, Peter; WILLIAMS, Andrew; EVE, Malcolm. First dose of potential new medicines to humans: how animals help. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 3, p. 226, 2004.

GUAN, Weiping et al. Effect of allopurinol pretreatment on free radical generation after primary coronary angioplasty for acute myocardial infarction. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 41, n. 5, p. 699-705, 2003.

GUTTERIDGE, John MC; HALLIWELL, Barry. Mini-Review: Oxidative stress, redox stress or redox success?. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 502, n. 2, p. 183-186, 2018.

HALILOGLU, Belma; BERKET, Abdullah. Central Control of Energy Metabolism and Hypothalamic Obesity. In: **Pediatric Obesity**. Humana Press, Cham, 2018. p. 27-42.

HANN, Michael M. Molecular obesity, potency and other addictions in drug discovery. **MedChemComm**, v. 2, n. 5, p. 349-355, 2011.

HARDER, Arthur. Zymase and Alcoholic Fermentation. **Journal of the institute of breing**, v. 11, n.1, p. 2-15, 1905.

HARDY, Micael et al. Detection and characterization of reactive oxygen and nitrogen species in biological systems by monitoring species-specific products. **Antioxidants & redox signaling**, v. 28, n. 15, p. 1416-1432, 2018.

HOARE, Erin et al. Associations between combined overweight and obesity, lifestyle behavioural risk and quality of life among Australian regional school children: baseline findings of the Goulburn Valley health behaviours monitoring study. **Health and quality of life outcomes**, v. 17, n. 1, p. 16, 2019.

HOUTKOOPER, Riekelt H. et al. The secret life of NAD<sup>+</sup>: an old metabolite controlling new metabolic signaling pathways. **Endocrine reviews**, v. 31, n. 2, p. 194-223, 2010.

HRUBY, Adela; HU, Frank B. The epidemiology of obesity: a big picture. **Pharmacoeconomics**, v. 33, n. 7, p. 673-689, 2015.

HU, Xiang et al. Associations of serum fibroblast growth factor 23 levels with obesity and visceral fat accumulation. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 1, p. 223-228, 2018.

IMAI, Shin-ichiro. The NAD World: a new systemic regulatory network for metabolism and aging—Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance. **Cell biochemistry and biophysics**, v. 53, n. 2, p. 65, 2009.

IMAI, Shin-ichiro; GUARENTE, Leonard. NAD<sup>+</sup> and sirtuins in aging and disease. **Trends in cell biology**, v. 24, n. 8, p. 464-471, 2014.

JEW, Stephanie; ABUMWEIS, Suhad S.; JONES, Peter JH. Evolution of the human diet: linking our ancestral diet to modern functional foods as a means of chronic disease prevention. **Journal of medicinal food**, v. 12, n. 5, p. 925-934, 2009.

JOHNSON, Amy R. et al. Cafeteria diet-induced obesity causes oxidative damage in white adipose. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 473, n. 2, p. 545-550, 2016.

JUKARAINEN, Sakari et al. Obesity is associated with low NAD<sup>+</sup>/SIRT pathway expression in adipose tissue of BMI-discordant monozygotic twins. **The Journal of Clinical Endocrinology**, v. 101, n. 1, p. 275-283, 2016.

JUNG, Su Myung; SANCHEZ-GURMACHES, Joan; GUERTIN, David A. Brown adipose tissue development and metabolism. In: **Brown Adipose Tissue**. Springer, Cham, 2018. p. 3-36.

JUNQUEIRA, Luiz; CARNEIRO, José. Histologia Básica. Texto e Atlas. 12ª edição. **Rio de Janeiro: Guanabara**, 2012

KANE, Alice E.; SINCLAIR, David A. yanguins and NAD<sup>+</sup> in the development and treatment of metabolic and cardiovascular diseases. **Circulation research**, v. 123, n. 7, p. 868-885, 2018.

KHAN, Nahid A. et al. Effective treatment of mitochondrial myopathy by nicotinamide riboside, a vitamin B3. **EMBO molecular medicine**, v. 6, n. 6, p. 721-731, 2014.

KIM, Kyuwoong; PARK, Sang Min. Association of muscle mass and fat mass with insulin resistance and the prevalence of metabolic syndrome in Korean adults: a cross-sectional study. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 2703, 2018.

KORNBERG, Arthur. The participation of inorganic pyrophosphate in the reversible enzymatic synthesis of iphosphopyridine nucleotide. **The Journal of biological chemistry**, 176:1475, 1948.

KREUTZER, Carina et al. Hypothalamic inflammation in human obesity is mediated by environmental and genetic factors. **Diabetes**, v. 66, n. 9, p. 2407-2415, 2017.sch

KUZAWA, Christopher W. Adipose tissue in human infancy and childhood: an evolutionary perspective. **American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists**, v. 107, n. S27, p. 177-209, 1998.

LARSSON, Anders et al. The body mass index (BMI) is significantly correlated with levels of cytokines and chemokines in cerebrospinal fluid. **Cytokine**, v. 76, n. 2, p. 514-518, 2015.

LECHAN, Ronald M.; TONI, Roberto. Functional anatomy of the hypothalamus and pituitary. In: **Endotext [Internet]**. MDText. com, Inc., 2016.

LEE, Hee Jae et al. Nicotinamide riboside ameliorates hepatic metaflammation by modulating NLRP3 inflammasome in a rodent model of type 2 diabetes. **Journal of medicinal food**, v. 18, n. 11, p. 1207-1213, 2015.

LI, Wei et al. Folic acid prevents cardiac dysfunction and reduces myocardial fibrosis in a mouse model of high-fat diet-induced obesity. **Nutrition & metabolism**, v. 14, n. 1, p. 68, 2017.

LIGUORI, Ilaria et al. Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical interventions in aging**, v. 13, p. 757, 2018.

LUO, Liping; LIU, Meilian. Adipose tissue in control of metabolism. **Journal of Endocrinology**, v. 231, n. 3, p. R77-R99, 2016.

MACEDO, I. C. et al. Chronic stress associated with hypercaloric diet changes the hippocampal BDNF levels in male Wistar rats. **Neuropeptides**, v. 51, p. 75-81, 2015.

MACEDO, I. C. et al. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides**, v. 38, n. 1, p. 189-196, 2012.

MAKKI, Kassem; FROGUEL, Philippe; WOLOWCZUK, Isabelle. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. **ISRN inflammation**, v. 2013, 2013.

MARQUES, Cláudia et al. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. **Adipocyte**, v. 5, n. 1, p. 11-21, 2016.

MARTENS, Christopher R. et al. Chronic nicotinamide riboside supplementation is well-tolerated and elevates NAD<sup>+</sup> in healthy middle-aged and older adults. **Nature communications**, v. 9, n. 1, p. 1286, 2018.

MATSUSHITA, M. et al. Impact of brown adipose tissue on body fatness and glucose metabolism in healthy humans. **International journal of obesity**, v. 38, n. 6, p. 812, 2014.

MAYNE, Stephanie L.; AUCHINCLOSS, Amy H.; MICHAEL, Yvonne L. Impact of policy and built environment changes on obesity-related outcomes: a systematic review of naturally occurring experiments. **Obesity Reviews**, v. 16, n. 5, p. 362-375, 2015.

MELDRUM, David R.; MORRIS, Marge A.; GAMBONE, Joseph C. Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions—but do we have the will?. **Fertility and sterility**, v. 107, n. 4, p. 833-839, 2017.

MILANSKI, Marciane et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 2, p. 359-370, 2009.

MILLER, Gary D. Appetite Regulation: Hormones, Peptides, and Neurotransmitters and Their Role in Obesity. **American Journal of Lifestyle Medicine**, p. 1559827617716376, 2017.

MORENO-NAVARRETE, José María; FERNÁNDEZ-REAL, José Manuel. Adipocyte differentiation. In: **Adipose tissue biology**. Springer, Cham, 2017. p. 69-90.

MORTON, G. J. et al. Central nervous system control of food intake and body weight. **Nature**, v. 443, n. 7109, p. 289, 2006.

NAKATA, Masanori et al. AAV-mediated IL-10 gene transfer counteracts inflammation in the hypothalamic arcuate nucleus and obesity induced by high-fat diet. **Neuropeptides**, v. 62, p. 87-92, 2017.

NCD-RISC. Risk Factor Collaboration. **World Map – Probability**. Disponível em: <<http://ncdrisc.org/obesity-probability-projection-map.html>>. Acesso em: 09 jul. 2019a.

\_\_\_\_\_. **World Map – Projection**. Disponível em: <<http://ncdrisc.org/obesity-prevalence-projection-map.html>>. Acesso em: 09 jul. 2019b.

NEEL, James V. Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? **American journal of human genetics**, v. 14, n. 4, p. 353, 1962.

NG, Marie et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **The lancet**, v. 384, n. 9945, p. 766-781, 2014.

NIEMANN, Bernd et al. Oxidative stress and cardiovascular risk: obesity, diabetes, smoking, and pollution: part 3 of a 3-part series. **Journal of the American college of cardiology**, v. 70, n. 2, p. 230-251, 2017.

NOEMAN, Saad A.; HAMOODA, Hala E.; BAALASH, Amal A. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 3, n. 1, p. 17, 2011.



NOVELLIE, L. B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Lab animals**, v. 41, p. 111-119, 2007.

GREAVES, Peter; WILLIAMS, Andrew; EVE, Malcolm. First dose of potential new medicines to humans: how animals help. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 3, p. 226, 2004.

OKABE, Keisuke et al. Implications of altered NAD metabolism in metabolic disorders. **Journal of biomedical science**, v. 26, n. 1, p. 34, 2019.

OUELLET, Véronique et al. Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. **The Journal of clinical investigation**, v. 122, n. 2, p. 545-552, 2012.

PALOU, A. et al. Obesity: molecular bases of a multifactorial problem. **European journal of nutrition**, v. 39, n. 4, p. 127-144, 2000.

PARENTE, Erika Bezerra. Is body mass index still a good tool for obesity evaluation? **Archives of endocrinology and metabolism**, v. 60, n. 6, p. 507-509, 2016.

PARIMISSETTY, Avinash et al. Secret talk between adipose tissue and central nervous system via secreted factors—an emerging frontier in the neurodegenerative research. **Journal of neuroinflammation**, v. 13, n. 1, p. 67, 2016.

PARK, Anna; KIM, Won Kon; BAE, Kwang-Hee. Distinction of white, beige and brown adipocytes derived from mesenchymal stem cells. **World journal of stem cells**, v. 6, n. 1, p. 33, 2014.

PENKE, Melanie et al. Hepatic NAD salvage pathway is enhanced in mice on a high-fat diet. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 412, p. 65-72, 2015.

PHAM, Tho X. et al. Nicotinamide riboside, an NAD<sup>+</sup> precursor, attenuates the development of liver fibrosis in a diet-induced mouse model of liver fibrosis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, 2019.

PIGEYRE, Marie et al. Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. **Clinical science**, v. 130, n. 12, p. 943-986, 2016.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena; POP, Aneta. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European journal of medicinal chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015.

POSEY, Kelly A. et al. Hypothalamic proinflammatory lipid accumulation, inflammation, and insulin resistance in rats fed a high-fat diet. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 296, n. 5, p. E1003-E1012, 2009.

PREISS, Jack; HANDLER, Philip. Biosynthesis of diphosphopyridine nucleotide I. Identification of intermediates. **Journal of Biological Chemistry**, v. 233, n. 2, p. 488-492, 1958.

PROSPECTIVE STUDIES COLLABORATION et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. **The Lancet**, v. 373, n. 9669, p. 1083-1096, 2009.

PUBCHEM. U. S. National Library of Medicine. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/439924>>. Acesso em: 20 jul. 2019.

PUIG, Josep et al. Hypothalamic damage is associated with inflammatory markers and worse cognitive performance in obese subjects. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 100, n. 2, p. E276-E281, 2015.

RAJMAN, Luis; CHWALEK, Karolina; SINCLAIR, David A. Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: the in vivo evidence. **Cell metabolism**, v. 27, n. 3, p. 529-547, 2018.

RASTELLI, Marialetizia; KNAUF, Claude; CANI, Patrice D. Gut microbes and health: a focus on the mechanisms linking microbes, obesity, and related disorders. **Obesity**, v. 26, n. 5, p. 792-800, 2018.

ROMERO-CORRAL, Abel et al. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. **International journal of obesity**, v. 32, n. 6, p. 959, 2008.

ROSINI, Tiago Campos; DA SILVA, Adelino Sanchez Ramos; DE MORAES, Camila. Diet-induced obesity: rodent model for the study of obesity-related disorders. **Revista da Associação Médica Brasileira (English Edition)**, v. 58, n. 3, p. 383-387, 2012.

ROWEN, John W.; KORNBERG, A. The phosphorolysis of nicotinamide riboside. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 497-507, 1951.

SAITO, Masayuki et al. High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. **Diabetes**, v. 58, n. 7, p. 1526-1531, 2009.

SÁNCHEZ, Gina et al. High-fat-diet-induced obesity produces spontaneous ventricular arrhythmias and increases the activity of ryanodine receptors in mice. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 2, p. 533, 2018.

SCHETZ, Miet et al. Obesity in the critically ill: a narrative review. **Intensive care medicine**, p. 1-13, 2019.

SCHLENK, F. Identification of the carbohydrate group in the nicotinamide nucleotides. **Journal of Biological Chemistry**, v. 146, p. 619-625, 1942.

SCHUR, Ellen A. et al. Radiologic evidence that hypothalamic gliosis is associated with obesity and insulin resistance in humans. **Obesity**, v. 23, n. 11, p. 2142-2148, 2015.

SEYEDSADJADI, Neda et al. High protein intake is associated with low plasma NAD<sup>+</sup> levels in a healthy human cohort. **PloS one**, v. 13, n. 8, p. e0201968, 2018.

SEYSSEL, Kévin et al. Regulation of energy metabolism and mitochondrial function in skeletal muscle during lipid overfeeding in healthy men. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 99, n. 7, p. E1254-E1262, 2014.

SHABALINA, Irina G. et al. UCP1 in brite/beige adipose tissue mitochondria is functionally thermogenic. **Cell reports**, v. 5, n. 5, p. 1196-1203, 2013.

SHI, Wenbiao et al. Effects of a wide range of dietary nicotinamide riboside (NR) concentrations on metabolic flexibility and white adipose tissue (WAT) of mice fed a mildly obesogenic diet. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 8, p. 1600878, 2017.

SHUSTER, A. et al. The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. **The British journal of radiology**, v. 85, n. 1009, p. 1-10, 2012.

SIMSON, Earl L.; GOLD, Richard M. The Lee obesity index vindicated?. **Physiology & behavior**, v. 29, n. 2, p. 371-376, 1982.

SINGH, Ram B. et al. Usefulness of antioxidant vitamins in suspected acute myocardial infarction (the Indian experiment of infarct survival-3). **The American journal of cardiology**, v. 77, n. 4, p. 232-236, 1996.

SPIES, Tom D.; BEAN, William B.; ASHE, William F. Recent advances in the treatment of pellagra and associated deficiencies. **Annals of Internal Medicine**, v. 12, n. 11, p. 1830-1844, 1939.

SRIKANTIA, S. G. et al. Pattern of nicotinamide nucleotides in the erythrocytes of pellagrins. **The American journal of clinical nutrition**, v. 21, n. 11, p. 1306-1309, 1968.

ST-ONGE, Marie-Pierre et al. Meal timing and frequency: implications for cardiovascular disease prevention: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 135, n. 9, p. e96-e121, 2017.

TANOFSKY-KRAFF, Marian et al. A prospective study of psychological predictors of body fat gain among children at high risk for adult obesity. **Pediatrics**, v. 117, n. 4, p. 1203-1209, 2006.

THALER, Joshua P. et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. **The Journal of clinical investigation**, v. 122, n. 1, p. 153-162, 2012

TRAMMELL, Samuel AJ et al. Nicotinamide riboside is uniquely and orally bioavailable in mice and humans. **Nature communications**, v. 7, p. 12948, 2016.

TREMMEL, Maximilian et al. Economic burden of obesity: a systematic literature review. **International journal of environmental research and public health**, v. 14, n. 4, p. 435, 2017.

UNAMUNO, Xabier et al. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. **European journal of clinical investigation**, v. 48, n. 9, p. e12997, 2018.

VAL-LAILLET, David et al. Neuroimaging and neuromodulation approaches to study eating behavior and prevent and treat eating disorders and obesity. **NeuroImage: Clinical**, v. 8, p. 1-31, 2015.

VALDEARCOS, Martin et al. Microglial inflammatory signaling orchestrates the hypothalamic immune response to dietary excess and mediates obesity susceptibility. **Cell metabolism**, v. 26, n. 1, p. 185-197. e3, 2017

VAN DE SANDE-LEE, Simone; VELLOSO, Licio A. Hypothalamic dysfunction in obesity. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 56, n. 6, p. 341-350, 2012.

VAN DER POL, Atze et al. Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. **European journal of heart failure**, v. 21, n. 4, p. 425-435, 2019.

VINCENT, H. K. et al. Mechanism for obesity-induced increase in myocardial lipid peroxidation. **International journal of obesity**, v. 25, n. 3, p. 378, 2001.

VOLKOW, Nora D.; WANG, Gene-Jack; BALER, Ruben D. Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity. **Trends in cognitive sciences**, v. 15, n. 1, p. 37-46, 2011.

VON EULER, Hans. Fermentation of sugars and fermentative enzymes. **Nobel Lectures in Chemistry, edited by Nobelstiftelsen. New Jersey: World Scientific**, p. 144-155, 1999.

ZHANG, Fang et al. An adipose tissue atlas: an image-guided identification of human-like BAT and beige depots in rodents. **Cell metabolism**, v. 27, n. 1, p. 252-262. e3, 2018.

ZHU, Xiao-Hong et al. In vivo NAD assay reveals the intracellular NAD contents and redox state in healthy human brain and their age dependences. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 9, p. 2876-2881, 2015.

ZHOU, Can-Can et al. Hepatic NAD<sup>+</sup> deficiency as a therapeutic target for non-alcoholic fatty liver disease in ageing. **British journal of pharmacology**, v. 173, n. 15, p. 2352-2368, 2016.

ZIMMET, Paul. Globalization, coca-colonization and the chronic disease epidemic: can the Doomsday scenario be averted?. **Journal of internal medicine**, v. 247, n. 3, p. 301-310, 2000.

WAISE, TM Zaved et al. One-day high-fat diet induces inflammation in the nodose ganglion and hypothalamus of mice. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 464, n. 4, p. 1157-1162, 2015.

WAN, Pengjie; MOAT, S.; ANSTEY, A. Pellagra: a review with emphasis on photosensitivity. **British Journal of Dermatology**, v. 164, n. 6, p. 1188-1200, 2011.

WANG, Xiaoke et al. Increased hypothalamic inflammation associated with the susceptibility to obesity in rats exposed to high-fat diet. **Experimental diabetes research**, v. 2012, 2012

WARBURG, Otto. The oxygen-transferring ferment of respiration. **Nobel Lecture**, v. 10, 1931.

WELLS, Jonathan CK. The evolution of human fatness and susceptibility to obesity: an ethological approach. **Biological Reviews**, v. 81, n. 2, p. 183-205, 2006.

WOODS, Stephen C.; D'ALESSIO, David A. Central control of body weight and appetite. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, n. 11\_supplement\_1, p. s37-s50, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. World Health Organization, 2000.

\_\_\_\_\_. **Obesity and overweight**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 09 jul. 2019a.

\_\_\_\_\_. **Cardiovascular diseases (CVDs)**. Disponível em: <[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))>. Acesso em: 09 jul. 2019b.

YANG, Tianle; CHAN, Noel Yan-Ki; SAUVE, Anthony A. Syntheses of nicotinamide riboside and derivatives: effective agents for increasing nicotinamide adenine dinucleotide concentrations in mammalian cells. **Journal of medicinal chemistry**, v. 50, n. 26, p. 6458-6461, 2007.

YANG, Yue; SAUVE, Anthony A. NAD<sup>+</sup> metabolism: Bioenergetics, signaling and manipulation for therapy. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v. 1864, n. 12, p. 1787-1800, 2016.

YI, Chun-Xia et al. High-fat-diet exposure induces IgG accumulation in hypothalamic microglia. **Disease models & mechanisms**, v. 5, n. 5, p. 686-690, 2012.

YOSHINO, Jun et al. Nicotinamide mononucleotide, a key NAD<sup>+</sup> intermediate, treats the pathophysiology of diet-and age-induced diabetes in mice. **Cell metabolism**, v. 14, n. 4, p. 528-536, 2011.