

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Características bioquímicas da supressora de tumor TP53 e suas alterações a partir de uma  
dieta contendo glutamato monossódico

Pedro Luís Fígaro de Almeida

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção  
do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Ituiutaba - MG

Julho - 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Características bioquímicas da supressora de tumor TP53 e suas alterações a partir de uma  
dieta contendo glutamato monossódico

Pedro Luís Fígaro de Almeida

Luciana Karen Calábria

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção  
do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Ituiutaba - MG

Julho - 2022

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais, Maria Cecília e Muraci Almeida. Sou imensamente grato pelo carinho, amor, esforço e confiança que depositaram em minha educação e no desenvolvimento da pessoa que sou hoje, sem eles eu não estaria cursando uma Universidade e terminando minha graduação atual.

Aos meus amigos de faculdade e principalmente meus “irmãos” da república a qual faço parte, pois com eles pude compartilhar de momentos felizes e descontraídos, sendo alguns de ensinamentos e conselhos que irei carregar por toda vida, fazendo com que essa caminhada fosse mais fácil.

Ao meu primo Victor, que mesmo estando fora do país foi um pilar para minha inspiração, me ajudando em momentos de ansiedade com sua clareza, depositando confiança na pessoa que sou.

À minha professora de graduação e orientadora deste TCC, Dra. Luciana Calábria, a qual compartilho admiração e respeito por todo seu trabalho de excelência exercido nesta faculdade, a qual me guiou neste trabalho com muito respeito, educação, prestatividade e apreço. Sou extremamente grato pela oportunidade de ser seu orientando e da amizade que construímos.

E por fim, contudo não menos importante, à Universidade Federal de Uberlândia – *Campus* Pontal por seu corpo docente, técnicos e trabalhadores que fizeram parte da minha história.

## RESUMO

A proteína supressora de tumor TP53 é uma fosfoproteína de extrema importância na regulação do organismo contra tumores, mutações e danos na integridade celular devido a sinais de estresse. Apesar do gene *TP53* ser responsável por gerar nove isoformas devido a *splicings* e regiões promotoras, a TP53 apresenta em sua composição 393 aminoácidos e quatro domínios, sendo eles com importante papel na transcrição de genes-alvo que atuam em resposta a danos no DNA ou estresses celulares causados pelo ambiente e compostos citotóxicos, a exemplo, o glutamato monossódico, um aditivo amplamente presente nos alimentos processados, como molhos, temperos e salgadinhos. Devido à inúmeras funções estabelecidas pela TP53, o presente trabalho teve como objetivo relacionar a influência do glutamato monossódico na via de sinalização apoptótica mediada pela TP53. Por meio de ferramentas da bioinformática e revisão da literatura científica, constatou-se que a presença nuclear e citoplasmática da supressora de tumor, bem como dos genes *BAX* e *BCL-2* expressos na mesma via pode ser alterada devido ao estresse acarretado pelo uso exacerbado e contínuo do glutamato monossódico. Para entender todas as complicações causadas na via apoptótica pelo uso do glutamato monossódico são necessários estudos mais aprofundados sobre os genes e proteínas envolvidos nas modificações mitocondriais e que podem prejudicar a homeostase celular.

**Palavras-chaves:** *tumor protein p53*, realçador de sabor, bioinformática.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>6</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>14</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>33</b>

## INTRODUÇÃO

Por anos, os aditivos foram utilizados pelos nossos ancestrais para diversas finalidades indiscutíveis na alimentação, incluindo sais para a preservação de alimentos a diferentes temperos provenientes de ervas com intuito gustativo (FDA, 2010). A necessidade de controle e caracterização dos aditivos é de extrema importância, visto a cultura atual pela substituição de alimentos *in natura* por processados (ver POLÔNIO; PERES, 2009), levando diversos Comitês Nacionais e Internacionais a atuarem na regulamentação dessas substâncias químicas, sendo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a responsável por elaborar a legislação no Brasil (FERREIRA; FREIRE, 2020).

Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA, 2010) e o Ministério da Saúde (BRASIL, 1997), o aditivo alimentar é qualquer substância adicionada a um alimento sem a intenção de nutrir, interagindo direta ou indiretamente na alteração de suas características, portanto, incluindo substâncias utilizadas no armazenamento, transporte, produção, processamento, tratamento e até mesmo na embalagem do alimento.

O glutamato monossódico é um famoso aditivo alimentar usado como realçador de sabor em diversos alimentos, como molhos, temperos de instantâneos, salgadinhos, e processados no geral, sendo também conhecido como “vetsin” nas Filipinas (ALBRAHIM; BINOBEAD, 2018; AJINOMOTO, 2022). Foi inicialmente descoberto por Kikunai Ikeda em 1908 ao sentir um novo tipo de sabor distinto dos básicos (salgado, azedo, doce e amargo), ao ingerir uma sopa simples de algas chamada “dashi”, comumente preparada no Japão ao adicionar água fervente ao “kombu” (alga). Ao separar os constituintes do kombu seco, Ikeda notou a presença de glutamato, posteriormente nomeando o sabor como “umami” (YAMAGUCHI, 1979; YAMAGUCHI; NINOMIYA, 2000).

Quimicamente, o glutamato monossódico não apresenta um consenso em relação a sua estrutura e composição química, portanto, optou-se por utilizar este formato para sua classificação: (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>NNaO<sub>4</sub>, IUPAC: *sodium;(2S)-2-amino-5-hydroxy-5-oxopentanoate*), é um sal de sódio do ácido glutâmico, um dos 20 aminoácidos não essenciais presentes em nosso corpo e em diversos alimentos (FDA, 2012), também chamado de glutamato. Apesar de dúvidas de pesquisadores sobre a participação do glutamato como neurotransmissor, estudos recentes garantem sua interação excitatória nas células do sistema nervoso central em mamíferos, atuando através dos receptores ionotrópico e metabotrópico (ver GARATTINI, 2000; PAVLOVIĆ et al., 2007).

O *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA), em seu 31º relatório de aditivos alimentares, emitiu notas a respeito do uso do glutamato monossódico, alocando sua ingestão diária aceitável (IDA) como “não específica”, ou baixa toxicidade, para o L-glutâmico e seus sais de monossódio, potássio, cálcio e amônio. Assim, apesar do JECFA em 1987 alertar sobre os cuidados na ingestão de uma única dose alta devido aos elevados níveis de glutamato, os quais podem ser mensurados no plasma sanguíneo, declarou também não haver perigo à saúde humana, sem restrições às mulheres grávidas e crianças, uma vez que o glutamato é metabolizado em todas as faixas etárias (WHO, 1987).

No Brasil, o Governo Federal por meio da Resolução – RDC nº 329/2019 (BRASIL, 2019) autorizou o uso do glutamato monossódico em pescados e seus produtos, assim como sua liberação por meio da Resolução - RDC nº 1/2001 (BRASIL, 2001), indicando sua finalidade como realçador de sabor e seu limite máximo como “*quantum satis*”, deixando livre a sua utilização aos fabricantes. Segundo o art. 3º, § 1º da Resolução - RDC Nº 329/2019: “Os limites máximos previstos correspondem aos valores a serem observados no produto pronto para consumo, preparado de acordo com as instruções do fabricante.” (BRASIL, 2019), notando-se

pouca preocupação no emprego abusivo deste aditivo durante todas as etapas de distribuição dos pescados e seus produtos, assim como outros alimentos que compartilham deste aditivo.

Tal como outros aditivos, o glutamato monossódico com o tempo foi gerando dúvidas em relação aos possíveis problemas de saúde que poderiam ser causados com o seu uso. Atualmente, a empresa AJI-NO-MOTO<sup>®</sup> é a líder em produção e divulgação desta substância em diversificados alimentos (MST, 2013) e uma de suas principais defesas a favor do uso do glutamato monossódico é que, ao substituir o sal de cozinha nas receitas, pode levar à redução de 40% na utilização do sódio (AJINOMOTO, 2022). No entanto, pesquisas realizadas pela PROTESTE sugerem cuidado ao comprar temperos e alimentos que possuam em seus rótulos o glutamato monossódico, por apresentar alta concentração de sódio em seus processados e ultrapassarem a ingestão diária de 2 gramas de sódio recomendada pela Organização Mundial da Saúde (AGÊNCIA BRASIL, 2009; PROTESTE, 2017).

Devido aos relatos de possíveis reações adversas sobre o glutamato monossódico, a FDA contratou a FASEB (*Federation of American Societies for Experimental Biology*) com o intuito de analisar dados relacionados à “Síndrome do Restaurante Chinês”, tema extensivamente debatido na revisão de Walker; Lupien (2000). No relatório foi usado o termo “complexo sintomático do glutamato monossódico” ao invés da primeira expressão mencionada, no intuito de evitar definições pejorativas. A pesquisa analisou inúmeros relatos e documentos que mencionavam as diversas reações: sensação de queimação na nuca, antebraços e peito; pressão facial; dor no peito e de cabeça; náuseas; palpitações; dormência na nuca que irradiava pelos braços; formigamento, calor e fraqueza na parte superior das costas, pescoço e braços; broncoespasmos (observados apenas em asmáticos); e sonolência. Contudo, por mais que os dados sejam considerados inconclusivos, com a maioria sem sintomas, há um subgrupo de pessoas saudáveis que responderam após a ingestão de 3 gramas de glutamato monossódico



(RAITEN; TALBOT; FISHER, 1995). Estes estudos são importantes, porém superficiais, apenas introduzindo algumas suspeitas em relação ao uso do glutamato monossódico.

Ainda, Asero (2002) debateu sobre a raridade da intolerância a aditivos como causa primária da urticária, porém, indicando o glutamato monossódico como um intensificador deste sintoma, relacionando-o com a “Síndrome do Restaurante Chinês” em uma mulher de meia idade com histórico de urticária crônica e rinite perene há mais de 10 anos. Neste caso, após dieta restritiva, houve melhora dos sintomas, mas em teste oral duplo-cego controlado por placebo, a ingestão de 100 mg de glutamato monossódico se destacou causando reação de urticária severa.

Em revisão, Walker; Lupien (2000) retratam de forma ampla o aumento dos níveis de glutamato no plasma após altas ingestões parenterais e por gavagem de glutamato monossódico em ratos e primatas, porém sem reações adversas. A JECFA considerou diversos estudos relacionados à neurotoxicidade feitos em animais, revelando necrose focal no núcleo arqueado do hipotálamo, horas após a administração parenteral ou doses muito altas por gavagem, o que serviu para classificar o glutamato monossódico em sua avaliação de segurança em 1987 (WHO, 1987). Ainda, Ataseven et al. (2016) demonstraram genotoxicidade causada pelo glutamato monossódico em linfócitos humanos acarretando em aberrações cromossômicas, bem como Pavlović et al. (2007) que observaram o aumento na apoptose mediada pelo intensificador de sabor em linhagens *in vitro* de timócitos de ratos, assim como a diminuição da expressão da proteína anti-apoptótica BCL-2 e nenhuma alteração relativa à proteína pró-apoptótica BAX, ambas presentes na via de sinalização da TP53.

Sharma et al. (2014) relataram uma regulação negativa do glutamato monossódico em algumas proteínas do sistema renal, sugerindo um mecanismo de defesa dos rins, uma vez que altos níveis de glutamato no local-alvo podem causar excitação contínua das células, levando à apoptose (WALKER; LUPIEN 2000; GARATTINI, 2000), o estresse oxidativo em testes de

longa duração, alterando o proteoma renal (SHARMA et al., 2014), bem como em danos na membrana celular com alterações significativas nas organelas das células do rim (AFEEFY; MAHMOUD; ARAFA, 2012) ou nas células hepáticas e renais pelo aumento dos produtos da peroxidação lipídica por meio da ingestão de altas doses do realçador de sabor (ORTIZ et al., 2006).

No sistema reprodutor masculino, Iamsaard et al. (2014) demonstraram diminuição dos níveis de testosterona após administração do glutamato monossódico, bem como alteração de morfometria tecidual. Em outros tecidos, Shredah et al. (2017) revelaram basofilia citoplasmática em cortes de gengiva de ratos tratados com glutamato monossódico, assim como alterações histológicas, diminuição da qualidade do DNA, em decorrência do estresse oxidativo. Mudanças degenerativas nas células do intestino delgado e alterações nas células foliculares da tireoide também foram relatadas em estudos anteriores (EWEKA; OM'INIABOHS, 2007; KHALAF; ARAFAT, 2015).

A compreensão dos efeitos colaterais duradouros e a toxicidade do glutamato monossódico no metabolismo celular ainda são controversos, necessitando correlações entre tantas informações na literatura para uma conclusão segura sobre este aditivo. Hazzaa et al. (2020) apresentaram dados em relação aos efeitos colaterais do glutamato monossódico aplicado intraperitonealmente por sete dias consecutivos em diferentes doses e grupos de ratos, sendo notáveis os resultados no grupo tratado, destacando a perda de peso, alterações no eletrocardiograma, aumento da frequência cardíaca, hipercolesterolemia, aumento dos índices aterogênicos, estresse oxidativo e superexpressão da proteína TP53, induzindo apoptose das células de fibras musculares cardíacas.

A expressão da TP53 está relacionada a diferentes estímulos, contudo, perturbações moleculares certamente devem ser consideradas visto o papel da proteína em manter a integridade do DNA (LANE, 1992). Coincidentemente o aumento da expressão da TP53 foi

relatado no estudo de Albrahim; Binobead (2018) após ingestões elevadas de glutamato monossódico por ratos machos, causando danos no DNA de células hepáticas.

O aumento no número de células cancerígenas das linhagens SW620 e SW480 do colorretal com alteração na expressão dos genes responsáveis pela metástase, assim como na TP53 mutante, que aparenta manter seu papel na ativação de genes-alvo envolvidos no dano ao DNA, pode estar associado com a administração de glutamato monossódico, indicando um possível efeito carcinogênico (AL HARGAN; DAGHESTANI; HARRATH, 2023). Assim, estudos de análise quantitativa são importantes pela dificuldade na detecção da TP53 ativa devido ao fato desta proteína em seu estado selvagem ter tempo de meia-vida curto e ser rapidamente degradada (REICH; OREN; LEVINE, 1983; JÚNIOR; KLUMB; MAIA, 2002).

A TP53 é uma proteína considerada como “guardião do genoma” (LANE, 1992), sendo descrita inicialmente em 1979 em células que sofreram alterações devido ao antígeno do vírus SV40 (LINZER; MALTZMAN; LEVINE, 1979; LANE; CRAWFORD, 1979). Sendo expressa pelo gene supressor de tumor *TP53*, a proteína TP53 é imprescindível no mecanismo de combate a possíveis mutações gênicas, ativando fatores de transcrição relacionados ao reparo do DNA (FARMER et al., 1992), interrompendo o ciclo celular na fase G1/S ou induzindo a morte celular programada através de diversas vias e cascatas de ativação. Aparentemente, a maioria dos cânceres podem conter mutações no próprio gene *TP53* ou em sua via de sinalização (ver AYLON; OREN, 2011).

Vários fatores podem regular os níveis celulares da TP53, como demonstrado em células transformadas pelo vírus SV40 e do carcinoma embrionário que apresentaram níveis atípicos da proteína e do RNAm, confirmando que o aumento na síntese e o adiamento de sua meia-vida na célula em relação às respostas exógenas podem influenciar na permanência da TP53 em células transformadas (REICH; OREN; LEVINE, 1983). Inclusive, sabe-se que a proteína TP53 é essencial no controle de células mutantes, assim como no combate à carcinogênese (FETT-

CONTE; SALLES, 2002). Contudo, antes mesmo de sua descoberta, Li; Fraumeni (1969) relataram a possibilidade de uma síndrome familiar que causava predisposição ao sarcoma de tecidos moles em crianças, câncer de mama e outras neoplasias em adultos jovens, dentre outros carcinomas (LI et al., 1988). A Síndrome de Li-Fraumeni, por exemplo, é uma doença hereditária autossômica dominante que pode ser adquirida pela ação de apenas um alelo entre as gerações por células germinativas, sendo causada por mutações no gene *TP53* ou componentes de sua via de sinalização (ver MALKIN, 2011; CANCER.NET, 2020).

A partir dos estudos já relatados, é possível pressupor que o glutamato monossódico interage direta ou indiretamente na via de sinalização da TP53 por mecanismos a serem estudados. Em virtude de diversos sinais de estresses, sendo os mais comuns, os raios gama, choque térmico, drogas genotóxicas e radiação ultravioleta (UV) (KEGG, 2022), a TP53 pode ser ativada por diferentes mecanismos pós-traducionais (NAKAMURA et al., 2002), como a fosforilação de quinases (MACLAINE; HUPP, 2011).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Descrever as características bioquímicas da TP53 e revelar as possíveis alterações de sua expressão na via apoptótica a partir de uma dieta contendo glutamato monossódico.

### **Objetivos específicos**

- Descrever as características bioquímicas da TP53;
- Investigar as propriedades químicas do glutamato monossódico e sua ação no organismo vivo; e
- Correlacionar a expressão de TP53 na via apoptótica a partir da dieta contendo glutamato monossódico.

## METODOLOGIA

Neste estudo realizou-se um levantamento bibliográfico, sendo aceitos artigos originais e de revisão, livros e capítulos, sem restrição de idioma ou ano de publicação sobre o tema central do estudo. Para a busca foram utilizadas as plataformas Google acadêmico, Scielo, Periódicos Capes e PubMed, e os descritores “p53”, “apoptose” e “glutamato monossódico”, bem como os seus correspondentes em inglês. Além disso, os operadores booleanos como AND e OR foram empregados para otimizar o levantamento direcionado.

Para a caracterização bioquímica da proteína TP53 de *Homo sapiens*, bem como seus aspectos fisiológicos, utilizou-se ferramentas da bioinformática, incluindo bancos de dados e *softwares* de livre acesso. A sequência de aminoácidos no formato FASTA foi obtida através do NCBI - *National Center of Biotechnology Information* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e UniProtKB (<https://www.uniprot.org/>).

As características moleculares da proteína e frequência dos aminoácidos foram reveladas consultando a ferramenta ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) no banco de dados ExPASy. Por meio do PsiPred - *Predict Secondary Structure* (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>) foi possível prever a estrutura secundária da proteína, incluindo a composição de arranjos e polaridade dos aminoácidos. Entretanto, para fins de validação, o PDB - *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>) e AlphaFold - *Protein Structure Database* (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>) também foram utilizados para obter a predição da estrutura proteica, confirmadas por meio da sequência no formato FASTA no SwissModel (<https://swissmodel.expasy.org/>).

A partir do UniProtKB informações gerais sobre a proteína também foram reveladas, a qual os dados foram validados por meio do PFAM (<https://pfam.xfam.org/>) para domínios, ScanProsite (<https://prosite.expasy.org/scanprosite>) para sítios ligantes, NetPhos (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetPhos-3.1>) para sítios de fosforilação,

NetOGlyc (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetOGlyc-4.0>) e NetNGlyc (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetNGlyc-1.0>) para sítios de glicosilação, e Myristoylator (<https://web.expasy.org/myristoylator/>), MYR Predictor (<https://mendel.imp.ac.at/myristate/SUPLpredictor.htm>) e GPS-Lipid (<https://lipid.biocuckoo.org/>) para sítios de miristoilação.

Ainda, a partir do *The Human Protein Atlas* (<https://www.proteinatlas.org/>) foi possível levantar a expressão diferencial da TP53 em diferentes órgãos. A localização celular da TP53 foi demonstrada por meio do PSORT II Prediction (<https://psort.hgc.jp/>) e CELLO - *Subcellular Localization Predictor* (<http://cello.life.nctu.edu.tw/>).

Por fim, considerando o mapa de sinalização da TP53 obtido no KEGG - *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (<https://www.genome.jp/kegg/>) e as características químicas do glutamato monossódico levantadas no PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) foi possível traçar os possíveis efeitos de uma dieta contendo glutamato monossódico na expressão e nas características bioquímicas da TP53.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da busca no NCBI pela proteína TP53 em *Homo sapiens*, dos mais de 300 depósitos encontrados, apenas um foi selecionado considerando como critérios a quantidade de aminoácidos, a data de registro e revisão do depósito, a validação das informações com o banco de dados UniProtKB e a quantidade de referências científicas relacionadas. Sendo assim, o depósito AAH03596.1 foi selecionado no NCBI, o qual seguiu as demais análises, com sequência primária de 393 aminoácidos (Tabela 1), dos quais a prolina e triptofano se destacam em maior e menor frequência, respectivamente, e massa molecular de 53 kDa (SOUSSEI, 2003), mas 43,65 kDa indicada pelo UniProtKB (2022) (Figura 1).

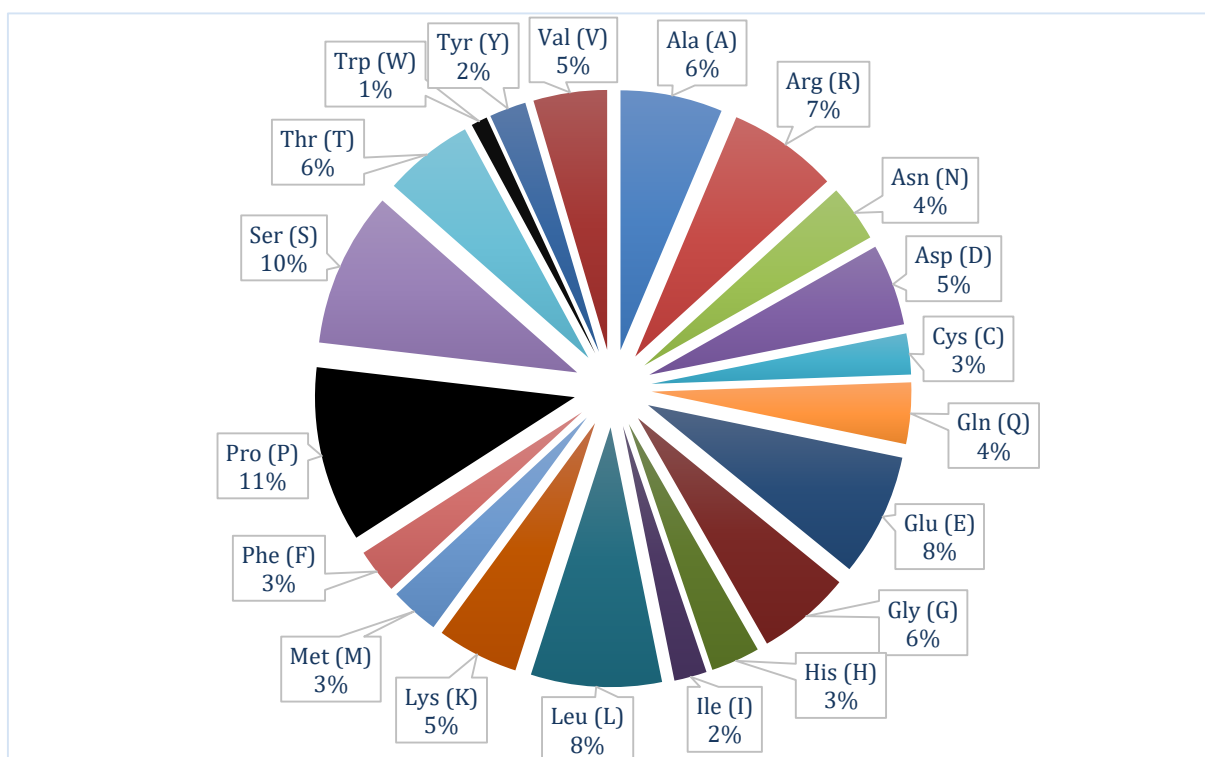
**Tabela 1:** Características da proteína TP53, incluindo códigos de acesso, nome de descrição e sequência de aminoácidos no formato FASTA

Códigos de acesso	Nome de descrição	Sequência de aminoácidos (393 aa)
NCBI: AAH03596.1 UniProtKB: P04637	Tumor protein p53 [Homo sapiens]	>AAH03596.1 Tumor protein p53 [Homo sapiens] MEEPQSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLPE NNVLSPLPSQAMDDLMLSPDDIEQWFT EDPGPDEAPRMPEAAPRVAPAPAAPTPA APAPAPSWPLSSSVPSQKTYQGSYGFRL GFLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQLA KTCPVQLWVDSTPPPGTRVRAMAIYKQ SQHMTEVVRRCPHHERCSDSDGLAPPQ HLIRVEGNLRVEYLDDRNTFRHSVVVP YEPPEVGSDCTTIHYNMCMSSCMGGM NRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVC ACAGRDRRTEENLRKKGEPHHELPPG STKRALPNNTSSSPQPKKKPLDGEYFTL QIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGK EPGGSRAHSSHLKSKKGQSTSRHKKLM FKTEGPDS

Fonte: O Autor. Dados extraídos do NCBI (2022) e UniProtKB (2022).



Ao analisar os aminoácidos e suas frequências na sequência proteica podemos inferir a maneira que a proteína irá se organizar em seus arranjos espaciais. O fato de cada aminoácido ter tamanho e polaridade diferentes, sendo classificados como polares, apolares, hidrofóbicos e aromáticos, resulta em diferentes cadeias moleculares a partir da diversidade das interações físico-químicas e, conseqüentemente, na vida que estudamos atualmente (ALBERTS et al., 2006). Portanto, a partir das predições dos arranjos da TP53, é possível observar que a composição desta proteína não revela diferença significativa na proporção de aminoácidos polares (n=138) e apolares (n=151), porém com baixa frequência de hidrofóbicos (n=70) e aromáticos (n=34) (Figura 2A), sucedendo em sete arranjos alfa-hélice e treze em conformação-beta (Figura 2B).

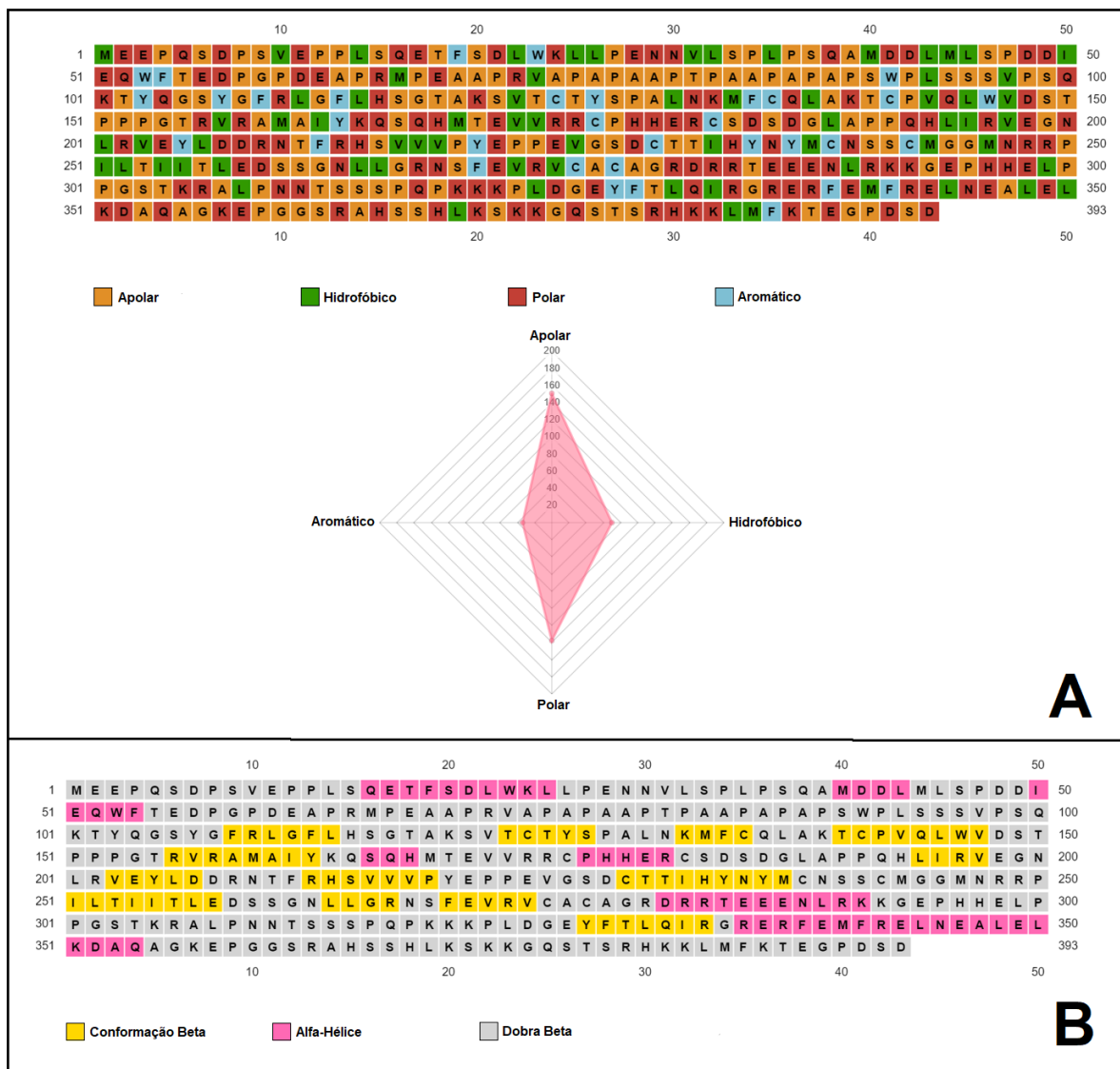


**Figura 1:** Composição e frequência dos aminoácidos na sequência primária da TP53 em humano, com destaque (em preto) para prolina e triptofano em maior e menor frequência, respectivamente. Fonte: O Autor. Dados extraídos do ProtParam utilizando a sequência primária no formato FASTA.

O enovelamento da proteína TP53 a partir das sequências primária e secundária não está totalmente elucidado de maneira unitária. Nos principais bancos de dados, como PDB e AlphaFold, existem diversos depósitos, mas sempre com a TP53 ligada a outra proteína, enzima, fármaco, ou ainda, apenas um domínio ou fragmento proteico. Duas estruturas tridimensionais da proteína completa com os 393 aminoácidos são mencionadas no UniProtKB (2022), sendo um depósito no PDB (Figura 3A) e outro de predição no AlphaFold (Figura 3B), ambos validados pelo SwissModel, confirmando a existência de nove isoformas ( $\alpha$ TP53,  $\beta$ TP53,  $\gamma$ TP53,  $\delta$ 133TP53,  $\delta$ 133TP53 $\gamma$ ,  $\delta$ 133TP53 $\gamma$ ,  $\delta$ 40TP53,  $\delta$ 40TP53 $\beta$ , e  $\delta$ 40TP53 $\gamma$ ) (KHOURY; BOURDON, 2010), das quais algumas possuem distinção em relação a preferência de ligação aos promotores de genes-alvo, por exemplo, enquanto a  $\beta$ TP53 liga-se preferencialmente ao promotor do gene *BAX*, a  $\alpha$ TP53 liga-se (cinco vezes mais aos promotores dos) genes *P21* e *MDM2* (*murine double minute 2*), o que demonstra a importância das isoformas no processo de modulação de genes-alvo da TP53 e na resposta pró-apoptótica (BOURDON et al., 2005).

Esse trabalho baseou-se nas informações fornecidas pelos bancos de dados de bioinformática, nos quais a diversificação da TP53 foi revelada em nove isoformas. Contudo, alguns estudos flertam com a ideia do gene *TP53* poder gerar mais três isoformas, contabilizando 12 no total (VIELER; SANYAL, 2018; MEHTA et al., 2021).

Ao analisar a estrutura terciária de proteínas é possível encontrar regiões que exercem funções específicas e que são de extrema importância para o funcionamento da molécula após ser totalmente traduzida, sendo nomeadas de domínios. A TP53 é uma proteína monomérica conjugada e apresenta quatro domínios que prevalecem em sua caracterização, sendo eles o de ligação da proteína ao DNA (posição 99-289), os de transativação (TDA1 e TDA2; posições 6-30; 35-59) e de motivo de tetramerização (posição 319-358) (NCBI, 2022; PFAM, 2022).

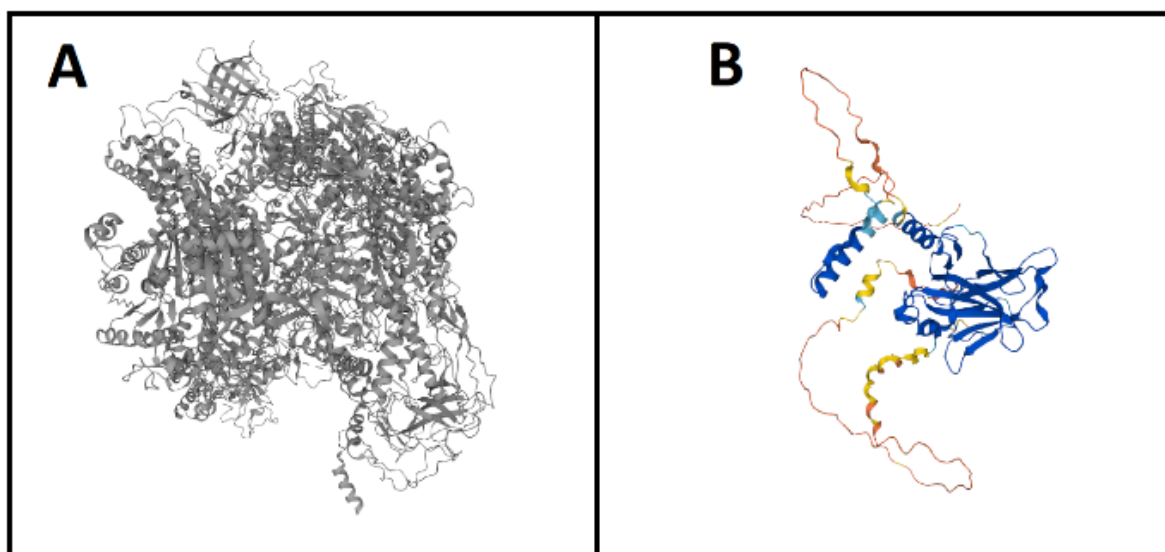


**Figura 2:** Distribuição dos aminoácidos polares (vermelho), apolares (laranja), hidrofóbicos (verde) e aromáticos (azul) que compõem a sequência primária da TP53 (A), e a predição de seus arranjos (B) alfa-hélice (rosa), conformação-beta (amarelo) e dobra-beta (cinza). Fonte: O Autor. Adaptado de Psipred utilizando a sequência de aminoácidos no formato FASTA.

Contudo, mutações pontuais nos códons que não comprometem o processo de tradução a ponto de truncamento resultam em proteínas inativas que não funcionam corretamente diante da alteração de seus domínios. Por exemplo, o domínio da TP53 de ligação ao DNA é protagonista quando avaliamos o seu papel na interação a genes-alvo importantes para a parada do ciclo celular ou indução apoptótica, e mutações nesta região é uma das principais causas na

inativação da TP53 contra a carcinogênese (VIELER; SANYAL, 2018), em contraste, a superexpressão de MDM2 pode regular negativamente o papel da TP53 por se ligar aos domínios de transativação, impossibilitando a realização da sua função transcricional nos genes-alvo (KUSSIE et al., 1996). Este fator se difere entre as nove isoformas, pois elas são geradas a partir de *splicings* e alternância das regiões promotoras escolhidas no momento da transcrição, a qual o *TP53* demonstrou ter um promotor interno no intron-4, ou seja, confirmando a descrição de uma estrutura de gene duplo (KHOURY; BOURDON, 2010), garantindo a versatilidade de formas estruturais atuantes em diferentes regiões da célula (núcleo e citoplasma) mediados por diversos sinais de estresse (MURRAY-ZMIJEWSKI; LANE; BOURDON, 2006).

Todas as nove isoformas da TP53 são expressas (RNAm) em tecidos normais, contudo, há uma certa seletividade da expressão variada pela regulação de cada tecido (BOURDON et al., 2005). No presente estudo dados foram levantados da isoforma 1 contendo 393 aminoácidos, também conhecida como  $\alpha$ TP53 com ID P04637-1 (UNIPROT, 2022).



**Figura 3:** Estrutura química tridimensional da TP53. **A:** Estrutura depositada no PDB (6XRE) obtida por microscopia eletrônica em conjunto com a RNA polimerase II; **B:** Estrutura predita no AlphaFold (AF-P04637-FI). Fonte: O Autor. Adaptada do UniProtKB, ID P04637-1.

O gene da TP53 apresenta motivos proteicos, que segundo D'Haeseleer (2006) são pequenos sítios padrões recorrentes no DNA repetidos entre as isoformas, não ultrapassando o número de 20 aminoácidos, a qual presume-se ter alguma função biológica, como na ligação de nucleases ou fatores de transcrição (UNIPROT, 2022), incluindo sinais nucleares, com destaque para TAD1 e TAD2, ambos participantes na supressão tumoral (RAJ; ATTARDI, 2017).

Alguns vieses de composição, como alterações que correspondem à adaptação do organismo a um nicho ecológico extremo ou como assinatura de uma função específica (ANTONETS; NIZHNIKOV, 2013) estão descritos para TP53, sendo pro resíduos (posição 64-92), resíduos ácido-básicos (posição 282-301), resíduos polares (305-319) e resíduos básicos (posição 366-380) (UNIPROT, 2022).

Quanto à classificação e similaridade, a TP53 apresenta cadeias homólogas às proteínas supressoras de tumor TP63 e TP73 que são membros de sua família, contudo ambas atuam de forma distinta em nosso sistema, incluindo a participação na via de sinalização, inibindo ou ativando a própria TP53 (RIBEIRO-SILVA; ZUCOLOTO, 2003).

A importância das modificações pós-traducionais na TP53 feitas por enzimas responsáveis por detectar danos ao DNA, após diferentes sinais de estresse, fornecem a comunicação necessária à proteína de que há dano na integridade do genoma, seja por meio da fosforilação, acetilação, metilação e/ou ubiquitinação (APPELLA; ANDERSON, 2001; HARRIS; LEVINE, 2005).

Em relação à fosforilação, os sítios indicados pelo PROSITE foram validados pelo NetPhos, sendo identificados 38 resíduos-alvo (27 serina e 11 treonina) de diferentes quinases (Quadro 1), de uma sequência de resíduos-alvo de fosforilação da proteína tirosina quinase (320-327; KPLDGEY). Maclaine; Hupp (2011) descreveram em sua revisão a importância de alguns sítios de fosforilação, como a Ser20 na função apoptótica da TP53 e supressão tumoral,

a qual diferentes quinases são responsáveis em fosforilar esses sítios em resposta a diversos estresses celulares.

**Quadro 1:** Sítios de fosforilação e glicosilação da proteína TP53

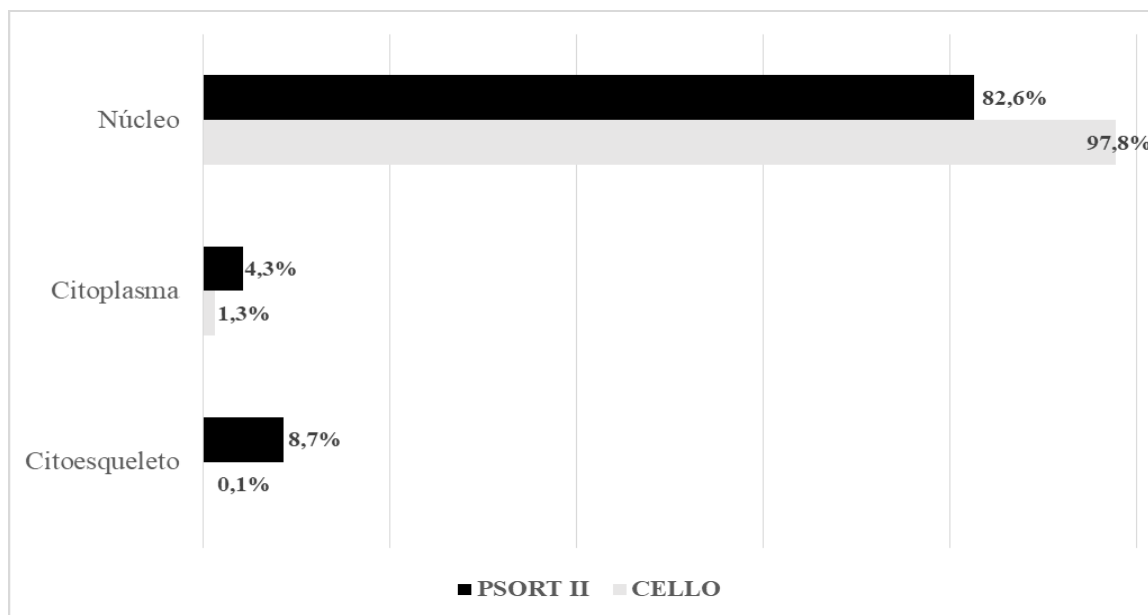
Sítios	Resíduos de aminoácido-alvo
Fosforilação da proteína quinase A (PKA)	Ser183, Ser215 e Ser269
Fosforilação da proteína quinase C (PKC)	Ser96, Ser99, Ser106, Ser116, Thr118, Thr125, Ser166, Thr211, Ser303, Thr304, Ser314, Ser367, Ser371, Ser376, Thr377 e Ser378
Fosforilação da proteína caseína quinase I (CK1)	Thr18
Fosforilação da proteína caseína quinase II (CK2)	Ser6, Thr18, Ser46, Thr55, Ser183, Thr256 e Thr284 e Ser392
Fosforilação da tirosina quinase	320-327
Fosforilação da proteína ataxia telangiectasia mutada (ATM)	Ser9, Ser15, Ser20, Ser46, Ser99 e Ser166
Fosforilação da proteína quinase dependente de DNA (DNAPK)	Ser15, Ser37 e Ser99
Fosforilação da proteína quinase ativada por mitógeno p38 (p38MAPK)	Ser33, Ser127 e Thr150
Fosforilação da glicogênio sintase quinase 3 (GSK3)	Ser33, Ser46 e Ser90
Fosforilação da proteína quinase 2 dependente de ciclina (cdc2)	Ser96, Ser149, Ser166, Ser183, Ser240, Ser314 e Ser371
Fosforilação da proteína quinase 5 dependente de ciclina (cdk5)	Thr81 e Ser127
Fosforilação da proteína quinase ribossomal (RSK)	Ser366
<i>N</i> -glicosilação	Asn310 e Asn311
<i>O</i> -glicosilação	Ser6, Ser9, Thr81, Ser90, Ser94, Ser95, Ser96, Ser303, Thr304, Thr312, Ser313, Ser314, Ser315, Ser362, Ser366, Ser367, Ser371, Ser376, Thr377 e Ser378

Fonte: O Autor. Dados extraídos do PROSITE e validados pelo NetPhos, NetNGlyc e NetOGlyc.

A glicosilação também ocorre na TP53 e está relacionada a modificações na região C-terminal da proteína (PRIVES; HALL, 1999). Os sítios levantados inicialmente no PROSITE foram validados no NetNGlyc e NetOGlyc confirmando os dois tipos de glicosilação. Na validação, o banco de dados NetNGlyc indicou que apenas os resíduos Asn310 e Asn311 são possíveis para N-glicosilação (Quadro 1), descartando o resíduo Asn239 devido ao baixo *score* (<0,400). Por outro lado, a O-glicosilação foi indicada em 16 resíduos de serina e em quatro resíduos de treonina (Quadro 1). No câncer, a regulação negativamente da proliferação celular depende da ação de genes supressores de tumor, como a TP53, por exemplo, na qual potenciais sítios de glicosilação e suas funções podem ser controladas por modificação de O-GlcNAc e fosforilação. Acredita-se que a O-glicosilação da TP53 no resíduo Ser149 promova sua atividade supressora de tumor ao inibir sua fosforilação em Thr155 (YANG et al., 2006; FARDINI et al., 2013), podendo amplificar sua atividade pró-oncogênica (FARDINI et al., 2013).

Pelo PROSITE ainda há a predição de cinco intervalos de sítios de N-miristoilação (117-122, 226-231, 262-267, 360-365 e 374-379), porém, esse dado não foi validado por três programas distintos (Myristoylator, MYR Predictor e GPS-Lipid). A miristoilação é uma modificação de lipidação em que um grupo miristoil é covalentemente ligado a um resíduo de glicina N-terminal, permitindo interações fracas proteína-proteína e proteína-lipídio, como papel essencial no direcionamento de membrana no câncer, nas vias de transdução de sinal e na apoptose. A morte celular pode ocorrer por ativação mitocondrial ou mediada por receptor com a formação do complexo de sinalização composto de várias proteínas, incluindo as caspases, as quais clivam várias proteínas que são subsequentemente miristoiladas (FARAZI; WAKSMAN; GORDON, 2001; MARTIN; BEAUCHAMP; BERTHIAUME, 2011). Harris; Levine (2005) indicam que a TP53 possui outros sítios de modificação pós-traducional, como acetilação,

metilação e ubiquitinação, os quais não são identificados pelo PROSITE a partir da análise da sequência primária da proteína no formato FASTA.



**Figura 4:** Presença da proteína TP53 nas diferentes regiões subcelulares. Fonte: O Autor. Dados extraídos do CELLO e PSORT II utilizando a busca a partir da sequência primária no formato FASTA.

Os dados de localização subcelular da isoforma 1 revelados pelo UniProt indicam o núcleo como região predominante, mas também havendo indícios de localização no citoplasma quando a isoforma 1 está expressa com a isoforma 4 (UNIPROTKB, 2022). A validação por meio do PSORT II e CELLO indicaram discrepância de dados quanto à localização citoplasmática (Figura 4), confirmando a prevalência do núcleo como principal região subcelular.

Apesar da obviedade em se relacionar a localização nuclear da TP53 ao fato de sua atuação na transativação de genes-alvo para a parada do ciclo celular, reparo do DNA e apoptose (LANE, 1992), há diversidades em sua atuação promovendo também a transcrição de genes envolvidos nos processos bioquímicos das mitocôndrias, uma vez que a deficiência de



TP53 nesta via acarreta na diminuição do consumo de oxigênio. Isto pode estar relacionado ao fato das células malignizadas realizarem apenas a glicólise em seu benefício, uma vez que a TP53 perderia seu papel em transativar proteínas essenciais no processo de respiração aeróbica, sendo este um dos exemplos de como outras vias promovem a tumorigênese sem envolver a regulação do ciclo celular, dando ênfase na complexidade de atuação da TP53 em nosso organismo (MATOBA et al., 2006).

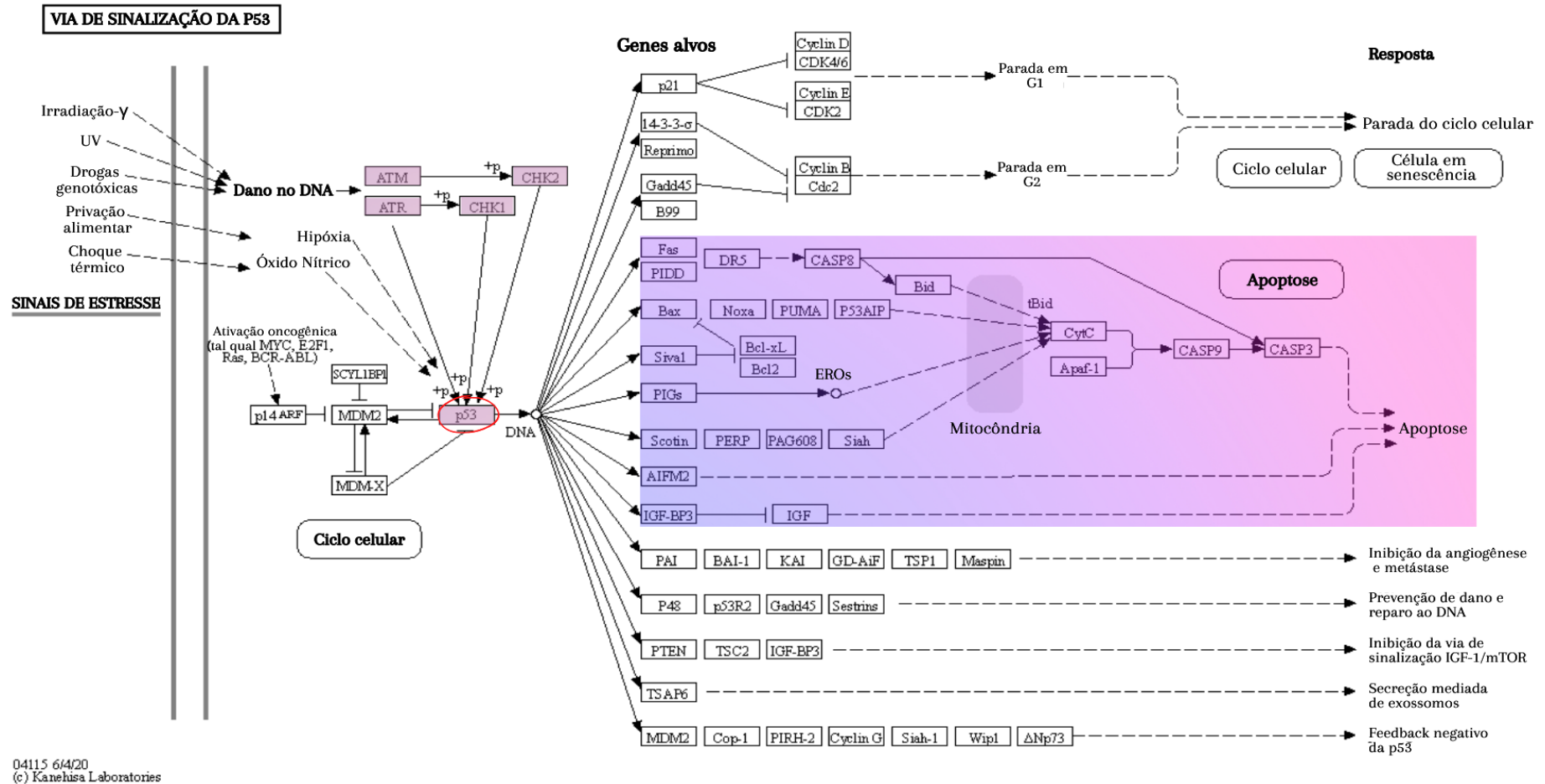
A presença da própria TP53 em diferentes regiões subcelulares pode variar dependendo do ciclo celular (SHAULSKY; BEN-ZE'EV; ROTTER, 1990), onde sua participação no citoplasma do epitélio da córnea de vertebrados foi relatada no estudo de Tendler et al. (2006), tendo sua atuação na apoptose neste quadro mediada provavelmente pela via mitocondrial (TENDLER et al., 2013).

A independência da função transativadora da TP53 na apoptose em alguns casos é relatada por sua interação com a proteína BAX (*Bcl-2 associated X-protein*), levando à liberação do citocromo c com o rompimento da membrana e a ativação de caspases (MIHARA et al., 2003; ERSTER; MOL, 2005). Em linhas gerais, esse processo acontece no citoplasma celular, garantindo a participação da TP53 na morte induzida em regiões distantes ao núcleo, independente da síntese de novas proteínas. A apoptose também ocorre em células sobre efeito UV pré-tratadas com inibidores de importação nuclear, em que células deficientes da proteína BAX demonstram resistência apoptótica, diferente das mesmas células sem o inibidor de importação nuclear e na presença de TP53, as quais são capazes de promover apoptose, indicando que a morte induzida por fatores transcricionais não depende da BAX (CHIPUK et al., 2004).

A integridade da membrana mitocondrial pode ser mantida pela atuação da família BCL-2 (*B-cell lymphoma 2*), que em contraste à rápida translocação da TP53 para a mitocôndria em respostas aos sinais de estresse em conjunto com a BAX é responsável pelo processo de

apoptose pela via citoplasmática rompendo a membrana mitocondrial sem o envolvimento de seu papel transativador. Portanto, os dados levantados no CELLO e PSORT II (Figura 4) confirmam a localização, contudo a frequência da TP53 no citoplasma aparenta ser abaixo do que é relatado nos estudos de estresse (CHIPUK et al., 2004; MATOBA et al., 2006; TENDLER et al., 2013).

Em linhas gerais, a ingestão de glutamato monossódico não causa sintomas aparentes e de ampla notoriedade no nosso organismo, apesar dos relatos em relação à “Síndrome do Restaurante Chinês” (RAITEN; TALBOT; FISHER, 1995), possivelmente pelos elevados níveis na fenda sináptica atuando como neurotransmissor após ser metabolizado em ácido glutâmico. Contudo, a análise em âmbito macroscópico ainda não foi suficiente para revelar como esse aditivo alimentar pode causar alterações no corpo, sendo necessárias pesquisas de ensaio clínico com acompanhamento prolongado das possíveis alterações.

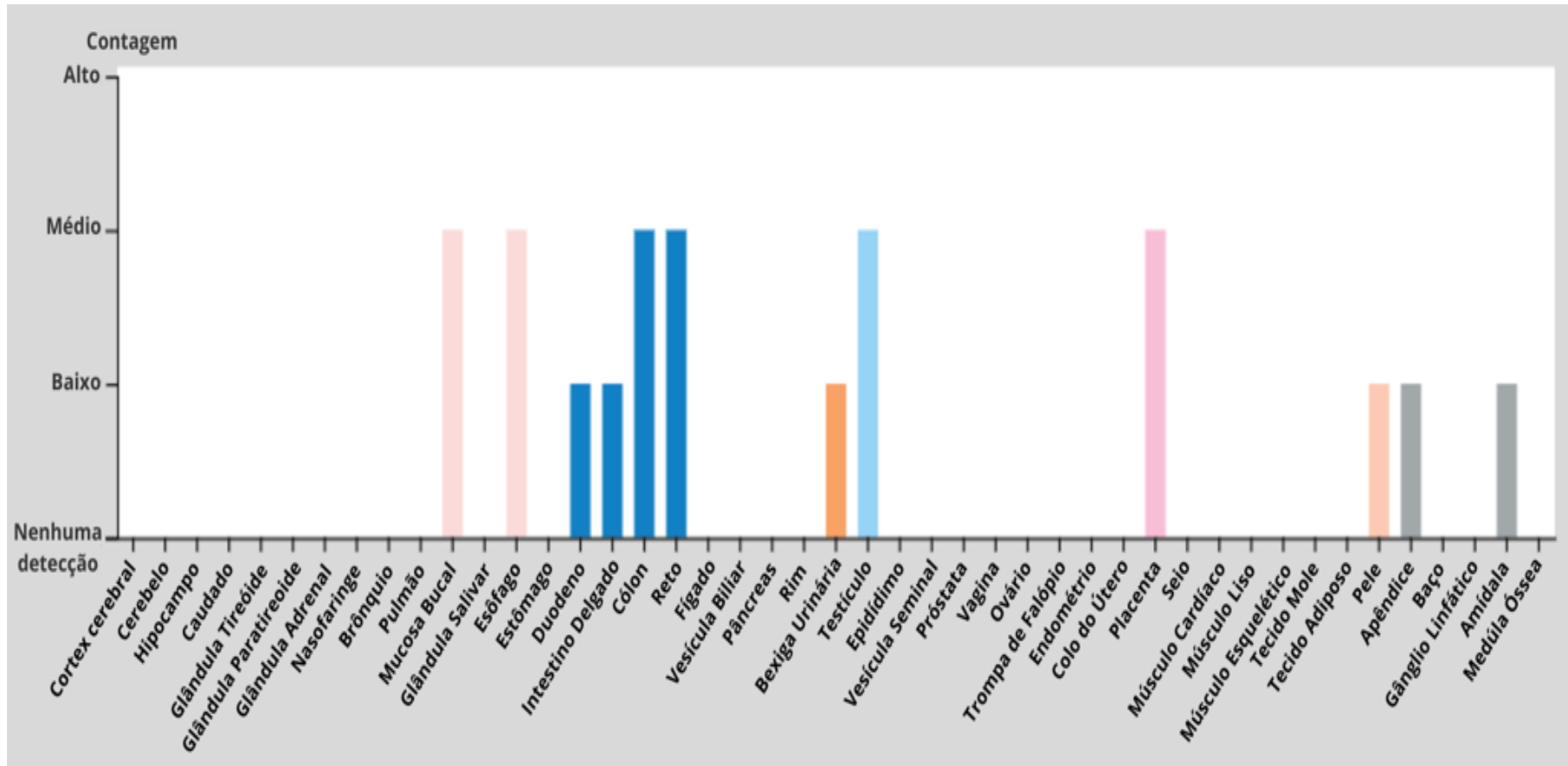


04115 6/4/20  
 (c) Kanehisa Laboratories

**Figura 5:** Via de sinalização da proteína TP53 em resposta a diferentes sinais de estresse, destacando (em rosa) a via apoptótica, na qual atua como supressora de tumor em conjunto com outras proteínas, resultando na morte celular. Nota-se que no início da via estão apenas enzimas de modificações pós-traducionais ou mediadores ativados em resposta ao dano no DNA, sendo eles, ATM (*ataxia telangiectasia mutated kinase*), ATR (*ataxia telangiectasia and Rad3-related protein kinase*), CHK1 e CHK2 (*checkpoint kinases*). Fonte: O Autor. Adaptado de Kegg (2022).

Quimicamente, o glutamato monossódico ao ser ingerido é separado em uma molécula de sal ( $\text{Na}^+$ ) de sódio e L-glutamato. Este aminoácido não essencial é precursor do neurotransmissor GABA, atuando na excitação de receptores presentes nas células (NEDERGAARD; TAKANO; HANSEN, 2002). Sendo assim, é esperado que os níveis de glutamato no plasma sanguíneo aumentem após a ingestão de glutamato monossódico. Esta molécula dá origem ao L-glutamato, o qual entra na célula através de sistemas de transportes ativos próprios para aminoácidos, sendo parcialmente conjugado para ser eliminado ou transformado em glutamina, que em excesso pode acarretar em perturbações no sistema fisiológico. Este processo é saturável e depende da interação de íons de sódio (PUBCHEM, 2022).

Para poder correlacionar a expressão de TP53 na via apoptótica a partir de uma dieta contendo glutamato monossódico, é importante entender como e onde este realçador de sabor é metabolizado no organismo humano. Durante a absorção intestinal, uma grande proporção de ácido glutâmico é transaminada e, conseqüentemente, os níveis de alanina são elevados no sangue. Assim, se grandes quantidades de glutamato são ingeridas, os seus níveis aumentam, resultando em elevado metabolismo hepático e levando à liberação de glicose, lactato, glutamina e outros aminoácidos na circulação sistêmica. A farmacocinética do glutamato depende dele ser livre ou incorporado à proteína e da presença de outros componentes alimentares. Como consequência do rápido metabolismo do glutamato nas células da mucosa intestinal e no fígado, os níveis plasmáticos sistêmicos são baixos, mesmo após a ingestão de grandes quantidades de proteína (PUBCHEM, 2022).



**Figura 6:** Expressão diferencial da proteína TP53, variando de “nenhuma detecção” para “alto” em tecidos e órgãos humanos. Fonte: O Autor. Adaptado de *The Human Protein Atlas* (2022).

Diversas complicações nos níveis extra e intracelulares em decorrência da administração de glutamato monossódico já foram relatadas, incluindo dano morfotecdual, alterações no proteoma de vários órgãos e aumento de produtos da peroxidação lipídica, o que caracteriza estresse oxidativo e necrose de células, causadas provavelmente pela superexcitação dos receptores de glutamato, conforme mencionado anteriormente neste trabalho.

Intracelularmente, as alterações promovidas pelo glutamato monossódico podem envolver proteínas ligadas ao ciclo celular e apoptose, incluindo a supressora de tumor TP53 e BCL-2, um importante marcador de integridade da membrana mitocondrial. Apesar de Pavlovic et al. (2007) em seu estudo não apresentar alterações significativas na expressão da BAX em linhagens de timócitos, Sadek; Abouzed; Nasr (2016) demonstraram uma regulação positiva da proteína pró-apoptótica mediada por ingestão de glutamato monossódico, apontando o papel do intensificador de sabor na apoptose mediada.

A Figura 5 detalha a via de sinalização da TP53 revelando os possíveis sinais estressores, alvos gênicos e respostas. Segundo Kegg (2022), a ativação de TP53 resulta em três respostas principais: parada do ciclo celular, senescência celular ou apoptose. Assim, considerando a associação proposta neste trabalho da dieta rica em glutamato monossódico e a expressão diferencial de TP53, é possível presumir hipoteticamente que caso haja precariedade da atividade ou expressão de BCL-2 ou superexpressão da BAX a partir de um sinal estressor na ativação da TP53, a integridade da membrana pode ser corrompida levando à apoptose. A ação depredativa do glutamato monossódico na via apoptótica ainda não foi totalmente elucidada e pode ser ainda mais problemática quando analisamos as diferentes interações preferenciais que as isoformas da TP53 podem possuir na via mitocondrial, especialmente com a Bax (BOURDON et al., 2005). Portanto, as implicações acometidas em um gene não só afetam a proteína, mas também suas isoformas e concomitantemente sua importância regulatória contra

cânceres (VIELER; SANYAL, 2018), necessitando de mais dados para evitar conclusões generalistas.

Dados extraídos do *The Human Protein Atlas* indicam a expressão diferencial da proteína TP53 em tecidos e órgãos, revelando a superexpressão na mucosa bucal, esôfago, duodeno, intestino delgado, cólon e reto (Figura 6), o que em linhas gerais pode ser levado em conta a interação primária desses tecidos com agentes mutagênicos presentes em diferentes alimentos, induzindo danos no DNA devido ao estresse oxidativo causado pelo glutamato monossódico (SALEM; MOHAMED; ABD-ELRAZEK, 2020) desencadeando na ativação da TP53 na regulação ou morte programada, mesmo em órgãos que apresentam alta regeneração tecidual, a exemplo do fígado. Diante dos estudos que apresentaram alterações teciduais e celulares presentes no aparato digestivo (EWEKA; OM'INIABOHS, 2007; SHREDAH et al., 2017), bem como dados indicados na Figura 6, podemos inferir que a presença do glutamato monossódico nessas regiões pode causar efeitos após a sua ingestão por longos períodos ou em quantidades excedentes. Portanto, sabendo que o sabor doce-salino do glutamato monossódico só é obtido a partir de alta concentração, uma vez que em pequena quantidade este realçador de sabor é considerado “sem sabor” (PUBCHEM, 2022), devido a recorrente ingestão de alimentos processados nos dias atuais, é inquestionável que os níveis diários de glutamato monossódico superem os valores desejáveis, o que a longo prazo pode acarretar em citotoxicidade, levando até mesmo ao desenvolvimento de cânceres.

## CONCLUSÃO

O objetivo deste estudo foi relacionar a influência do glutamato monossódico e a indução de citotoxicidade e o agravo de possíveis processos que levam a célula à apoptose, diferente da necrose, processo este que ocorre por degeneração das organelas levando à morte celular, ambos relatados ao longo deste trabalho. Considerando que concentrações elevadas de glutamato monossódico podem causar danos ao DNA a partir do estresse oxidativo, leva-se a crer que este realçador de sabor também atua como um desencadeador da ativação da TP53 por mediadores protéicos na via de sinalização apoptótica celular.

É importante destacar que a participação do glutamato monossódico na via de sinalização da supressora de tumor TP53 é discutível, porém ao se observar a diminuição da BCL-2 e o aumento da BAX, nota-se uma redução na integridade da membrana mitocondrial. O glutamato monossódico demonstrou ser nocivo para homeostase celular de diversas formas, então, ao relacionar as informações presentes na literatura podemos inferir que sua participação na morte celular induzida é notória, uma vez que nossos sistemas de defesa contra alterações moleculares estejam saturados de alguma forma por atividades negativas ou até mesmo pela alta quantidade de glutamato no local alvo ocasionados pela dieta atual rica em processados.



## REFERÊNCIAS

AFEEFY, A. A.; MAHMOUD, M.; ARAFA, M. Effect of honey on monosodium glutamate induced nephrotoxicity (histological and electron microscopic studies). **Journal of American Science**, v. 8, n. 1s, p. 146-156, 2012. Disponível em: [https://www.jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0801s/023\\_17538am0801s\\_146\\_156.pdf](https://www.jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0801s/023_17538am0801s_146_156.pdf). Acesso em: 27 mar. 2022.

AGÊNCIA BRASIL. **Macarrão instantâneo tem cinco vezes mais gordura do que o tradicional, aponta teste**, 2009. Disponível em: <https://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/noticia/2009-10-30/macarrao-instantaneo-tem-cinco-vezes-mais-gordura-do-que-tradicional-aponta-teste>. Acesso em: 30 mar. 2022.

AJINOMOTO. **Understanding AJI-NO-MOTO Umami Seasoning**, 2022. Disponível em: <https://www.ajinomoto.com.ph/corp-blogs/ajinomoto-vetsin/>. Acesso em: 18 fev. 2022.

ALBERTS, B. et al. **Fundamentos da Biologia Celular**. 4ed., Porto Alegre: Artmed Editora, 2006.

AL HARGAN, A.; DAGHESTANI, M. H.; HARRATH, A. H. Alterations in APC, BECN1, and TP53 gene expression levels in colon cancer cells caused by monosodium glutamate. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, e246970, p. 1-7, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.246970>.

ALBRAHIM, T.; BINOBEAD, M. A. Roles of *Moringa oleifera* leaf extract in improving the impact of high dietary intake of monosodium glutamate-induced liver toxicity, oxidative stress, genotoxicity, DNA damage, and PCNA alterations in male rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, ID. 4501097, p. 1-11, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/4501097>.

ALPHAFOLD. Protein Structure Database. **Cellular tumor antigen p53, AF-P04637-F1**, 2022. Disponível em: <https://alphafold.ebi.ac.uk/>. Acesso em: 26 jun. 2022.

ANTONETS, K. S.; NIZHNIKOV, A. A. SARP: a novel algorithm to assess compositional biases in protein sequences. **Evolutionary Bioinformatics**, v. 9, p. 263-273, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4137/EBO.S12299>.

APPELLA, E.; ANDERSON, C. W. Post-translational modifications and activation of p53 by genotoxic stresses. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, n. 10, p. 2764-2772, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.02225.x>.

ASERO, R. Multiple intolerance to food additives. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 110, n. 3, p. 531-532, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1067/mai.2002.126463>.

ATASEVEN, N. et al. Genotoxicity of monosodium glutamate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 91, p. 8-18, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.02.021>.

AYLON, Y.; OREN, M. New plays in the p53 theater. **Current opinion in genetics & development**, v. 21, n. 1, p. 86-92, 2011.

BRASIL. **Portaria SVS/MS nº 540, de 27 de outubro de 1997**. Brasília: Ministério da Saúde, 1997. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1997/prt0540\\_27\\_10\\_1997.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1997/prt0540_27_10_1997.html). Acesso em: 27 mar. 2022.

BRASIL. **Resolução ANVS/MS nº 1, de 02 de janeiro de 2001**. Brasília: Ministério da Saúde, 2001. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/rdc0001\\_02\\_01\\_2001.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/rdc0001_02_01_2001.html). Acesso em: 27 mar. 2022.

BRASIL. **Resolução nº 329, de 19 de dezembro de 2019**. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: [http://www.cvs.saude.sp.gov.br/zip/U\\_RS-MS-ANVISA-RDC-329\\_191219.pdf](http://www.cvs.saude.sp.gov.br/zip/U_RS-MS-ANVISA-RDC-329_191219.pdf). Acesso em: 27 mar. 2022.

BOURDON, J. C. et al. p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity. **Genes & Development**, v. 19, n. 18, p. 2122-2137, 2005. DOI: <http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.1339905>.

BRUFORD, E. A. et al. Guidelines for human gene nomenclature. **Nature genetics**, v. 52, n. 8, p. 754-758, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0669-3>.

CANCER.NET. **Li-Fraumeni Syndrome**, 2020. Disponível em: <https://www.cancer.net/cancer-types/li-fraumeni-syndrome>. Acesso em: 18 mar. 2022.

CHIPUK, J. E. et al. Direct activation of Bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. **Science**, v. 303, n. 5660, p. 1010-1014, 2004. DOI: [10.1126/science.1092734](https://doi.org/10.1126/science.1092734).

D'HAESELEER, P. What are DNA sequence motifs?. **Nature biotechnology**, v. 24, n. 4, p. 423-425, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt0406-423>.

ERSTER, S.; MOLL, U. M. Stress-induced p53 runs a transcription-independent death program. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 331, n. 3, p. 843-850, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.03.187>.

EWEKA, A. O.; OM'INIABOHS, F. A. E. Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the small intestine of adult Wistar rat. **Electronic Journal of Biomedicine**, v. 2, p. 14-18, 2007. Disponível em: <https://biomed.uninet.edu/2007/n2/eweka-i.html>. Acesso em: 27 mar. 2022.

FARAZI, T. A.; WAKSMAN, G.; GORDON, J. I. The biology and enzymology of protein N-myristoylation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 43, p. 39501-39504, 2001. DOI: [10.1074/jbc.R100042200](https://doi.org/10.1074/jbc.R100042200).

FARDINI, Y. et al. O-GlcNAcylation: A New Cancer Hallmark? **Frontiers in Endocrinology**, v. 4, n. 99, p. 1-14, 2013. DOI: [10.3389/fendo.2013.0009](https://doi.org/10.3389/fendo.2013.0009).

FARMER, G. et al. Wild-type p53 activates transcription in vitro. **Nature**, v. 358, n. 6381, p. 83-86, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1038/358083a0>.

FDA. U.S Food & Drug Administration. **Overview of food ingredients, additives & colors**, 2010. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/overview-food-ingredients-additives-colors>. Acesso em: 8 fev. 2022.

FDA. U.S Food & Drug Administration. **Questions and answers on monosodium glutamate (MSG)**, 2012. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/questions-and-answers-monosodium-glutamate-msg>. Acesso em: 18 fev. 2022.

FERREIRA, P. M. P; FREIRE, J. A. P (Org.) **Aspectos translacionais da toxicodinâmica de aditivos alimentares**. Ponta Grossa: Atena Editora, 2020. DOI: 10.22533/at.ed.973200904.

FETT-CONTE, A. C.; SALLES, A. B. C. F. A importância do gene p53 na carcinogênese humana. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 24, p. 85-89, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842002000200004>.

GARATTINI, S. Glutamic acid twenty years later. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 901-909, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.901S>.

HARRIS, S. L.; LEVINE, A. J. The p53 pathway: positive and negative feedback loops. **Oncogene**, v. 24, n. 17, p. 2899-2908, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208615>.

HAZZAA, S. M. et al. Monosodium glutamate induces cardiac toxicity via oxidative stress, fibrosis, and P53 proapoptotic protein expression in rats. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 16, p. 1-11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08436-6>.

IAMSAARD, S. et al. The sensitivity of male rat reproductive organs to monosodium glutamate. **Acta Medica Academica**, v. 43, n. 1, p. 3-9, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5644/ama2006-124.94>.

JÚNIOR, G. B. C.; KLUMB, C. E.; MAIA, R. C. p53 e as hemopatias malignas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 3, p. 419-427, 2002. DOI: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2002v48n3.2218>.

KEGG. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **p53 signaling pathway**, 2022. Disponível em: <https://www.kegg.jp/pathway/map04115> Acesso em: 15 mar. 2022.

KHALAF, H. A.; ARAFAT, E. A. Effect of different doses of monosodium glutamate on the thyroid follicular cells of adult male albino rats: a histological study. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 8, n. 12, p. 1-13, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4730033/pdf/ijcep0008-15498.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2022.

KHOURY, M. P.; BOURDON, Jean-Christophe. The isoforms of the p53 protein. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 2, n. 3, p. a000927, 2010. DOI: 10.1101/cshperspect.a000927.

KUSSIE, P. H. et al. Structure of the MDM2 oncoprotein bound to the p53 tumor suppressor transactivation domain. **Science**, v. 274, n. 5289, p. 948-953, 1996. DOI: 10.1126/science.274.5289.948.

LANE, D. P.; CRAWFORD, L. V. T antigen is bound to a host protein in SY40-transformed cells. **Nature**, v. 278, n. 5701, p. 261-263, 1979. DOI: <https://doi.org/10.1038/278261a0>.

LANE, D. P. p53, guardian of the genome. **Nature**, v. 358, n. 6381, p. 15-16, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1038/358015a0>

LI, F. P. et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. **Cancer Research**, v. 48, n. 18, p. 5358-5362, 1988. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/48/18/5358/492970/A-Cancer-Family-Syndrome-in-Twenty-four-Kindreds1>. Acesso em: 27 mar. 2022.

LI, F. P.; FRAUMENI JR, J. F. Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms: a familial syndrome?. **Annals of internal medicine**, v. 71, n. 4, p. 747-752, 1969. DOI: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-71-4-747>.

LINZER, D. I. H.; MALTZMAN, W.; LEVINE, A. J. The SV40 gene product is required for the production of a 54,000 MW cellular tumor antigen. **Virology**, v. 98, n. 2, p. 308-318, 1979. DOI: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(79\)90554-3](https://doi.org/10.1016/0042-6822(79)90554-3).

MACLAINE, N. J.; HUPP, T. R. How phosphorylation controls p53. **Cell Cycle**, v. 10, n. 6, p. 916-921, 2011. DOI: <https://doi.org/10.4161/cc.10.6.15076>.

MALKIN, D. Li-Fraumeni Syndrome. **Genes & Cancer**, v. 2, n. 4, p. 475-484, 2011. DOI: <https://dx.doi.org/10.1177%2F1947601911413466>.

MARTIN, D. D. O; BEAUCHAMP, E.; BERTHIAUME, L. G. Post-translational myristoylation: Fat matters in cellular life and death. **Biochimie**, v. 93, n. 1, p. 18-31, 2011. DOI: 10.1016/j.biochi.2010.10.018.

MATOBA, S. et al. p53 regulates mitochondrial respiration. **Science**, v. 312, n. 5780, p. 1650-1653, 2006. DOI: 10.1126/science.1126863.

MEHTA, Sunali et al. Adaptive homeostasis and the p53 isoform network. **EMBO reports**, v. 22, n. 12, p. e53085, 2021. DOI: <https://doi.org/10.15252/embr.202153085>.

MIHARA, M. et al. p53 has a direct apoptogenic role at the mitochondria. **Molecular cell**, v. 11, n. 3, p. 577-590, 2003. DOI: 10.1016/s1097-2765(03)00050-9.

MST. Movimento dos Trabalhadores Rurais Sem Terra. **Saiba o que tem na sua comida e sobreviva se for capaz**, 04 out. 2013. Disponível em: <https://mst.org.br/2013/10/04/saiba-o-que-tem-na-sua-comida-e-sobreviva-se-for-capaz/>. Acesso em: 30 mar. 2022.

MURRAY-ZMIJEWSKI, F.; LANE, D. P.; BOURDON, J. C. p53/p63/p73 isoforms: an orchestra of isoforms to harmonise cell differentiation and response to stress. **Cell Death & Differentiation**, v. 13, n. 6, p. 962-972, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401914>.

NAKAMURA, S. et al. C-terminus of p53 is required for G2 arrest. **Oncogene**, v. 21, n. 13, p. 2102-2107, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205251>.

NCBI. National Center of Biotechnology Information. **TP53 tumor protein p53 [*Homo sapiens* (human)]**, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=AAH03596.1> Acesso em: 21 jun. 2022.

NEDERGAARD, M.; TAKANO, T.; HANSEN, A. J. Beyond the role of glutamate as a neurotransmitter. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 3, n. 9, p. 748-755, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn916>.

ORTIZ, G. G. et al. Monosodium glutamate-induced damage in liver and kidney: a morphological and biochemical approach. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 60, n. 2, p. 86-91, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2005.07.012>.

PAVLOVIĆ, V. et al. Effect of monosodium glutamate on apoptosis and Bcl-2/Bax protein levels in rat thymocyte culture. **Physiological Research**, v. 56, n. 5, p. 619-626, 2007. DOI: [10.33549/physiolres.931064](https://doi.org/10.33549/physiolres.931064).

PDB. Protein Data Bank. **Structure of the p53/RNA polymerase II assembly**. Disponível em: <https://www.rcsb.org/structure/6XRE>. Acesso: 05 jul. 2022.

PFAM. **Protein: P53\_HUMAN (P04637)**, 2022. Disponível em: <https://pfam.xfam.org/protein/P04637> Acesso em: 26 jun. 2022.

POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de saúde pública**, v. 25, n. 8, p. 1653-1666, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2009000800002>.

PRIVES, Carol; HALL, Peter A. The p53 pathway. **The Journal of pathology**, v. 187, n. 1, p. 112-126, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199901\)187:1<112::AID-PATH250>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199901)187:1<112::AID-PATH250>3.0.CO;2-3)

PROTESTE. **PROTESTE faz alerta sobre quantidade de sódio em alimentos**, 14 jun. 2017. Disponível em: <https://www.proteste.org.br/institucional/imprensa/press-release/2017/proteste-faz-alerta-sobre-quantidade-de-sodio-em-alimentos>. Acesso em: 23 fev. 2022.

PUBCHEM. **PubChem Compound Summary for CID 23672308, Monosodium glutamate**, 2022. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Monosodium-glutamate>. Acesso em: 21 jun. 2022.

RAITEN, D. J.; TALBOT, J. M.; FISHER, K. D. (Eds.) Executive Summary from the Report: analysis of adverse reactions to monosodium glutamate. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 11, p. 2891–2906, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/125.11.2891S>.

RAJ, N; ATTARDI, L. D. The transactivation domains of the p53 protein. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 7, n. 1, p. a026047, 2017. Disponível em: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/7/1/a026047.short>. Acesso em: 05 jul. 2022.

REICH, N. C.; OREN, M.; LEVINE, A. J. Two distinct mechanisms regulate the levels of a cellular tumor antigen, p53. **Molecular and Cellular Biology**, v. 3, n. 12, p. 2143-2150, 1983. DOI: <https://doi.org/10.1128/mcb.3.12.2143-2150.1983>.

RIBEIRO-SILVA, A.; ZUCOLOTO, S. A família do p53: aspectos estruturais e funcionais do p73 e do p63. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, p. 179-184, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000200014>.

SADEK, K.; ABOUZED, T.; NASR, S. Lycopene modulates cholinergic dysfunction, Bcl-2/Bax balance, and antioxidant enzymes gene transcripts in monosodium glutamate (E621) induced neurotoxicity in a rat model. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 94, n. 4, p. 394-401, 2016. DOI: 10.1139/cjpp-2015-0388.

SALEM, N. I. S.; MOHAMED, H. RH; ABD-ELRAZEK, A. M. Measurement of DNA damage, oxidative stress, and gene expression of  $\beta$ -catenin and P53 genes in liver and brain of male mice receiving monosodium l-glutamate monohydrate. **MEASUREMENT**, v. 13, n. 7, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2020.v13i7.36019>.

SHARMA, A. et al. Proteomic analysis of kidney in rats chronically exposed to monosodium glutamate. **PLoS One**, v. 9, n. 12, p. 1-11, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116233>.

SHAULSKY, G.; BEN-ZE'EV, A.; ROTTER, V. Subcellular distribution of the p53 protein during the cell cycle of Balb/c 3T3 cells. **Oncogene**, v. 5, n. 11, p. 1707-1711, 1990. PMID: 2267137.

SHREDAH, M. T. et al. Molecular study to the effect of monosodium glutamate on rat gengiva. **Tanta Dental Journal**, v. 14, n. 3, p. 155-163, 2017. DOI: 10.4103/tdj.tdj\_21\_17.

SOUSSI, T. P53 (protein 53 kDa). **Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology, Gene Section**, v. 7, n. 1, p. 8-11, 2003. DOI: 10.4267/2042/37921.

TENDLER, Y. et al. Identification of cytoplasmic p53 protein in corneal epithelium of vertebrates. **Experimental Eye Research**, v. 82, n. 4, p. 674-681, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2005.09.005>.

TENDLER, Y. et al. p53 protein subcellular localization and apoptosis in rodent corneal epithelium cell culture following ultraviolet irradiation. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 31, n. 3, p. 540-546, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1247>.

THE HUMAN PROTEIN ATLAS. **Protein expression overview: p53**, 2022. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000141510-TP53/tissue>. Acesso em: 26 jun. 2022.

UNIPROTKB. **P04637, P53\_HUMAN**, 2022. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P04637/entry#sequences>. Acesso em: 26 jun. 2022.

VIELER, M.; SANYAL, S. p53 isoforms and their implications in cancer. **Cancers**, v. 10, n. 9, p. 288, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers10090288>.

WALKER, R.; LUPIEN, J. R. The safety evaluation of monosodium glutamate. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 1049S-1052S, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.1049S>.

WHO. World Health Organization. **Evaluation of certain food additives and contaminants, 31th Report of joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, n. 759**, WHO: Geneva, 1987. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39108/WHO\\_TRS\\_759.pdf?sequence=](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39108/WHO_TRS_759.pdf?sequence=). Acesso em: 25 mar. 2022.

YAMAGUCHI, S. The umami taste. **American Chemical Society**, v. 115, p. 33-51, 1979. DOI: 10.1021/bk-1979-0115.ch002.

YAMAGUCHI, S.; NINOMIYA, K. Umami and food palatability. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 921-926, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.921S>.

YANG, W. H. et al. Modification of p53 with O-linked N-acetylglucosamine regulates p53 activity and stability. **Nature Cell Biology**, v. 8, p. 1074-1083, 2006. DOI: 10.1038/ncb1470

ZAMBETTI, G. P. (Ed.). **The p53 tumor suppressor pathway and cancer**. Boston: Springer, 2005. <https://doi.org/10.1007/0-387-30127-5>.