GASTROENTEROLOGIA E HEPATOLOGIA

Edição XVI

Capítulo 2

ATIVAÇÃO DA AMPK COMO ESTRATÉGIA ANTISSECRETORA NA DIARREIA COLÉRICA: EVIDÊNCIAS *in vitro* E *in vivo*

ISAAC ALEF BARBOSA GOMES[1]
RAFAELA MARIA DA SILVA RIBEIRO[1]
VICTORIA VIEIRA DE CARVALHO[1]
FRANCISCO EDUARDO CANUTO MARTINS[1]
TIMÓTEO MENEZES NOGUEIRA[1]
DANYELA MARIA LEAL HOLANDA[1]
EDUARDO DAS CHAGAS MACHADO[1]
SARAH MARIA BELO TEIXEIRA[2]
BIANCA LIMA DOS SANTOS[3]
HENRIQUE COSTA VERAS[3]
MAYZA MAROTO DO MONTE[3]
ALICIA MARIA ROCHA LEAL[4]
DAKSON DOUGLAS ARAÚJO[5]
JOSIVAN LOPES FERREIRA[6]
ANTÔNIO VINICIUS VIEIRA ARAÚJO[6]

[1]Discente – Mestrado em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar).
[2]Discente – Bacharelado em Biomedicina pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar).
[3]Discente – Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar).
[4]Licenciada – Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí (UFPI).
[5]Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba.
[6]Discente – Doutorado em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar).

Palavras-chave: *AMPK; Diarreia; Vibrio Cholerae*

EDITORA PASTEUR

DOI 10.59290/1620924000

INTRODUÇÃO

A cólera é uma doença diarreica aguda causada pela ingestão de água ou alimentos contaminados por cepas toxigênicas de *Vibrio cholerae*, permanecendo como importante problema de saúde pública, especialmente em regiões com acesso limitado à água potável e saneamento adequado (ALMAGRO-MORENO, MARTINEZ-URTAZA, PUKATZKI, 2023). Sua principal manifestação clínica é a diarreia aquosa profusa, capaz de ocasionar rápida perda de água e eletrólitos e evoluir para desidratação grave, distúrbios hidroeletrolíticos, choque hipovolêmico e morte quando o tratamento não é instituído oportunamente (AHMED *et al*., 2024).

A intensa perda de fluidos decorre principalmente da ação da toxina colérica (TC) sobre o epitélio intestinal. Após ligação ao gangliosídeo GM1 e internalização nos enterócitos, a toxina promove ativação persistente da adenilato ciclase, elevando os níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (cAMP) e ativando a proteína quinase A. Essa sinalização estimula o regulador de condutância transmembrana da fibrose cística (CFTR), aumentando a secreção de Cl^- e, consequentemente, o fluxo de eletrólitos e água para o lúmen intestinal (KEELY; BARRETT, 2022).

Embora a terapia de reidratação oral ou intravenosa seja fundamental para prevenir e corrigir a desidratação, ela atua predominantemente na reposição das perdas hidroeletrolíticas e não interfere diretamente nos mecanismos responsáveis pela hipersecreção intestinal induzida pela TC (PIETRONI *et al*., 2020). Consequentemente, o processo secretor pode persistir durante o tratamento, mantendo elevado o volume das evacuações e a necessidade contínua de reposição de fluidos (HARRIS *et al*., 2012). Nesse contexto, a identificação de alvos farmacológicos capazes de reduzir a secreção excessiva de eletrólitos e água, sem comprometer os mecanismos fisiológicos de absorção intestinal, representa uma estratégia complementar de interesse (GONÇALVES *et al*., 2024).

Entre esses alvos destaca-se a proteína quinase ativada por AMP (AMPK), uma serina/treonina quinase envolvida na regulação do metabolismo celular e do transporte epitelial (SOUSA *et al*., 2020). Evidências experimentais indicam que sua ativação pode modular negativamente a atividade do CFTR e reduzir a secreção transepitelial de Cl^-, sugerindo potencial aplicação no controle da resposta secretora intestinal (ROGERS *et al*., 2013). Assim, este capítulo discute o potencial antisse-cretor da ativação da AMPK na diarreia colérica, reunindo evidências *in vitro* e *in vivo* e destacando sua relação com a regulação do CFTR e da secreção intestinal.

MÉTODO

Esta pesquisa adota uma abordagem de revisão integrativa da literatura, fundamentada em artigos científicos indexados nas bases de dados internacionais PubMed, *Science Direct* e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), com o objetivo de analisar as evidências *in vitro* e *in vivo* acerca do potencial antissecretor da ativação da AMPK na diarreia colérica, com ênfase na modulação do CFTR e da secreção intestinal de cloreto e fluidos.

A busca bibliográfica foi conduzida por meio da combinação de descritores e termos livres relacionados à AMPK, cólera e secreção intestinal, empregando-se a seguinte estratégia nas bases PubMed e BVS: ("*AMP-activated protein kinase*" OR “AMPK” OR "*AMPK activation*" OR "*AMPK activator*" OR "*AMPK agonist*") AND (*cholera* OR "*cholera toxin*"

OR "*Vibrio cholerae*") AND ("*secretory diarrhea*" OR "*secretory diarrhoea*" OR "*intestinal secretion*" OR "*intestinal fluid secretion*" OR "*chloride secretion*" OR "*fluid secretion*" OR "CFTR" OR "*antisecretory*" OR "*anti-secretory*"). No ScienceDirect, foi utilizado a seguinte estratégia busca: ("*AMP-activated protein kinase*" OR *AMPK* OR "*AMPK activation*") AND (*cholera* OR "*Vibrio cholerae*") AND ("*secretory diarrhea"* OR "*secretory diarrhoea*").

Foram considerados elegíveis: (I) artigos originais; (II) estudos experimentais *in vitro*, *ex vivo* ou *in vivo*; (III) estudos que investigaram a ativação ou modulação da AMPK associada ao transporte iônico intestinal, atividade do CFTR, secreção de Cl^-, secreção de fluidos ou diarreia secretora; (IV) trabalhos relacionados diretamente à TC ou que apresentassem evidências mecanísticas relevantes para a compreensão da via AMPK–CFTR; (V) artigos publicados em inglês; e (VI) estudos com texto completo disponível para análise. Foram excluídos: (I) artigos duplicados entre as bases de dados; (II) estudos sem relação direta com AMPK, CFTR ou secreção intestinal; (III) revisões de literatura, editoriais, cartas, capítulos de livros e trabalhos sem dados experimentais primários; e (IV) estudos nos quais a ativação da AMPK tenha sido investigada sem avaliação de qualquer parâmetro relacionado à secreção intestinal ou ao transporte iônico.

Após a identificação inicial, os estudos foram submetidos à triagem por título e resumo, seguida da leitura integral dos trabalhos potencialmente elegíveis. Para cada artigo incluído, foram extraídas informações referentes ao autor, ano de publicação, modelo experimental, ativador ou modulador da AMPK empregado, tipo de evidência, parâmetros avaliados, efeitos sobre a atividade da AMPK e do CFTR, secreção de Cl^- e/ou acúmulo intestinal de fluidos, bem como os principais mecanismos propostos. As informações foram sistematizadas em uma tabela comparativa. Posteriormente, realizou-se uma análise crítica dos estudos, buscando identificar a consistência dos efeitos antissecretores observados e os mecanismos associados à ativação da AMPK. A síntese das evidências foi utilizada para discutir a plausibilidade da AMPK como potencial alvo farmacológico para o controle da hipersecreção intestinal associada à diarreia colérica, bem como as limitações e perspectivas para sua aplicação terapêutica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca inicial resultou na identificação de 14 registros no PubMed, 44 no ScienceDirect e 2 na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). Após a análise dos títulos e resumos conforme os critérios de elegibilidade, 11 registros foram considerados potencialmente elegíveis, sendo 6 identificados no PubMed, 4 no *ScienceDirect* e 1 na BVS. Entretanto, os quatro registros selecionados no *ScienceDirect* e o registro selecionado na BVS correspondiam a estudos também recuperados no PubMed. Após a remoção desses registros duplicados, permaneceram 6 artigos únicos, que foram avaliados na íntegra e incluídos na presente revisão (**Tabela 2.1**).

Considerando o papel central do CFTR na hipersecreção intestinal associada à cólera, mecanismos endógenos capazes de modular negativamente sua atividade têm despertado interesse como potenciais alvos terapêuticos.

Tabela 2.1 Evidências Experimentais Sobre a Modulação da AMPK e seus Efeitos na Secreção Intestinal Associada à Cólera

Autor, ano	Modelo experimental	Modulador	Evidência relacionada à AMPK	Efeito sobre CFTR/secreção	Principal mecanismo
Rogers *et al*., 2013	*In vitro*, *ex vivo* e alça intestinal isolada	AICAR; metformina	↑ativação/fosforilação da AMPK	↓secreção de Cl^- induzida por TC; ↓ acúmulo de fluidos	AMPK associada à inibição funcional do CFTR
Muanprasat *et al*., 2015	Células intestinais T84 e modelo murino	Oligossacarídeos de quitosana	↑p-AMPK e p-ACC	↓secreção e acúmulo de fluidos	CaSR/Ca^{2+}/CaMKKβ/AMPK; modulação do CFTR
Yibcharoenporn *et al*., 2019	Células intestinais T84 e modelo de diarreia induzida por TC	CHAL-025	↑p-AMPK; participação de CaMKKβ	↓atividade do CFTR; ↓acúmulo de fluidos	Ativação da AMPK associada à inibição do CFTR
Akrimajirachoote *et al*., 2020	Células intestinais T84 e modelo de diarreia induzida por TC	Artropsolídeo A	Participação parcial da AMPK *in vitro*	↓CFTR e canais de K^+; ↓acúmulo de fluidos	Efeito antissecretório provavelmente multifatorial
Pongkorpsakol *et al*., 2017	Modelo de infecção por V. *cholerae* El Tor	Ácido flufenâmico / metformina	↑p-AMPK intestinal	↓acúmulo de fluidos; proteção da barreira intestinal	Associação entre AMPK, barreira epitelial e resposta inflamatória
Sousa *et al*., 2018	Modelo de diarreia induzida por TC	AICAR / c	AICAR reduziu o acúmulo de fluidos; porém, a inibição da AMPK com Composto C não agravou a secreção induzida por TC	↓acúmulo intestinal de fluidos com ativação da AMPK	Sustenta efeito antissecretório associado à ativação da AMPK

A atividade o CFTR canal é regulada por diferentes mecanismos intracelulares, incluindo fosfodiesterases, responsáveis pela degradação do cAMP (KELLEY; AL-NAKKASH; DRUMM, 1995); a proteína de resistência a múltiplos fármacos 4 (MRP4), envolvida no efluxo e na compartimentalização intracelular desse segundo mensageiro (LI *et al*., 2007); fosfatases de proteínas, que podem favorecer a desfosforilação e inativação do CFTR (LUO *et al*., 1998); e a AMPK, que atua como regulador negativo da função do canal (KONGSUPHOL *et al*., 2009). Entre esses mecanismos, a AMPK tem recebido particular atenção devido à sua capacidade de limitar a secreção epitelial de Cl^-, estabelecendo uma conexão entre o estado energético celular e o transporte iônico (HALLOWS *et al*., 2000; HALLOWS *et al*., 2003). Estudos mecanísticos demonstram que a AMPK pode interagir com o CFTR e promover a fosforilação de seu domínio regulatório, reduzindo a estimulação do canal pela via PKA e, consequentemente, sua atividade (HALLOWS *et al*., 2000; KING *et al*., 2009; KONGSUPHOL *et al*., 2009). Essa propriedade levantou a possibilidade de que a ativação farmacológica da AMPK possa ser explorada como estratégia para atenuar a hipersecreção intestinal observada na diarreia colérica (SOUSA *et al*., 2020).

A partir dessas premissas, Rogers *et al.* (2013) investigaram se a ativação farmacológica da AMPK por meio do AICAR e da metformina (MET) seria capaz de limitar a secreção intestinal desencadeada pela toxina da cólera. Em criptas colônicas isoladas, tanto o AICAR quanto a MET reduziram o efluxo de Cl^- estimulado pela toxina, efeito que também foi observado em mucosas intestinais murinas e humanas avaliadas em câmaras de Ussing. Esses resultados ganham maior relevância quando considerados os experimentos mecanísticos realizados pelos autores. Quando o CFTR foi previamente bloqueado com CFTRinh-172, a adição de AICAR não promoveu redução adicional do efluxo de Cl^-, indicando que o canal constitui um importante alvo da resposta induzida pela ativação da AMPK. Essa interpretação é reforçada pelo fato de que o AICAR aumentou a fosforilação da AMPK sem alterar a quantidade total de CFTR, sugerindo que o efeito antissecretório esteja relacionado principalmente à modulação funcional do canal, e não à redução de sua expressão. Em segmentos jejunais excisados, o AICAR também reduziu o acúmulo de fluido provocado pela toxina, demonstrando que a menor secreção de Cl^- se traduz em redução da secreção intestinal de fluidos. Assim, embora conduzido predominantemente em preparações *in vitro* e *ex vivo*, o estudo estabeleceu uma importante relação funcional entre a ativação da AMPK, a modulação do CFTR e a redução da resposta secretória induzida pela TC.

Posteriormente, Sousa *et al.* (2018) acrescentaram evidências *in vivo* ao demonstrarem que o AICAR reduziu a secreção intestinal induzida pela TC em camundongos. Esse efeito é coerente com estudos que identificam a AMPK como regulador negativo do CFTR, por exemplo, King *et al*. (2009) demonstraram que a redução da atividade dessa quinase aumenta a condutância basal do CFTR, sustentando a existência de um controle endógeno sobre a atividade do canal. Entretanto, no contexto da diarreia induzida pela TC, essa regulação parece apresentar particularidades. Foi relatado que a exposição à TC não alterou a fosforilação basal da AMPK (PONGKORPSAKOL *et al*., 2017; YIBCHAROENPORN *et al*., 2019), enquanto Sousa *et al*. (2018) verificaram que sua inibição farmacológica com Composto C não intensificou a secreção de fluidos. Assim, esses resultados sugerem que a via da AMPK não é recrutada como mecanismo compensatório durante a hipersecreção induzida pela

toxina. Por outro lado, sua ativação farmacológica é capaz de limitar a resposta secretória, indicando que essa quinase pode apresentar maior relevância como alvo terapêutico quando estimulada farmacologicamente do que como mecanismo endógeno suficiente para conter a intensa secreção desencadeada pela TC.

Nesse sentido, a relação entre a ativação da AMPK e o controle da secreção intestinal foi reforçada por estudos com compostos capazes de estimular essa via por mecanismos distintos. Muanprasat *et al*. (2015) demonstraram que oligossacarídeos de quitosana (COS) aumentaram a fosforilação da AMPK e de seu alvo a jusante, a ACC, em células epiteliais intestinais, efeito mediado, pelo menos em parte, pela sinalização CaSR–Ca^{2+}–CaMKKβ. O efeito antissecretório para a diarreia secretora foi demonstrada em camundongos, nos quais o COS reduziu o acúmulo de fluido induzido pela TC e, simultaneamente, aumentou a fosforilação de AMPK e ACC no tecido intestinal. Uma relação semelhante foi observada com a chalcona sintética CHAL-025, embora por um mecanismo de ativação diferente. Yibcharoenporn *et al*. (2019) verificaram *in vitro* que a inibição do CFTR pela CHAL-025 era atenuada pelo Composto C e demonstraram aumento da fosforilação da AMPK, indicando a participação dessa quinase em sua ação antissecretória. A ativação ocorreu por uma via dependente de CaMKKβ e, diferentemente do COS, não envolve a elevação do Ca^{2+} intracelular, sendo proposta uma interação do CHAL-025 com um sítio alostérico da CaMKKβ. Essa diferença é relevante porque sugere que a AMPK pode ser recrutada por diferentes mecanismos farmacológicos para produzir um desfecho comum sobre o transporte epitelial. Ademais, os autores observaram que a CHAL-025 reduziu a secreção intestinal induzida pela TC em camundongos, efeito acompanhado pelo aumento da fosforilação da AMPK. Assim, tanto o COS quanto o CHAL-025 aproximam a ativação da AMPK do efeito antissecretório observado *in vivo*, uma vez que a redução do acúmulo de fluido ocorreu concomitantemente à ativação da quinase no tecido intestinal.

O estudo com artropsolídeo A acrescenta suporte a essa hipótese, porém com uma limitação experimental importante. Esse metabólito do fungo endofítico *Roussoella* sp. PSU-H51 inibiu a secreção de Cl^- mediada pelo CFTR em células T84, e a redução de sua potência na presença do Compound C indicou participação, ao menos parcial, da AMPK nesse efeito. No modelo animal, o composto reduziu a secreção intestinal induzida pela TC sem comprometer a absorção de fluidos, uma característica particularmente desejável para um agente que poderia ser empregado em associação à SRO. Entretanto, ao contrário do observado com COS e CHAL-025, não foi demonstrado se o tratamento com artropsolídeo A aumentava a fosforilação da AMPK no tecido intestinal. Desse modo, enquanto sua eficácia antissecretória *in vivo* é evidente, a ligação entre esse efeito e a ativação da AMPK permanece sustentada principalmente pelos experimentos realizados *in vitro*.

Apesar da consistência desses achados, uma limitação comum aos estudos disponíveis é a ausência de abordagens que estabeleçam diretamente a dependência da AMPK para o efeito antissecretório *in vivo*. Embora alguns trabalhos tenham confirmado a ativação da via no tecido intestinal, por meio do aumento da fosforilação da AMPK e, em alguns casos, de seu alvo a jusante ACC, não foi avaliado se a inibição ou a perda da atividade da AMPK seria capaz de abolir a proteção observada. Assim, os dados disponíveis fornecem forte suporte para a associação entre a ativação da AMPK e a redução da hipersecreção intestinal, mas a demonstração de uma relação causal in vivo permanece uma questão a ser esclarecida.

Embora a cólera tenha sido tradicionalmente descrita como uma diarreia secretora não inflamatória, estudos mais recentes têm mostrado que, pelo menos em alguns contextos experimentais, a resposta intestinal pode envolver também alterações da barreira epitelial e ativação de vias inflamatórias (BOURQUE *et al*., 2022; ELLIS *et al*., 2015). Em modelo murino de infecção pela variante El Tor de *Vibrio cholerae*, Satitsri *et al*. (2016) demonstraram que a resposta inflamatória ocorre de maneira dependente de TLR4 e NF-κB. Nesse modelo, a TC promove inicialmente a ruptura da barreira intestinal, favorecendo a translocação de produtos bacterianos do compartimento apical para o basolateral e, consequentemente, a indução de mediadores inflamatórios, incluindo iNOS e COX-2. A PGE_2 derivada da COX-2 contribui para a secreção intestinal de fluidos por mecanismos dependentes tanto de cAMP quanto de Ca^{2+}, enquanto, em conjunto com o óxido nítrico produzido pela iNOS, favorece o aumento da permeabilidade epitelial. Assim, a hipersecreção pode ser amplificada por um circuito que associa disfunção da barreira, reconhecimento de produtos bacterianos e ativação de mediadores inflamatórios, ampliando a compreensão clássica da fisiopatologia da doença (BARRETT *et al*., 2016).

A participação da AMPK na diarreia colérica então se torna mais promissora, uma vez que suas funções no epitélio intestinal não se restringem à regulação do transporte iônico. A ativação da AMPK tem sido associada à modulação negativa da sinalização do NF-κB e à redução da expressão de mediadores pró-inflamatórios (WU *et al*., 2018; ZHENG *et al*., 2023). Além disso, essa quinase exerce papel importante na manutenção da barreira epitelial, uma vez que sua redução ou perda de atividade compromete a remontagem das tight junctions, a resistência transepitelial e o controle da permeabilidade paracelular, enquanto sua ativação favorece a recuperação da função de barreira (ZHANG *et al*., 2006; ZHENG e CANTLEY, 2007).

Nesse sentido, Pongkorpsakol *et al.* (2017) demonstraram que o ácido flufenâmico reduziu a secreção intestinal de fluidos e a perda da integridade da barreira em animais infectados pela variante El Tor, paralelamente ao aumento da fosforilação da AMPK, à redução da translocação nuclear de NF-κB e à diminuição da expressão de mediadores pró-inflamatórios. Assim, a ativação da AMPK nesse modelo parece atuar sobre componentes adicionais da fisiopatologia da cólera, contribuindo não apenas para limitar a secreção intestinal, mas também para preservar a função da barreira e atenuar a resposta inflamatória desencadeada durante a infecção por mecanismos dependentes de AMPK. A MET, utilizada como controle positivo para a ativação da AMPK, também reduziu o acúmulo intestinal de fluidos e atenuou a perda da integridade da barreira epitelial induzida pela infecção por *V. cholerae*. Embora não constituísse o principal composto investigado, a reprodução desses efeitos por um ativador farmacológico da AMPK reforça a possível participação dessa quinase nos mecanismos de proteção intestinal observados. Assim, os efeitos observados com a metformina e o ácido flufenâmico convergem para a hipótese de que a ativação da AMPK pode atuar simultaneamente sobre diferentes componentes da fisiopatologia da cólera, envolvendo tanto a resposta secretória quanto a integridade do epitélio intestinal e resposta inflamatória.

CONCLUSÃO

Este estudo indica que a ativação da AMPK pode reduzir a atividade do CFTR, a secreção de Cl^- e o acúmulo de fluidos em modelos experimentais de cólera, reforçando seu potencial como alvo farmacológico adjuvante. Além

disso, evidências sugerem efeitos favoráveis sobre a integridade da barreira epitelial e a modulação de respostas inflamatórias. Embora os achados sejam promissores, ainda são necessários estudos para confirmar a relevância dessa via em condições in vivo e avaliar a segurança e a eficácia de moduladores da AMPK para futura aplicação terapêutica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, A. K. *et al*. Cholera rages in Africa and the Middle East: A narrative review on challenges and solutions. Health Science Reports, v. 7, n. 5, art. e2013, p. 1-12, 2024. DOI: https://doi.org/10.1002/hsr2.2013.

AKRIMAJIRACHOOTE, N. *et al*. Inhibition of CFTR-mediated intestinal chloride secretion by a fungus-derived arthropsolide A: Mechanism of action and anti-diarrheal efficacy. European Journal of Pharmacology, v. 885, art. 173393, p. 1-10, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173393.

BARRETT, K. E. Rethinking cholera pathogenesis- No longer all in the same "camp". Virulence, v. 7, n. 7, p. 751-753, 2016. DOI: https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1212156.

BOURQUE, D. L. *et al*. Analysis of the Human Mucosal Response to Cholera Reveals Sustained Activation of Innate Immune Signaling Pathways. Infection and Immunity, v. 86, n. 2, art. e00594-17, p. 1-14, 2018. DOI: https://doi.org/10.1128/IAI.00594-17.

ELLIS, C. N. *et al*. Comparative proteomic analysis reveals activation of mucosal innate immune signaling pathways during cholera. Infection and Immunity, v. 83, n. 3, p. 1089-1103, 2015. DOI: https://doi.org/10.1128/IAI.02765-14.

HALLOWS, K. R. *et al*. Inhibition of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator by novel interaction with the metabolic sensor AMP-activated protein kinase. The Journal of Clinical Investigation, v. 105, n. 12, p. 1711-1721, 2000. DOI: https://doi.org/10.1172/JCI9622.

HALLOWS, K. R. *et al*. Physiological modulation of CFTR activity by AMP-activated protein kinase in polarized T84 cells. American Journal of Physiology-Cell Physiology, v. 284, n. 5, p. C1297-C1308, 2003. DOI: https://doi.org/10.1152/ajpcell.00227.2002.

HARRIS, J. B. *et al*. Cholera. The Lancet, v. 379, n. 9835, p. 2466-2476, 2012. DOI: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60436-X.

KELLEY, T. J.; AL-NAKKASH, L.; DRUMM, M. L. CFTR-mediated chloride permeability is regulated by type III phosphodiesterases in airway epithelial cells. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, v. 13, n. 6, p. 657-664, 1995. DOI: https://doi.org/10.1165/ajrcmb.13.6.7576703.

KING, J. D. *et al*. AMP-activated protein kinase phosphorylation of the R domain inhibits PKA stimulation of CFTR. American Journal of Physiology-Cell Physiology, v. 297, n. 1, p. C94-C101, 2009. DOI: https://doi.org/10.1152/ajpcell.00677.2008.

KONGSUPHOL, P. *et al*. Mechanistic insight into control of CFTR by AMPK. Journal of Biological Chemistry, v. 284, n. 9, p. 5645-5653, 2009. DOI: https://doi.org/10.1074/jbc.M806780200.

LI, C. *et al*. Spatiotemporal coupling of cAMP transporter to CFTR chloride channel function in the gut epithelia. Cell, v. 131, n. 5, p. 940-951, 2007. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.09.037.

LUO, J. *et al*. Differential regulation of single CFTR channels by PP2C, PP2A, and other phosphatases. American Journal of Physiology-Cell Physiology, v. 274, n. 5, p. C1397-C1410, 1998. DOI: https://doi.org/10.1152/ajpcell.1998.274.5.C1397.

MUANPRASAT, C. *et al*. Activation of AMPK by chitosan oligosaccharide in intestinal epithelial cells: Mechanism of action and potential applications in intestinal disorders. Biochemical Pharmacology, v. 96, n. 3, p. 225-236, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.05.016.

PONGKORPSAKOL, P. *et al*. Flufenamic acid protects against intestinal fluid secretion and barrier leakage in a mouse model of Vibrio cholerae infection through NF-κB inhibition and AMPK activation. European Journal of Pharmacology, v. 798, p. 94-104, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.01.026.

ROGERS, A. C. *et al*. Activation of AMPK inhibits cholera toxin stimulated chloride secretion in human and murine intestine. PLOS ONE, v. 8, n. 7, art. e69050, p. 1-11, 2013. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069050.

SATITSRI, S. *et al*. Pathophysiological mechanisms of diarrhea caused by the Vibrio cholerae O1 El Tor variant: an in vivo study in mice. Virulence, v. 7, n. 7, p. 789-805, 2016. DOI: https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1192743.

SOUSA, F. B. M. *et al*. A comprehensive review of therapeutic approaches available for the treatment of cholera. Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 72, n. 12, p. 1715-1731, 2020. DOI: https://doi.org/10.1111/jphp.13344.

SOUSA, F. B. M. *et al*. H2S is a key antisecretory molecule against cholera toxin-induced diarrhoea in mice: Evidence for non-involvement of the AC/cAMP/PKA pathway and AMPK. Nitric Oxide, v. 76, p. 152-163, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.09.007.

WU, W. *et al*. Metformin Protects against LPS-Induced Intestinal Barrier Dysfunction by Activating AMPK Pathway. Molecular Pharmaceutics, v. 15, n. 8, p. 3272-3284, 2018. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00332.

YIBCHAROENPORN, C. *et al*. Discovery of a novel chalcone derivative inhibiting CFTR chloride channel via AMPK activation and its anti-diarrheal application. Journal of Pharmacological Sciences, v. 140, n. 3, p. 273-283, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jphs.2019.07.012.

ZHANG, L. *et al*. AMP-activated protein kinase regulates the assembly of epithelial tight junctions. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 103, n. 46, p. 17272-17277, 2006. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.0608531103.

ZHENG, B.; CANTLEY, L. C. Regulation of epithelial tight junction assembly and disassembly by AMP-activated protein kinase. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 104, n. 3, p. 819-822, 2007. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.0610157104.

ZHENG, J.; GONG, S.; HAN, J. Arabinogalactan Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Intestinal Epithelial Barrier Damage through Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase/Silent Information Regulator 1/Nuclear Factor Kappa-B Signaling Pathways in Caco-2 Cells. International Journal of Molecular Sciences, v. 24, n. 20, art. 15337, p. 1-17, 2023. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms242015337.