



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO

LAURA UEHARA

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA TRANSCUTÂNEA DO NERVO
VAGO NO PAINEL INFLAMATÓRIO E EVOLUÇÃO CLÍNICA DOS
PACIENTES COM COVID-19: ENSAIO CLÍNICO, CONTROLADO,
RANDOMIZADO E CEGO**

SÃO PAULO, SP

2024

LAURA UEHARA

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA TRANSCUTÂNEA DO NERVO
VAGO NO PAINEL INFLAMATÓRIO E EVOLUÇÃO CLÍNICA DOS
PACIENTES COM COVID-19: ENSAIO CLÍNICO, CONTROLADO,
RANDOMIZADO E CEGO**

Tese apresentada à Universidade Nove de Julho
para obtenção do título de Doutora em Ciências
da Reabilitação.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Ishida Corrêa

SÃO PAULO, SP

2024

Uehara, Laura.

Efeito da estimulação elétrica transcutânea do nervo vago no
painel inflamatório e evolução clínica dos pacientes com COVID-19:
ensaio clínico, controlado, randomizado e cego. / Laura Uehara. 2024.
112 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São
Paulo, 2024.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Fernanda Ishida Corrêa.

1. COVID-19. 2. Estimulação do nervo vago. 3. Inflamação. 4.
Sintomas clínicos.

I. Corrêa, Fernanda Ishida.

II. Título

CDU 615.8

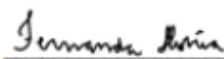
São Paulo, 18 de dezembro de 2023.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): LAURA YUKIKO UEHARA

Título da Tese: "EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA TRANSCUTÂNEA DO NERVO VAGO NO PAINEL INFLAMATÓRIO E EVOLUÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES COM COVID-19: ENSAIO CLÍNICO, CONTROLADO, RANDOMIZADO E CEGO"

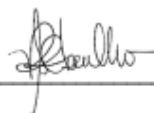
Presidente: PROFA. DRA. FERNANDA ISHIDA CORRÊA



Membro: PROFA. DRA. SORAIA MICAELA SILVA



Membro: PROFA. DRA. REGIANE ALBERTINI DE CARVALHO



AGRADECIMENTOS

Nenhum feito seria possível sem a permissão de Deus, por isso eu agradeço a Ele, por permitir que eu tenha concluído mais essa etapa importante da minha vida.

Além disso, agradecer a minha família, moms (Wilma), papis (Luiz) e hermana (Cris) por serem a minha base, bateria, meus exemplos e sempre foram as pessoas que torceram por mim.

Ao meu marido (Caio) que me entende e apoia minhas escolhas e participou indiretamente de todos os conflitos e conquistas do meu mestrado e doutorado.

Agradeço também a minha orientadora, Fernanda Ishida Corrêa, a pessoa que foi responsável por eu ter um mestrado e agora um doutorado. Ela participou ativamente de meu aprendizado acadêmico e sempre pude contar com sua parceria e amizade. Muito obrigada, prô!!!

Aos meus colegas de laboratório, LANFAM, principalmente a minha amiga Michele que participa dos meus dias de luta e meus dias de glória. Obrigada, querida, por ouvir minhas lamentações e celebrar minhas conquistas.

Agradecer minhas alunas de iniciação científica, Gabi, Vivi e Andressa, pela colaboração e por me fazer vivenciar a vida de uma docente.

Agradeço aos responsáveis e colaboradores do Hospital Professora Lydia Storopoli por permitirem a realização de nosso estudo em uma fase tão complicada da humanidade. Agradeço em particular as fisioterapeutas Natália e Karina pela empatia e colaboração com esse projeto.

Não posso deixar para trás, a equipe do Neuromodulation Center, Spaulding Rehabilitation Hospital e Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School por toda a colaboração e principalmente à Universidade Nove de Julho e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa Nível Superior (CAPES), pois sem estes, esse doutorado, não seria possível.

E por último, mas igualmente importantes, aos pacientes com COVID-19, que participaram desse estudo em um momento de fragilidade, porém entenderam que suas colaborações seriam de grande valia, inclusive não esquecendo dos pacientes que foram a óbito e mesmo assim nos ajudaram com esse projeto.

Meu muito obrigada a todos!

RESUMO

A COVID-19 é uma patologia que acometeu o mundo todo e apresenta um aumento significativo de processo inflamatório. A busca por tratamento se deu com muitos cientistas pelo mundo todo e o uso de Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago (EETNV) com esse objetivo também ocorreu. Dessa forma, o objetivo desse estudo é avaliar os efeitos da Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago (EETNV) nos marcadores inflamatórios e evolução clínica dos pacientes com COVID-19. Foi realizado um estudo randomizado, cego com 14 sessões (duas vezes ao dia) com EETNV ativo ou sham em 52 pacientes, com estimulação na região de tragus esquerdo (corrente alternada variando de 5 kHz a 25Hz, intensidade variando de 3 - 7 mA, por um período de 90 minutos pela manhã e 90 minutos pela tarde ou noite, intervalo de 6 a 8 horas entre cada estimulação). Foram avaliadas interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), cortisol e proteína-C reativam (PCR) no plasma sanguíneo e evolução clínica. Foi encontrado após o tratamento, níveis séricos de PCR (23.9%, 95% CI 46.3 a 1.4) e IL-6 (-37.7%, 95% CI -57.6 a -17.7) estatisticamente menor no grupo ativo quando comparados com o grupo sham; demais marcadores inflamatórios não apresentaram resultados significantes. Não houve alterações quanto aos sintomas clínicos, com exceção da diminuição de níveis de depressão (-2.85, 95% CI -5.44 a -0.27) no grupo ativo. Portanto é possível que a EETNV seja uma técnica viável e segura nos casos agudos de COVID-19, atuando nos níveis de PCR, IL-6 e depressão. É necessária uma amostra e acompanhamento maior para confirmar os achados desse estudo.

Palavras-chave: COVID-19; estimulação do nervo vago; inflamação; sintomas clínicos.

ABSTRACT

COVID-19 is a pathology that affected the whole world and presents a significant increase in the inflammatory process. The search for treatment took place with many scientists around the world and the use of Transcutaneous auricula Vagus Nerve stimulation (taVNS) for this purpose also occurred. Thus, the aim of this study is to evaluate the effects of transcutaneous electrical vagus nerve stimulation on inflammatory markers and clinical evolution from patients with COVID-19. A randomized, blinded study was conducted with 14 sessions (twice a day) for active or sham taVNS in 52 patients, with stimulation in the left tragus region (alternating current ranging from 5 kHz to 25Hz, intensity ranging from 3 - 7 mA, for a period of 90 minutes in the morning and 90 minutes in the afternoon or evening, interval of 6 to 8 hours between each stimulation). Interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), cortisol and C-reactive protein (CRP) in blood plasma and clinical evolution were evaluated. It was found after treatment, serum CRP levels (23.9%, 95% CI 46.3 to 1.4) and IL-6 (-37.7%, 95% CI -57.6 to -17.7) were statistically lower in the active group when compared to the sham group. Other inflammatory markers did not show significant results. There were no changes in clinical symptoms, except for a decrease in depression levels (-2.85, 95% CI -5.44 to -0.27) in the active group. Therefore, it is possible that taVNS is a viable and safe technique in acute cases of COVID-19, acting on the levels of CRP, IL-6, and depression. A larger sample and follow-up are needed to confirm the findings of this study.

Keywords: COVID-19; vagus nerve stimulation; inflammation; clinical symptoms

Sumário

I.	LISTA DE TABELAS	11
II.	LISTA DE FIGURAS	12
III.	LISTA DE ABREVIATURAS	13
1.	CONTEXTUALIZAÇÃO	17
1.1	Coronavírus – Conceito e origem	17
1.2	Patogênese.....	18
1.3	Sintomas e achados clínicos.....	19
1.4.	Tratamento	23
1.5	Nervo vago.....	24
1.6	Estimulação do nervo vago	26
1.7.	Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago (EETNV) na COVID-19	28
2.	OBJETIVO.....	30
2.1	Objetivo Geral.....	30
2.2	Objetivos Específicos.....	30
3.	METODOLOGIA	30
3.1	Desenho do estudo	30
3.2	Recrutamento e seleção da amostra	32
3.3	Tamanho da amostra	32
3.4	Critérios de Elegibilidade.....	32
3.5	Procedimentos	33
3.6	Avaliações	33
3.6.1	Perfil inflamatório	34
3.6.2	Quadro clínico	35
3.6.3	Questionário do quadro clínico	35
3.6.4	Escala de Nível de Ansiedade e Depressão (HAD).....	35
3.6.5	Nível de Memória e Atenção.....	36
3.7	Intervenções	36
4.	ANÁLISE DOS DADOS	38

5. RESULTADOS	39
6. DISCUSSÃO.....	46
7. CONCLUSÃO	52
8. REFERÊNCIAS	53
9. APÊNDICE	61
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO	61
APÊNDICE B – AVALIAÇÃO DO QUADRO CLÍNICO.....	67
APÊNDICE C – ARTIGO PUBLICADO: Efeito da estimulação elétrica transcutânea do nervo vago na inflamação, modulação autonômica cardíaca e evolução clínica dos pacientes com COVID-19: estudo de protocolo para um ensaio clínico, controlado, randomizado e cego	77
APÊNDICE D- ARTIGO PUBLICADO: Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation effects on inflammatory markers and clinical evolution of patients with COVID-19: a pilot randomized clinical trial	84
APÊNDICE E- ARTIGO PUBLICADO: Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation Improves Inflammation but Does Not Interfere with Cardiac Modulation and Clinical Symptoms of Individuals with COVID-19: A Randomized Clinical Trial	91
10. ANEXOS	106
ANEXO 1 – ESCALA HAD - AVALIAÇÃO DO NÍVEL DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO (Zigmond e Snaith, 1995).....	106
ANEXO 2 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	108

I. LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos participantes. 39

Tabela 2 – Medicções utilizadas no tratamento de COVID-19. 40

Tabela 3 – Resultados de ansiedade e depressão nos pacientes com COVID-19. 45

Tabela 4 – Resultados de memória e atenção nos pacientes com COVID-19. 46

II. LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Vias anti-inflamatórias do nervo vago.	24
Figura 2 - Fluxograma do estudo.	31
Figura 3 – Linha do tempo do estudo.	34
Figura 4 – Local de estimulação do nervo vago.	37
Figura 5 – Resultados da proteína C-reativa, interleucina 6, interleucina 10 e cortisol.	41
Figura 6 – Resultados de quadro clínico.	42

III. LISTA DE ABREVIATURAS

A - Acentuada

ACh – Acetilcolina

ACTH – Hormônio de liberação corticotropina

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AVC – Acidente vascular cerebral

βCov – Coronavírus β

β2-Ars – Receptor adrenérgico β2

CDC – *Center for Disease Control and Prevention*

CGI – *Clinical Global Impression*

CNS – Conselho Nacional de Saúde

CONSORT – *Consolidated Standards of Reporting Trials*

CoV – Coronavírus

COVID-19 – Coronavírus 2019

CRH -Hormônio de liberação de corticotropina

DMNV – Núcleo dorsal motor do nervo vago

DP – Desvio padrão

E - Envelope

ECA2 – Enzima conversora de angiotensina 2

EDTA – Ácido etilondiamino tetra-actético

EETNV – Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago

ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sobent-Assav*

ENV – Estimulação do nervo vago

ENS – Sistema nervoso entérico

FC – Frequência cardíaca

FDA – *Food and drug administration*

FiO₂ – Fração inspirada de oxigênio

GCSF – Fator estimulador de colônias granulocitárias

GIT – Trato gastrointestinal

HAD – Avaliação de nível de Ansiedade e Depressão

Hz - hertz

HPA – Hipotalâmico-pituitário-adrenal

IFN- α – Interferon alpha

IFN- β – Interferon beta

IFN- γ – Inerferon gamma

IL- Interleucina

IMC – Índice de massa corpórea

IP10 – *Interferon Gamma Induced Protein 10kDa*

ITT – Intenção de tratar

Khz – quilohertz

Kg - kilograma

L – leve

m - Metro

M – Membrana

M – moderado

mA – miliámpere

MCP1A – proteína de quimioatração de monócitos

MIP1A - proteína 1 alpha macrofágica inflamatória

MERS – Síndrome Respiratória do Oriente Médio

MMII- Membros inferiores

MMSS- Membros superiores

ms – milissegundos

N – nucleocapsídio

N - nenhum

nAChR – receptor nicotínico de acetilcolina

Ne- Norepinefrina

NMDV – Núcleo motor dorsal do nervo vago

NTS- Núcleo do trato solitário

NV – Nervo vago

OMS- Organização Mundial de Saúde

PA – Pressão Arterial

PAD – Pressão arterial diastólica

PAS – Pressão arterial sistólica

PaO₂ – Pressão Parcial arterial do gás

PCR – Proteína-C reativa

RNA – Ácido ribonucleico

S - *Spike*

SARS – Síndrome Respiratória Grave

SARS-CoV-2- Síndrome Respiratória Aguda Grave coronavírus 2

SDRA – Síndrome do desconforto respiratório agudo

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

SNC – Sistema nervoso central

SNP – Sistema nervoso periférico

T5 – T9 – vértebras torácicas 5 a 9

TNF- α – Fator de necrose tumoral α

TMPRSS2 – Serinoprotease transmembrana II humana

VAC – Via anti-inflamatória colinérgica

2019-nCoV – novo coronavírus

$\alpha 7$ nAChRs – receptor $\alpha 7$ nicotínico de acetilcolina

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 Coronavírus – Conceito e origem

Em dezembro de 2019 foram descritos na cidade de Wuhan, China, os primeiros casos de 41 pneumonias sem etiologia definida, mais tarde identificada como coronavírus (COVID-19) que se espalhou mundialmente causando uma pandemia nunca vista (1). O vírus ficou conhecido como “novo coronavírus 2019” (2019-nCoV/SARS-CoV-2), um betacoronavírus (2).

O coronavírus é encontrado em humanos e outros animais como gatos, cachorros, gado, galinhas, pássaros e porcos(3). Os estudos apontam que o vírus SARS-CoV-2 tenha passado dos morcegos para os humanos por meio de texugo-furões, civeta do Himalaia e guaxinins vendidos nos mercados de Guandong (2).

O termo coronavírus (Cov) é de origem latina que significa coroa (4). CoV pertence aos nidovírus (nidovirales), que possuem as seguintes características: contém um largo genoma de RNA, altamente replicável, apresenta diversas atividades enzimáticas únicas e tem mudança de quadros ribossômicos quanto a expressão genética de diversos genes não-estruturais. A família Coronavirinae consiste em alpha Cov, beta Cov, gamma Cov e delta Cov (4). O 2019-nCoV é um β CoV do grupo 2 β com 70% de familiaridade com a sequência genética do SARS-CoV (5). Este vírus é grande, envelopado de RNA de fita simples, apresenta-se com partículas esféricas pleomórficas com diâmetro de 60 a 140nm, cravejadas com proteínas de pico distintas, que variam de 9 a 12nm, dando característica de coroa solar (2,3). O SARS-CoV-2 apresenta cinco proteínas não estruturais poliproteicas replicadas e quatro proteínas estruturadas, nomeadas como spike (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapsídeo (N)(6).

Inicialmente a Síndrome Respiratória aguda grave tipo 2 foi nomeada como 2019-nCoV. A COVID-19 (doença do coronavírus 19) descreve todas as formas da doença causada pelo SARS-CoV-2 (7) A contaminação do vírus se dá pelo trato respiratório, saliva, urina e fezes (4).

Atualmente existem 773 milhões casos confirmados de COVID-19, incluindo 6,99 milhões de mortes no mundo e no Brasil com 38 milhões casos confirmados e 708 mil mortes reportados até dia 03 de janeiro de 2024 (8)(www.covid.saude.gov.br em 03/01/2024).

1.2 Patogênese

O vírus inicialmente tem como alvo células epiteliais nasais e brônquicas e pneumócitos, utilizando da proteína *Spike* (S) para se ligar ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2). Na célula hospedeira, a serino protease transmembrana tipo 2 (TMPRSS2) promove a captação viral à ECA2 ativando a proteína SARS-CoV-2S, permitindo a entrada do coronavírus nas células hospedeiras (3). A ECA2 é uma proteína de membrana que normalmente regula o sistema renina-angiotensina, que sinaliza a angiotensina II, esta tem um papel importante na homeostase, por meio da regulação endócrina e autócrina pulmonar, hepática, glândulas adrenais, cardíaca, endotélio vascular, das gônadas do músculo esquelético e cérebro, também está envolvido com a função de produção de citocinas lesão/reparação, crescimento e divisão celular e inflamação(9). Os receptores de ECA2 são mais comuns no endotélio de artérias coronárias, fibroblastos do coração, endotélio vascular, miócitos, células intestinais, de brônquios, traqueia, células epiteliais tubulares renais e pneumócitos do tipo 2 pulmonares (6). Foi observado ainda que a infecção por SARS-CoV-2 altera a produção da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), essa alteração afeta a pressão arterial e contribui com a hiperinflamação, portanto a interação do SARS-CoV-2 com ECA2 não é somente a porta de entrada para o vírus, mas também um potente desregulador do sistema renina-angiotensina, com efeitos prejudiciais no tônus parassimpático e regulação cardiovascular (10)

A infecção por SARS-CoV-2 afeta tanto a resposta imunológica inata quanto a adaptativa, induzindo a um excesso no processo inflamatório e severidade da doença(6,11). Na COVID-19 há presença de lesão alveolar difusa com presença de exsudato intraalveolar, com migração de células inflamatórias predominantemente os neutrófilos, que por um tempo prolongado levam à destruição de membranas plasmáticas, aumentando a permeabilidade do alvéolo capilar resultando em edema alveolar (12). Os neutrófilos liberam mediadores pró-inflamatórios como $TNF\alpha$, $IL1-\beta$, $IL-6$ e $IL-8$, intensificando a resposta inflamatória promovendo a quimiotaxe e ativando novas células inflamatórias com liberação de proteases, oxidantes leucotrienos e outras moléculas pró inflamatórias, contribuindo à lesão parenquimal pulmonar(12).

A progressão da doença está associada com o aumento de citocinas que incluem $IL2$, $IL7$, $IL10$, GCSF, $IP10$, MCP1, MIP1A e $TNF\alpha$, conhecido como tempestade de citocinas

(13,14). Em casos severos de COVID-19 há queda de níveis de IL10 (11). As citocinas são glicoproteínas que são responsáveis pela manutenção de processos biológicos, como por exemplo, a regulação entre as respostas imunológicas adaptativas e inatas, responsáveis pelo controle de doenças crônicas ou infecções como a COVID-19 (15). A tempestade de citocinas gera a síndrome de ativação de macrófagos que está relacionada à lesão tecidual e de órgãos no fígado, pulmão, rim e coração pela proliferação e ativação excessiva de células T e macrófagos hemofagócitos. Essa síndrome desencadeia a pancitopenia, febre, aumento de concentração de ferritina e disfunções de fígado, além de que a resposta excessiva inflamatória está relacionada com a severidade da doença (11).

A barreira epitelial-endotelial fica comprometida em estágios posteriores da infecção, infectando as células endoteliais dos capilares pulmonares, aumentando a resposta inflamatória, desencadeando aumento da presença de monócitos e neutrófilos, levando à uma disfunção da transmissão alveolar-capilar de oxigênio (3).

Quando a patologia evolui para grave, há ativação fulminante de coagulação. Um dos causadores desse mecanismo é o aumento de IL6, IL1 β e TNF α , que ocorre devido ao fator tecidual expressados por células vasculares endotelial e monócitos, pela atividade de citocinas, que promove a conversão de protombina em trombina, que converte a circulação de fibrogênio em fibrina, formando assim o coágulo de fibrina. Neutrófilos são absorvidos pela ativação celular endotelial e libera neutrófilos extracelular, que ativa a coagulação (11,15). Dessa forma, formação de microtrombos são formados nos tecidos pulmonares inflamados e células endoteliais pulmonares, além de tecidos do fígado, coração, membros inferiores, mãos, cérebro e rins, contribuindo para a alta incidência de complicações trombóticas como a embolia pulmonar, trombose venosa profunda e complicações arteriais trombóticas que podem levar à isquemia de membros, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral isquêmico (3,11).

1.3 Sintomas e achados clínicos

Os pacientes podem apresentar-se assintomáticos (50-75%) ou podem desenvolver a doença com sintomas graves (14%), necessitando de hospitalização e oxigenoterapia e 5% deles precisarão de cuidados intensivos (16).

Em revisões realizada por Borges do Nascimento *et al.* (17) e Tsai *et al.* (16) relataram que os sintomas mais comuns são: febre, tosse com ou sem secreção, dor muscular e/ou fadiga, dispneia, desenvolvimento tardio de hemoptise, calafrio, vertigem, cefaleia, dor de garganta, diarreia, anosmia, ageusia, náusea, sintomas gastrointestinais e acometimentos neurológicos. A COVID-19 interfere também nos sistemas nervoso, cardiorrespiratório, imunológico e renal, bem como na saúde mental, como a alteração do humor, ansiedade, depressão e dificuldade para dormir (18).

Em metanálise de Li et al (19) demonstrou que fumantes apresentaram associação significativa com COVID-19 severa, com uma ou mais comorbidades, como a doença pulmonar obstrutiva crônica, diabete, hipertensão, doença coronária cardíaca, doenças cerebrovasculares e malignidade.

Algumas complicações podem ocorrer nos pacientes hospitalizados tais como síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), pneumonia, lesão hepática aguda decorrentes por aumento de bilirrubina, alanina transaminase e aspartato transaminase, lesão renal aguda, insuficiência cardíaca grave aguda, miocardite, disritmias, coagulopatia pró-trombótica levando a eventos tromboembólicos arteriais e venosos, comprometimento neurológico como alterações na consciência, acidente vascular cerebral e choque, podendo dessa forma influenciar na morbidade e mortalidade (3,20). Eventos estressantes, como por exemplo a internação por COVID-19, podem ativar o eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA), aumentando a liberação de cortisol na corrente sanguínea, acarretando a supressão do sistema imunológico pela alteração do balanço de citocinas pró-inflamatórias (21).

Os sintomas geralmente iniciam após 5,2 dias da contaminação (3,16). Alguns fatores aumentam a possibilidade de a patologia evoluir para grave, são eles: idade (maior que 65 anos), comorbidades como a hipertensão, doença pulmonar obstrutiva, obesidade, diabetes mellitus e câncer (20).

A duração média do início dos sintomas para os cuidados em unidade intensiva é de aproximadamente 10 dias, enquanto a duração do início dos sintomas e morte variam de 2 a 8 semanas (16). A recuperação acontece a partir da segunda a terceira semana (13).

De acordo com Huang *et al.*(22), os pacientes foram classificados de acordo com o comprometimento, conforme abaixo, considerando que a fase aguda é do início dos sintomas até a alta hospitalar:

- 1) Sem hospitalização, com retorno normal às atividades;
- 2) Sem hospitalização, incapaz de realizar as atividades diárias;
- 3) Hospitalização, sem uso de oxigenação;
- 4) Hospitalização, com necessidade de uso de oxigênio;
- 5) Hospitalização, com necessidade de uso de cânula com alto fluxo, ventilação mecânica não-invasiva, ou ambos;
- 6) Hospitalização, com necessidade de ventilação mecânica invasiva, oxigenação extracorporeal, ou ambos;
- 7) Óbito.

A classificação quanto ao acometimento é: média a moderada, sem pneumonia e pneumonia; grave, dispneia, frequência respiratória maior que 30/min, saturação de oxigênio menor que 93%, PaO₂/FiO₂ menor que 300 e infiltração pulmonar maiores que 50% entre 24-48 horas; crítico, falha respiratória, choque séptico e múltipla falência de órgãos (4).

Nos achados de imagem do tórax é possível observar opacidade bilateral ou unilateral com ou sem efusão pleural, opacidade fosca múltiplas, infiltrados anormais, consolidação parenquimal, sendo as imagens da COVID-19 similares a pneumonia viral com algumas particularidades com infiltrados inflamatórios mononucleares intersticiais e edema como característica a opacidade de vidro fosco. Sombras desiguais foscas, mais comuns sub-pleurais ou periféricas com opacidades irregulares e distribuição de opacidade alveolar (3,16,17). Conforme a doença vai progredindo, lesões múltiplas do tipo vidro fosco com opacidade podem evoluir para consolidação o espessamento do septo interlobular ou intralobular, que poderá expandir a consolidação (16).

Os achados laboratoriais incluem aumento de níveis de lactato desidrogenase e ferritina. A contagem de células brancas sanguíneas varia, além de pacientes apresentarem leucopenia e linfopenia, apresentam também níveis de interleucina-6 (IL-6), proteína C-reativa (PCR) e cortisol alterados (16)

Em estudo de Huang *et al.*(22) foi observado casos de disfunção renal persistente e início de comorbidades como diabetes, tromboembolismo venoso, com eventos cerebrovasculares e cardiovasculares.

Mais especificamente ao Sistema Nervoso Central (SNC), a COVID-19 apresenta como sintomas mais comuns: delírio, disfunções olfatórias e gustatórias, AVC (associada às doenças cerebrovasculares/cardiovasculares, idade avançada, diabetes, hipertensão e tabagismo)(23). Dor de cabeça, anosmia, ageusia, náusea, alteração de consciência, “*brain fog*”, confusão mental, síncope, hemorragia, mialgia, convulsão, mielomeningocele, Síndrome Guillan-Barre, doenças desmielinizantes, meningite, encefalite também são alguns dos acometimentos causados pela COVID-19 no SNC e Sistema Nervoso Periférico (SNP) (23–25).

O vírus invade o SNC pela via dos nervos olfatórios e do nervo vago atingindo o tronco cerebral e tálamo, causando falha respiratória neurogênica e disfunção autonômica. Partículas e ondas inflamatórias atingem o núcleo supraespinal no tronco cerebral, atingindo o “reflexo inflamatório”, explicando dessa forma como o vírus pode causar danos severos e afetar aspectos de comportamento e cognitivos(20).

O SARS-CoV-2 pode afetar o SNC por duas vias: 1) disseminação neuronal retrógrada, por meio do nervo olfatório, trigêmeo, vago e disseminar o SNC por neurônios interconectados e 2) disseminação hematogênica, onde o vírus invade dentro da corrente sanguínea pela barreira cérebro-sangue e invade o SNC (24,26). Foi observado em diversas autópsias pontos de isquemia, congestão de meninges, hipóxia aguda, múltiplos infartos e edema nos tecidos encefálicos (23,24).

A gravidade de acometimento neurológico tanto de Sistema Nervoso Central quanto de Sistema Nervoso Periférico parece estar associada com o grau de tempestade de citocina, ou seja, quanto menor a quantidade de citocinas presentes menor o acometimento neurológico (25).

Além de que, o acometimento cognitivo pode estar relacionado com hipoxemia, hipoperfusão, resposta inflamatória da infecção, sedação, uso de drogas e ventilação mecânica. Disfunções cardíacas, AVC, coagulação sanguínea e hipóxia observadas na COVID-19 têm efeitos de longo prazo nas funções cerebrais e cognitivas (25).

Alterações no estado mental se mostrou o segundo problema neurológico mais comum em pacientes de COVID-19. Indivíduos com SDRA aguda demonstraram déficits em habilidades funcionais e memória de curto prazo, aumentando assim os níveis de ansiedade, depressão e estresse pós-traumático (25). Níveis altos de citocinas como a IL6, IL1 β e TNF α foram detectadas na circulação sanguínea em muitas patologias psiquiátricas, tais como transtorno de estresse pós-traumático, transtorno obsessivo-compulsivo e depressão (26).

As desordens cognitivas podem afetar as habilidades cognitivas como o aprendizado, percepção, resolução de problemas, memória, função de percepção motora, linguagem, atenção, cognição social, demência, habilidades motoras, confusão, perda de coordenação, perda de memória de curto e longo prazo (25).

Os sintomas mais comuns após a alta hospitalar são fadiga ou fraqueza muscular, insônia, perda de cabelo, anosmia, palpitações, dores articulares, diminuição de apetite, falta de paladar, tontura, diarreia, vômito, dor no peito, dor na garganta, dificuldade para engolir, irritação na pele, mialgia, cefaleia e febre (22).

1.4. Tratamento

COVID-19 é classificado como uma doença altamente infecciosa transmitida pelo ar e, portanto, a identificação dos infectados e seu isolamento para prevenção de transmissão é altamente recomendável (2). O distanciamento social, o uso de máscara, aferir a temperatura e *lockdowns* foram as estratégias iniciais de medidas preventivas para a propagação do surto de COVID-19 (16).

O tratamento realizado é tratar os sintomas e suporte essencial. Indivíduos com doença moderada devem ser tratados em casa e monitorados, manter boa nutrição e hidratação, controle de febre e tosse. Em casos mais graves, a ventilação mecânica ou suporte de oxigenação por membrana extracorpórea pode ser necessário. Antifúngicos e antibióticos podem ser necessários em caso de coinfeção (13). Remdensevir® tem sido utilizado como tratamento da COVID-19, além do desenvolvimento de vacinas (16). O Lopinavir-ritonavir®, Ribavirin® tem sido utilizado, baseado nas experiências com MERS e SARS. Pacientes tratados com Lopinavir-ritonavir® e Ribavirin® tem apresentado melhores

resultados quando comparados com tratamento com Ribavirin® isoladamente. Outra medicação indicada é o Arbidol®, imunoglobulina intravenosa, Cloroquina®, Interferon® e plasma de indivíduos recuperados da COVID-19, além de corticoesteroides, inibidores de citocinas (Tocilizumab®, Ulinastatin®), antagonistas de IL1 (Anakinra®), anti-TNF (Adalimumab®, Etanercept® e Golimumab®), porém com resultados controversos (11,13). Novas formas de tratamento têm sido estudadas para combater essa pandemia, podendo incluir a Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago (EETNV).

1.5 Nervo vago

O Nervo Vago (NV) tem como função transmitir informações do corpo para o cérebro, bem como atuar na regulação de órgãos e manutenção da homeostase (27–29), como controle da pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e participação nos processos de digestão e imunidade, além de inervar as vias distais do pulmão e alvéolo, atuando de forma aferente e eferente no controle anti-inflamatório (30–33).

O NV faz parte do décimo par de nervo craniano com 80% de fibras aferentes e 20% de fibras eferentes, sua origem se dá no tronco encefálico e percorre até o abdômen, inervando diversos órgãos, especialmente o trato gastrointestinal. Ele é um componente importante do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) (32)

É importante relatar que o nervo vago é sensível a citocinas pró inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF) e interleucinas 1 e 6, pois as citocinas inflamatórias podem ativar o nervo vago aferente, transmitindo essa informação ao sistema nervoso central, o mesmo pode ativar nervo vago eferente, que por sua vez irá aumentar a produção de acetilcolina, que inibirá a produção de citocinas inflamatórias nos macrófagos, via receptores muscanínicos ou nicotínicos (10,32).

Uma vez instalada a inflamação, os neurônios do núcleo do trato solitário (NTS) ativam o núcleo motor dorsal do nervo vago (NMDV) que pelas fibras eferentes desencadeará dois mecanismos de resposta imune: a via anti-inflamatória colinérgica (VAC) e o eixo hipotalâmico-pituitário adrenal (HPA). Há uma resposta anti-inflamatória desencadeada pelo NMDV que percorre ao nervo esplênico para o baço que ativa os linfócitos T, que expressam a acetilcolina-transferase. As células T liberam acetilcolina

quando identificam os macrófagos para assim inibir a liberação de mediadores inflamatórios (14).

Além disso, os neurônios NTS-DMNV ativados por infecção provocam liberação de acetilcolina em suas terminações eferentes com efeitos anti-inflamatórios. Já no HPA, o nervo vago no NTS modula o potencial membrana dos neurônios noradrenérgicos do grupo A2 que estimula para área hipotalâmica paraventricular, os neurônios paraventriculares parvocelulares liberam o fator estimulador de corticotropina que se liga a receptores específicos das células da glândula pituitária que liberam adrenocorticotropina, um hormônio que modula as células das glândulas adrenais que liberam glicocorticoides no organismo (34)(Figura 1).

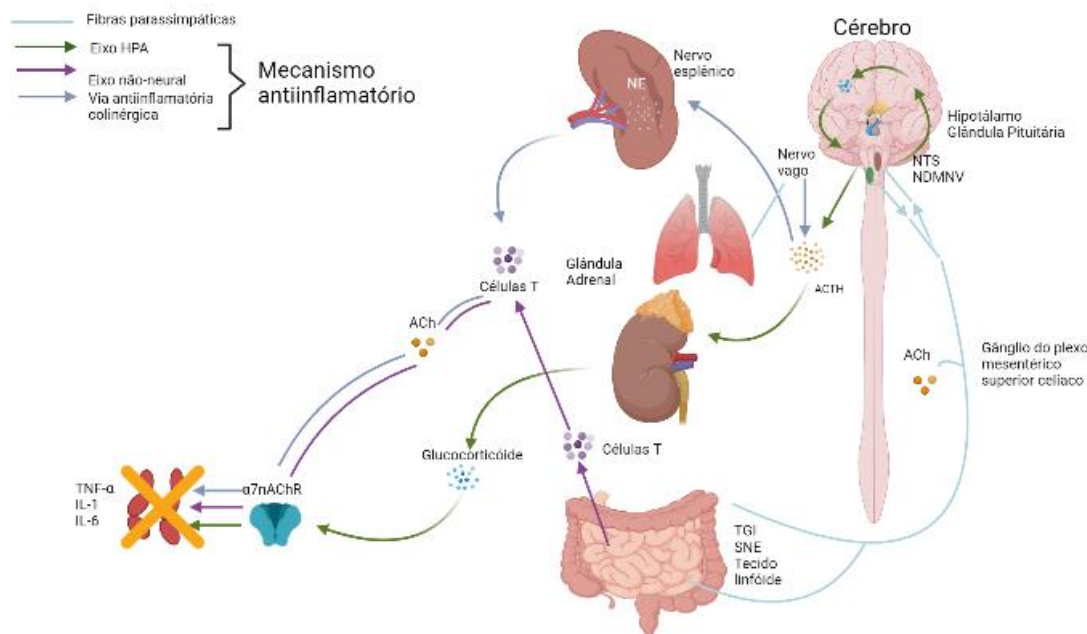


Figura 1: Vias anti-inflamatórias do nervo vago. Representação esquemática das vias anti-inflamatórias do nervo que incluem a via hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (seta verde), via anti-inflamatória colinérgica (VAC) (seta azul clara) e ligação não neural entre o nervo vago e o baço (seta roxa). As três vias resultam em atenuação de produção de citocinas pró-inflamatórias como a fator- α de necrose tumoral (TNF α), interleucina-1 (IL-1) e

interleucina-6 (IL-6). (DVMN): núcleo motor dorsal do nervo vago; (NTS): núcleo do trato solitário; (GIT): trato gastrointestinal; (ENS): sistema nervoso entérico; (T5-T9): vértebras torácicas; (ACh): acetilcolina; (NE): norepinefrina; (CRH): hormônio de liberação corticotropina; (ACTH) hormônio adrenocorticotrófico; (β 2-Ars): receptor adrenérgico- β 2 e (α 7nAChRs): receptor α 7 nicotínico ACh. (Fonte: autoria própria)

Atualmente é bem reconhecido a atuação do nervo vago nos processos imuno inflamatórios, portanto, modular o nervo vago parece ser um bom candidato para o tratamento de COVID-19 (35)

1.6 Estimulação do nervo vago

Atualmente há conexões entre acupuntura auricular, principalmente a eletroacupuntura, e terapias de neuromodulação como a estimulação transcutânea do nervo vago (ETNV). A estimulação auricular foi utilizada em muitas culturas antigas, como por exemplo, na acupuntura da medicina tradicional chinesa, além de tribos da Arábia. A estimulação auricular também foi observada no Egito, onde as mulheres picavam ou cauterizavam a aurícula externa com objetivo contraceptivo, já na Pérsia antiga o tratamento de dor ciática era realizado com cauterização auricular (36)

Há registros de estimulação do nervo vago há mais de 100 anos para o tratamento de epilepsia com compressão da artéria carótida no pescoço para suprimir o fluxo sanguíneo para diminuir a frequência cardíaca e posteriormente diminuir o fluxo sanguíneo para o cérebro, porém esse método não foi aceito e esquecido por um período (36)

Na década de 80, foi desenvolvido por Jake Zabara a estimulação do nervo vago implantável, que foi amplamente utilizado para o tratamento de epilepsia refratária e em 1997 a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o tratamento com estimulação do nervo vago para epilepsia (37) O tratamento para a depressão foi autorizado pela FDA em 2005 e foi descoberta para esse objetivo por acaso, pois os estudos estavam voltados para o tratamento de epilepsia e foi observado uma melhora no comportamento geral do grupo estudado com aumento do inibidor ácido gama-aminobutírico e diminuição de glutamato excitatório, ou seja, há uma modulação serotoninérgica com a estimulação do nervo vago (38).

Por se tratar de uma terapia cara e invasiva, procurou-se alternativas menos dispendiosas e não-invasivas, como a estimulação transcutânea do nervo vago, estimulação transcutânea cervical do nervo vago e estimulação transcutânea auricular do nervo vago, dos quais originou um aumento de publicações de pesquisa sobre esse tema (27,36)

Existem evidências que a estimulação do nervo vago pode ativar o sistema parassimpático e mediar linfócitos pelas suas fibras eferentes que liberam glicorticóides das glândulas adrenais, inibindo dessa forma a produção de macrófagos pró-inflamatórios (18,39–41), melhorando a sobrevivência em sepse, choque hemorrágico, lesão de isquemia-reperfusão e outras condições de excesso de citocinas (42), além de diminuir atividade simpática e estar associada à liberação da norepinefrina, melhorando controle autonômico (43).

Outra explicação do mecanismo da estimulação do nervo vago é que o nervo vago libera acetilcolina, ativando $\alpha 7$ nAChR nas células de infiltrado inflamatório levado à ativação de STAT3 (do inglês *signal transducers and activators of transcription*), inibindo a liberação de citocinas pró inflamatórias, promovendo a liberação de citocinas antiinflamatórias pelas células inflamatórias (44).

O nervo vago parece ser uma alternativa como alvo para tratamento inflamatório, dessa forma é importante relatar que a estimulação do nervo vago em pacientes com processo inflamatório é uma possibilidade terapêutica, se apresentando com uma alternativa não medicamentosa, com poucos efeitos colaterais (28), como para o tratamento da artrite reumatóide, diabetes, obesidade, sepse, doença de Crohn e fibromialgia, ainda em investigação (41).

Apresenta ainda a vantagem de apresentar poucas reações adversas (45–47), ou efeitos colaterais mínimos como irritação da pele, vermelhidão ou coceira, formigamento ou dor no local da estimulação (48,49). Há também em casos raros a presença de náuseas e vômitos, espasmos faciais, dor de cabeça, tontura, palpitação cardíaca, nasofaringite e rouquidão (49). Sua aplicação pode ser realizada através da eletroestimulação das conchas superior ou inferior (tragus) do ouvido externo, local da distribuição do ramo auricular do nervo vago, por eletrodos de superfície conectados ao aparelho gerador de estímulos (50), o local da estimulação na região de tragus da orelha se dá, pois esse é o local que se encontra o trajeto do ramo auricular do nervo vago (nervo de Arnold), local da distribuição cutânea

do nervo vago aferente, a qual ativa regiões cerebrais corticais, subcorticais e cerebelares avaliadas em ressonância magnética funcional (51). A região de tragus foi demonstrada em estudo com imagem cerebral funcional que induziu a ativação cerebral do NTS e seus locais de projeção, igualmente observado na Estimulação do Nervo Vago invasivo (51). O local mais seguro para a estimulação do nervo vago é lado esquerdo, pois o nervo vago do lado direito inerva o nodo sinoatrial e esquerdo o nodo atrioventricular, dessa forma a estimulação invasiva do lado direito pode gerar bradicardia (49).

1.7. Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago (EETNV) na COVID-19

A EETNV é uma terapia que estimula a broncodilatação e ativação da VAC, diminuindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF, IL-1 β e IL-6, e não IL-10, levando ao equilíbrio de citocinas anti e pró-inflamatórias, por esse motivo utilizar EETNV pode ser interessante em pacientes com COVID-19, com base no efeito modulador na liberação de citocinas (52,53).

Ademais, essa técnica parece promover redução do TNF- α (54) e melhora a regulação e expressão de quimiocinas e citocinas, diretamente envolvidos na inibição inflamatória dentro o sistema nervoso central e diminuindo lesão tecidual causada pela inflamação (55,56). O circuito neural pelo reflexo inflamatório atua no nervo vago e acetilcolina estimulando a $\alpha 7$ do receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR) presente nos macrófagos dos baços produtores de citocina, apresentando aumento de acetilcolina em baço em ratos após poucos minutos de estimulação do nervo vago (44,55). Alterar a função imunológica, por meio do direcionamento de $\alpha 7$ nAChR, que está desregulada na infecção por COVID-19 parece ser uma boa estratégia e essa pode ocorrer com o uso de EETNV (52).

Na lesão pulmonar aguda, a EETNV parece ser capaz de regular o desequilíbrio do SNA, com alta atividade nervosa simpática e baixa atividade parassimpática, atuando pelo VAC, por meio de $\alpha 7$ nAChR prevenindo lesão pulmonar, pois a $\alpha 7$ nAChR é necessária para inibição da produção de TNF pelos macrófagos, estimulando acetilcolina (52). Porém ainda mais estudos sobre seu mecanismo são necessários.

Na COVID-19, há hiperatividade do sistema nervoso simpático que pode provocar liberação excessiva de epinefrina e norepinefrina, levando à vasoconstrição pulmonar e

hipermeabilidade capilar. A perda de equilíbrio simpato-vagal piora com a presença do SARS-CoV-2 por meio do sistema renina-angiotensina-aldosterona, que causa uma cascata de peptídeos vasoativos. Hipotetiza-se que o uso de inibidores do sistema renina-angiotensina-aldosterona poderia alterar a expressão da ECA2, podendo contribuir para a expansão da COVID-19, dessa forma o uso de EETNV poderia neutralizar os efeitos negativos do desequilíbrio do sistema renina-angiotensina-aldosterona (34)

A estimulação do nervo vago tem sido utilizada no tratamento da depressão, sintoma da COVID-19, a qual parece atuar no aumento dos níveis de norepinefrina, no córtex pré frontal medial, córtex, hipocampo, amígdala e locus coeruleus (57). O sistema imunológico fica desregulado, com alterações na resposta imune periférica e ativação imune central, aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias, causando anormalidades nos circuitos cerebrais, dessa forma o controle da inflamação se torna benéfica para indivíduos com depressão (58). Isso posto, tratar a COVID-19 com EETNV parece uma terapêutica interessante, pois o controle da inflamação pode trazer benefícios no tratamento geral para os pacientes depressivos (58). Em estudo de Ramezani (21) que apresentaram correlação positiva com níveis de cortisol com níveis de ansiedade e depressão, suportando a hipótese de que o estresse aumenta a vulnerabilidade dos pacientes com COVID-19.

Bonaz, Sinniger e Pellissier (52) relatam que a EETNV é um tratamento inovador em pacientes com COVID-19 com base nos efeitos anti-inflamatórios na periferia e SNC.

Com o advento da pandemia por meio do vírus SARS-CoV-2 e suas consequências na saúde pública, no aspecto social e econômico, é importante verificar outras formas de tratamento que possibilite a diminuição do tempo de internação, diminuição de sequelas advindas da COVID-19 e com menor custo. Um sistema autonômico desregulado pode aumentar a mortalidade em pacientes com COVID-19, portanto regular o Sistema Nervoso Autônomo (SNA) parece ser uma terapêutica viável (10).

Dessa forma, avaliar se a EETNV poderia ser uma ferramenta para diminuição do processo inflamatório nesses indivíduos seria interessante como uma possível alternativa de tratamento barata e com poucos efeitos adversos. Isso exposto, entender como a EETNV atua no tratamento de COVID-19 se torna importante como uma possível ferramenta não invasiva no tratamento desses indivíduos. A hipótese deste estudo é que a EETNV irá

diminuir processo inflamatório de pacientes com sequela de COVID-19, principal característica dessa patologia.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da estimulação não invasiva do nervo vago na inflamação e evolução clínica dos pacientes com COVID-19.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar os efeitos de 14 sessões de estimulação não invasiva do nervo vago nos níveis plasmáticos das citocinas IL-6, IL-10, além de cortisol e Proteína C reativa quantitativa (PCR) de pacientes com COVID-19.

Avaliar a evolução clínica dos pacientes pré, pós sessões de estimulação não invasiva do nervo vago, e após 7 e 14 dias após o término das intervenções.

Avaliar o nível de ansiedade e depressão pré, pós sessões de estimulação não invasiva do nervo vago, e após 7 e 14 dias após o término das intervenções.

Avaliar o nível de memória e atenção pré, pós sessões de estimulação não invasiva do nervo vago, e após 7 e 14 dias após o término das intervenções e com acompanhamento mensal no período de seis meses.

3. METODOLOGIA

3.1 Desenho do estudo

Trata-se de um ensaio clínico controlado por sham, randomizado, cego (participante), realizado no Hospital Lydia Storópoli, localizado na Universidade Nove de Julho – Campus

Vergueiro- São Paulo- Brasil. O protocolo seguiu as normas estabelecidas pelo *Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT)* (figura 2).

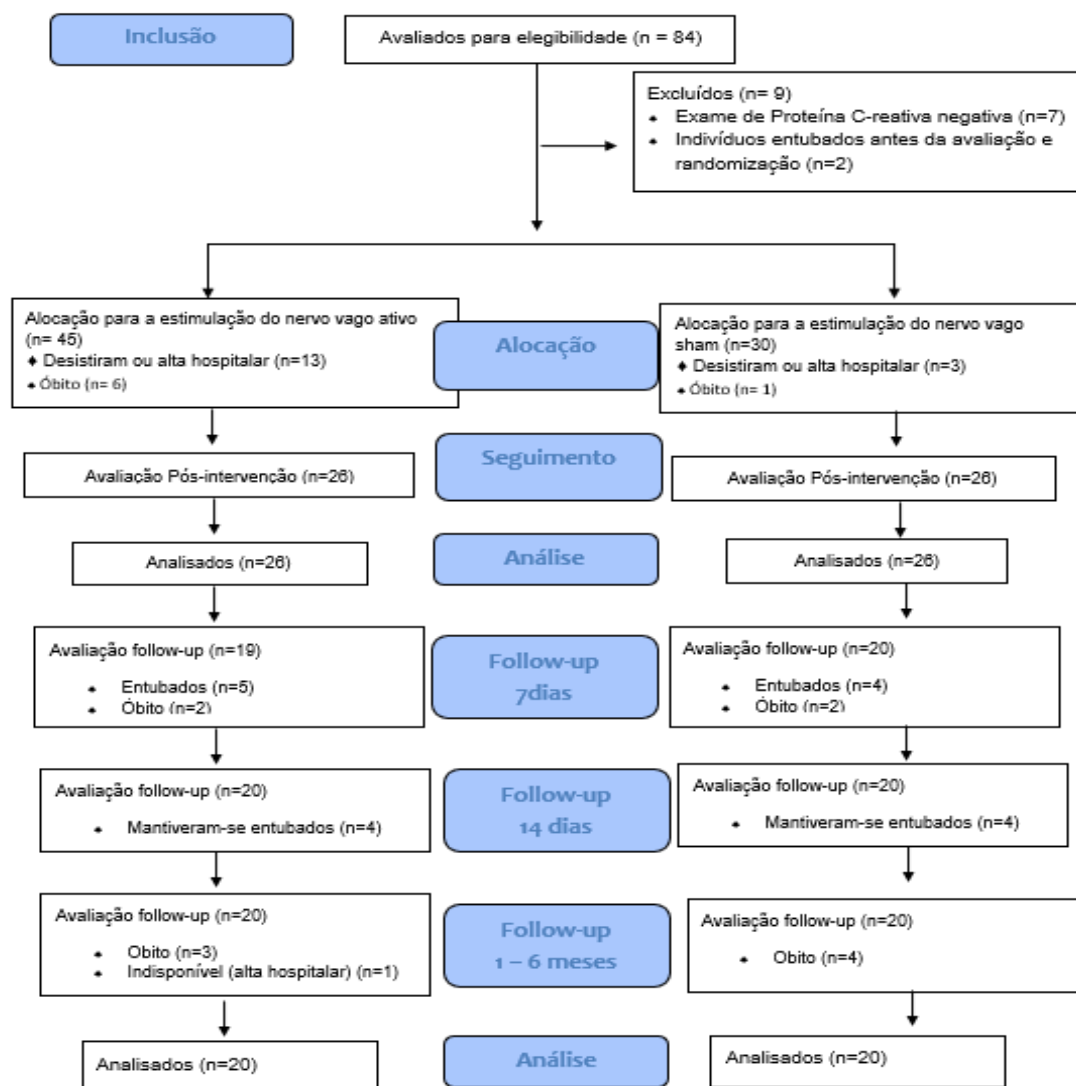


Figura 2. Fluxograma do estudo

Aspectos éticos

O protocolo deste estudo segue as normas estabelecidas na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). Durante a triagem os participantes elegíveis receberam instruções sobre o estudo e após serem informados da finalidade e dos aspectos pertinentes ao projeto, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A), podendo retirar-se da pesquisa em qualquer momento, sem penalização.

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética da Universidade Nove de Julho (46699521.5.0000.5511) localizado em na cidade de São Paulo, Brasil e registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR–399t4g5).

3.2 Recrutamento e seleção da amostra

A amostra deste estudo foi de 52 indivíduos com diagnóstico confirmado de COVID-19 internados no Hospital Professora Lydia Storopoli da Universidade Nove de Julho – São Paulo- Brasil, de acordo com os critérios de elegibilidade.

3.3 Tamanho da amostra

Para o cálculo da amostra foi considerada, diferença da IL-6 pós e a pré intervenção com EETNV deste estudo piloto com 21 participantes (11 em grupo controle 10 em grupo experimental). Foi considerado um intervalo de confiança de 80%, α de 5%, com valor de $p < 0,05$. O cálculo amostral foi realizado por meio do Software GPOWER3. Usando esses parâmetros, o cálculo da amostra resultou em um tamanho de amostra de 52 participantes (26 por grupo).

3.4 Critérios de Elegibilidade

Critérios de inclusão:

- Diagnóstico confirmado de COVID-19 moderado e grave (4) e recém internados no hospital, com início dos sintomas entre 1 e 10 dias;
- Pacientes maiores de 18 anos;
- Poderiam estar recebendo oxigênio suplementar, ventilação não invasiva, mas sem estar intubado durante avaliação inicial;

- Estarem contactuantes para poder entender o tratamento que seria aplicado e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A);

Crítérios de não inclusão:

- Uso de implante coclear ou marcapasso cardíaco;
- Estar intubado ou usando equipamentos de auxílio ventilatório que impeça a estimulação.

As informações como dados demográficos, histórico de saúde, comorbidades, medicamentos em uso, além dos parâmetros específicos referentes à COVID-19, incluindo exames sanguíneos, exames de imagem, tempo da doença foram obtidos por meio de análise de prontuário por um dos pesquisadores responsáveis. Após o término do tratamento, caso o paciente estivesse de alta hospitalar, ele foi contactado via telefone para obter informações sobre o seu estado de saúde. O nome do paciente foi mantido em sigilo.

3.5 Procedimentos

Os participantes do estudo foram avaliados quanto ao seu perfil inflamatório (mediadores inflamatórios), quadro clínico, nível de ansiedade e depressão e nível de memória e atenção. Os participantes foram randomizados por meio do site www.randomizer.org, em dois grupos: experimental (EETNV ativa) ou controle (EETNV *sham*). Os participantes eram cegos quanto ao tipo de tratamento.

3.6 Avaliações

Os participantes foram avaliados pré e pós 7 dias de intervenções quanto ao seu perfil inflamatório e quadro clínico. Estes pacientes foram acompanhados durante 6 meses, sendo que no 7^o e 14^o dias após o término das intervenções foram coletadas informações sobre seu

quadro clínico e nível de ansiedade e depressão e durante 6 meses (1 vez ao mês) foram coletadas informações sobre o nível de memória e atenção. Conforme figura 3 abaixo:

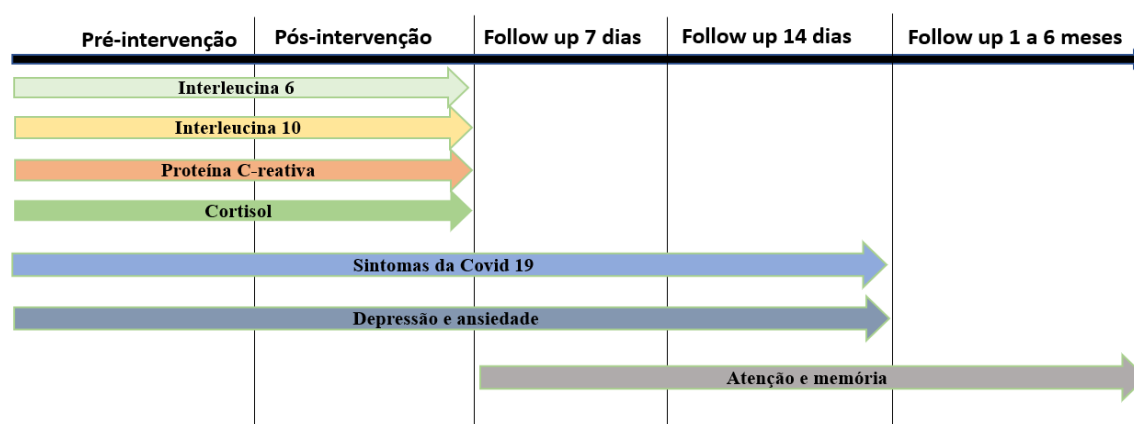


Figura 3: Linha do tempo do estudo

3.6.1 Perfil inflamatório

O perfil inflamatório foi avaliado pela análise dos níveis plasmáticos da Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-10 (IL-10), Cortisol e Proteína C reativa (PCR). Para isso a amostra de sangue, 15 ml, de cada paciente foi coletada por profissional da enfermagem por meio de punção da veia e armazenada em tubo contendo inibidor de protease e EDTA, em seguida foi centrifugada a 3000 rpm, durante 15 min a 4°C. O plasma resultante foi transferido para tubos de micro centrífuga (1,5ml) e armazenados a -80°C, posteriormente essa amostra foi enviada para análise dos marcadores inflamatórios em laboratório especializado em análise das IL-6, IL-10, PCR e cortisol. O método de análise de IL-6, IL-10 e cortisol foi o método ELISA (Enzyme-Linked Immuno-Sobent Assay) e o Imunoensaio Competitivo Quimioluminescente seguindo as recomendações do fabricante. Nefelometria (Dade-Behring N High Sensitivity PCR) foi utilizada para determinar a PCR.

As amostras de sangue foram obtidas sempre no período da manhã, no primeiro dia pré intervenção e no oitavo dia após o término das intervenções.

3.6.2 Quadro clínico

Para avaliar o quadro clínico do paciente foi aplicado um questionário (APÊNDICE B) elaborado pelos pesquisadores e uma escala para verificar o nível de ansiedade e depressão (ANEXO I) (59), pré e após intervenções com EETNV. Estes questionários foram reaplicados 7 e 14 dias do término das intervenções. Além de uma escala para o nível de memória e atenção (60) aplicada 7 e 14 dias após a intervenção e acompanhamento mensal, durante 6 meses.

3.6.3 Questionário do quadro clínico

Este questionário foi elaborado pelos pesquisadores, o qual continha uma lista de sintomas clínicos da COVID-19, como previamente descritos por BONAZ et al.(52), como fraqueza muscular, fadiga, dispneia, anosmia, ageusia, visão turva, conjuntivite, zumbido, dor de cabeça, dor nas articulações, dor nos membros superiores, dor nos membros inferiores, dor no peito, tosse, queda de cabelo, dermatite, febre, confusão mental, perda de memória, depressão, pânico, ansiedade e diarreia. O participante deveria responder quais destes sintomas ele apresentava no momento da entrevista e deveria informar a intensidade destes, que poderia ser nenhum (N), leve (L), moderada (M) ou acentuada (A).

Este questionário foi aplicado pré e pós-intervenção com EETNV e após 7 e 14 dias do término das intervenções.

3.6.4 Escala de Nível de Ansiedade e Depressão (HAD)

Para avaliar o nível de ansiedade e depressão foi utilizada a Escala de Nível de Ansiedade e Depressão (Hospital Anxiety and Depression -HAD)(61), que é composta por 14 questões, sendo sete questões destinadas para ansiedade e sete para depressão. A pontuação varia de 0 a 3 para cada pergunta totalizando 31 pontos. Os resultados poderia ser: improvável (0-7 pontos), possível – questionável ou duvidosa (8-11 pontos) e provável (12-21 pontos) (Anexo I).

A escala foi aplicada ao paciente pré e pós término das intervenções com EETNV e após 7 e 14 dias do término das intervenções.

3.6.5 Nível de Memória e Atenção

O nível de memória e atenção foi verificado por meio de um questionário composto por duas perguntas sobre como está a memória e atenção após terem contraído a COVID-19, com sete respostas possíveis: 1) Muito melhor; 2) Melhor; 3) Um pouco melhor; 4) Sem mudança; 5) Um pouco pior; 6) Pior e 7) Muito pior. Trata-se de uma versão adaptada, pelos autores, da Impressão Clínica Global (Clinical Global Impression – CGI)(60).

O questionário foi aplicado após 7, 14 dias da intervenção e mensalmente no período de seis meses do término das intervenções com EETNV, pessoalmente ou por meio de contato telefônico (quando o paciente já se encontrava de alta hospitalar).

3.7 Intervenções

As sessões de estimulação do nervo vago foram realizadas se autorizadas pelo médico (ou equipe médica) responsável no dia e período, a fim de não aumentar riscos de interferência com a conduta vigente no momento. Essa estimulação foi aplicada por um fisioterapeuta formado, com experiência em atendimentos a pacientes e conhecedor da rotina de um hospital.

As intervenções foram realizadas durante a internação dos pacientes. Para tanto, um fisioterapeuta se dirigiu ao leito do paciente e posicionou o equipamento de ETTNV ativa ou estimulação *sham*. As sessões de estimulação tinham duração de 90 minutos e ocorreram em dois períodos diários (manhã e tarde/noite), com intervalo entre 6 e 8 horas entre cada estímulo, durante 7 dias consecutivos, totalizando 14 sessões de estimulação.

A ETTNV foi realizada por um estimulador elétrico neuromuscular transcutâneo multifuncional, modelo Dualpex 071 da Quark Produtos Médicos - Registro ANVISA nº: 80079190022, sobre o tragus esquerdo, local anatômico humano onde existe distribuições

cutâneas do nervo vago aferente (Figura 4) do lado esquerdo, considerado mais seguro (37) e outro sobre a clavícula do lado esquerdo (eletrodo de referência). Com eletrodos flexíveis redondos e adesivos para eletroestimulação, tamanho 15mm, com corrente alternada variando de 25 Hz a 5 kHz, por série de ondas senoidal, com largura de pulso de 1 ms (62) e intensidade ajustada entre 3 mA a 7mA (63) com base na tolerância do paciente e que não provocasse dor e nem contração muscular.

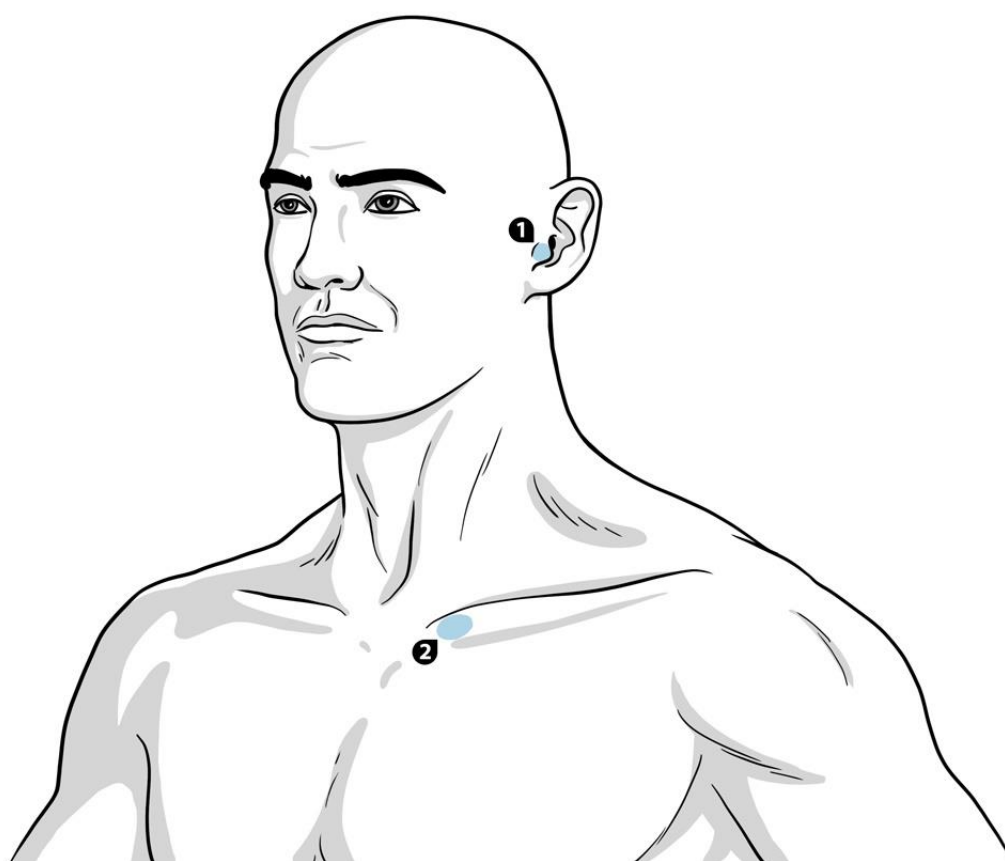


Figura 4: Local de estimulação do nervo vago -1: Área do ramo auricular do nervo vago, 2: Clavícula esquerda. Fonte: reprodução pessoal.

Intervenção Sham

Para a estimulação Sham foi utilizado o mesmo equipamento utilizado para a EETNV e o mesmo protocolo, no entanto, o equipamento permaneceu desligado durante o período do estudo.

4. ANÁLISE DOS DADOS

Os desfechos primários foram alterações nos biomarcadores inflamatórios (PCR, IL-6, IL-10 e cortisol) desde o início até o último dia de estimulação. Os desfechos clínicos (ansiedade, depressão, CGI-memória, CGI-atenção) foram considerados desfechos secundários. As características basais foram relatadas com estatística descritiva para cada grupo. Foram utilizados testes bicaudais em todas as análises. Utilizou-se o nível de significância de 0,05 e a análise por intenção de tratar (ITT). Para o manejo dos dados faltantes, utilizou-se o método da última observação realizada (LOCF). A suposição de normalidade foi testada por meio de histogramas e teste de Shapiro-Wilk.

Primeiramente, foi padronizado as alterações dos marcadores inflamatórios por valores basais usando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ alteração de marcador inflamatório} = \frac{(\text{Pós} - \text{tratamento} - \text{Valor basal})}{\text{Pós tratamento}} \times 100$$

Em seguida, foi implementado modelos lineares generalizados com função de identidade para testar a mudança nos desfechos entre os grupos (pós-tratamento – linha de base). Identificamos fatores desbalanceados no início do estudo (estado vacinal, escore de ansiedade, sexo e índice de massa corporal), portanto, foram incluídas essas variáveis como covariáveis para ajuste. As estimativas de Durbin-Watson e os valores de distância de Cook foram utilizados para a análise de diagnósticos de regressão, como autocorrelação residual e casos influentes. A normalidade dos resíduos foi avaliada por meio de gráficos QQ. Foi verificado visualmente o pressuposto de homocedasticidade plotando os resíduos contra os valores previstos. Nesta análise exploratória, não foi realizado correção para comparações múltiplas para diminuir o risco de erros tipo II, porém foi minimizado o número de comparações múltiplas seguindo uma lista predefinida de desfechos. Todas as análises foram

realizadas using R version 4.2.0. As Equações de Estimação Generalizada analisaram dados de CGI de memória e CGI de atenção. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

5. RESULTADOS

Oitenta e quatro pacientes foram selecionados para o estudo e 9 foram excluídos por terem sido entubados antes da avaliação inicial (n=2) a apresentaram PCR negativo (n=9), restando 75 pacientes que foram randomizados para grupo experimental (ETTNV ativo, n=45) e grupo controle (ETTNV sham, n=30). A análise dos marcadores inflamatórios foi realizada para 52 pacientes que completaram o tratamento, porém o follow-up realizado foi realizado em 20 pacientes no grupo experimental e 20 pacientes no grupo controle.

As características dos pacientes estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Dados demográficos e clínicos

	EETNV ativo	EETNV sham	Total
	(n=26)	(n=26)	(n=52)
Idade [média (DP)]	53,12 (17,24)	57,38 (16,44)	55,25 (16,82)
Masculino (%)	16 (61,5)	10 (38,5)	26 (50,0)
Totalmente vacinados (%)	21 (80,8)	15 (57,7)	36 (69,2)
Peso [média (DP)] (kgs)	83,27 (13,20)	85,69 (17,03)	84,48 (15,13)
Altura [média (DP)] (m)	1,66 (0,08)	1,67 (0,07)	1,66 (0,07)
IMC [média (DP)]	29,79 (4,22)	31,21 (5,79)	30,50 (5,07)
Tempo de acometimento [média (DP)] (dias)	7,62 (2,06)	7,96 (2,71)	7,79 (2,39)
Ansiedade [média (DP)]	8,00 (3,51)	5,54 (3,37)	6,77 (3,63)
Depressão [média (DP)]	4,65 (4,02)	3,15 (3,03)	3,90 (3,60)
FC [média (DP)]	83,04 (13,08)	80,04 (16,11)	81,54 (14,61)
PAS [média (DP)]	124,31 (17,29)	126,65 (28,95)	125,48 (23,64)
PAD [média (DP)]	77,58 (9,60)	75,12 (12,34)	76,35 (11,02)

Legenda: Resultados expressos em média e desvio padrão, variáveis categóricas expressas em porcentagem.(EETNV): Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago; (kgs): quilogramas; (mts): metros; (IMC): índice de massa corpórea; (FC): frequência cardíaca; (PAS): pressão arterial sistólica; (PAD): pressão arterial diastólica.

Na tabela 1 é possível observar que não houve diferença em relação as características da COVID-19 e dados demográficos entre o grupo ativo e sham, além de apresentar no grupo sham indivíduos mais jovens, com menor quantidade de homens.

Os voluntários foram continuamente medicados para reduzir os sintomas de COVID-19 durante esta pesquisa e, portanto, não receberam apenas o tratamento EETNV. Na tabela 2 há informações sobre o tratamento médico em uso durante o estudo para ambos os grupos. Não há diferença significativa entre eles.

Tabela 2. Medicções utilizadas no tratamento de COVID-19.

Medicção	EETNV ativo n(%)	EETNV sham n(%)	Valor de p
Antibióticos	23 (88,5)	20 (76,9)	0,23
Anti-inflamatório não esteroidal	18 (69,2)	12 (46,2)	0,09
Corticosteroides	25 (96,2)	24 (92,3)	0,54
Anticoagulantes	25 (96,2)	21 (80,8)	0,07
Anti-hipertensivos	26 (100,0)	21 (80,8)	0,08
Broncodilatadores	13 (50,0)	8 (30,8)	0,16
Redutor Triglicerídeos	6 (23,1)	3 (11,5)	0,3
Anti-histamínico	8 (30,8)	1 (3,8)	0,06
Anestésico	26 (100,0)	22 (84,6)	0,06
Drogas antitireoidianas	3 (11,5)	1 (3,8)	0,29
Analgésico	17 (65,4)	12 (46,2)	0,16
Drogas hipoglicêmicas	16 (61,5)	10 (38,5)	0,09
Vasopressores	12 (46,2)	6 (23,1)	0,08
Drogas Gastrointestinais *	26 (100,0)	10 (38,5)	0,001
Antipsicóticos	6 (23,1)	4 (15,4)	0,46
Expectorantes	2 (7,7)	0 (0,0)	0,17
Antidepressivos	3 (11,5)	2 (7,7)	0,63
Antifúngicos	5 (19,2)	1 (3,8)	0,09

Antiepiléticos	2 (7,7)	0 (0,0)	0,14
Antissépticos	1 (3,8)	0 (0,0)	0,30

Legenda: dados * laxantes, drogas contra flatulência ou inibidor de bomba de prótons.

EETNV: Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago.

Resultados de marcadores inflamatórios são observados na figura 5.

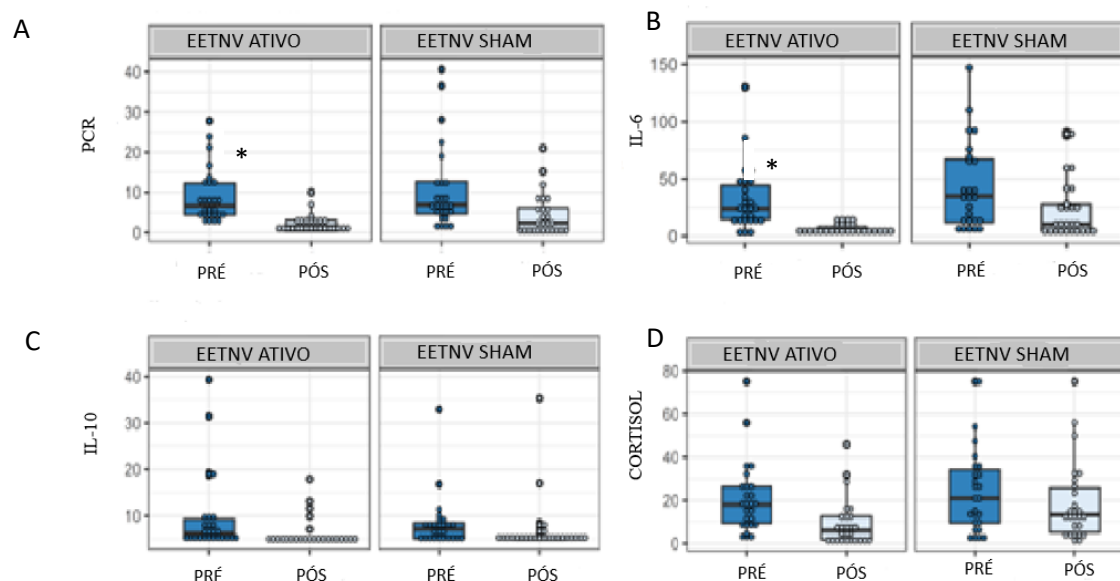


Figura 5. Resultados da Proteína C-reativa (PCR) (A), Interleucina 6 (IL-6) (B), Interleucina 10 (IL-10) (C), Cortisol (D). (EETNV): Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago. Grupos: EETNV ativo (n=26), EETNV sham (n=26). *p<0,05

Na figura 5 é possível observar uma diminuição significativa dos níveis de PCR (diferença entre grupos = -23,88%, IC 95% -46,33768 a -1,434738, p = 0,038) e IL-6 (diferença entre grupos = -37,68%, IC 95% -57,63321 a -17,74353, p<0,001) no grupo ativo em relação ao grupo sham, após o controle por fatores desequilibrados no início do estudo (sexo, IMC, vacinação e ansiedade). Não foram encontradas alterações em relação à IL-10 e cortisol.

Na Figura 6 estão apresentados os resultados da quantidade de participantes que apresentaram sintomas clínicos relacionados a COVID19 dos grupos experimental (N=26)

e controle (N=26), nos momentos pré (basal) e pós intervenção, e no follow-up de 7 e 14 dias após o termino das intervenções.

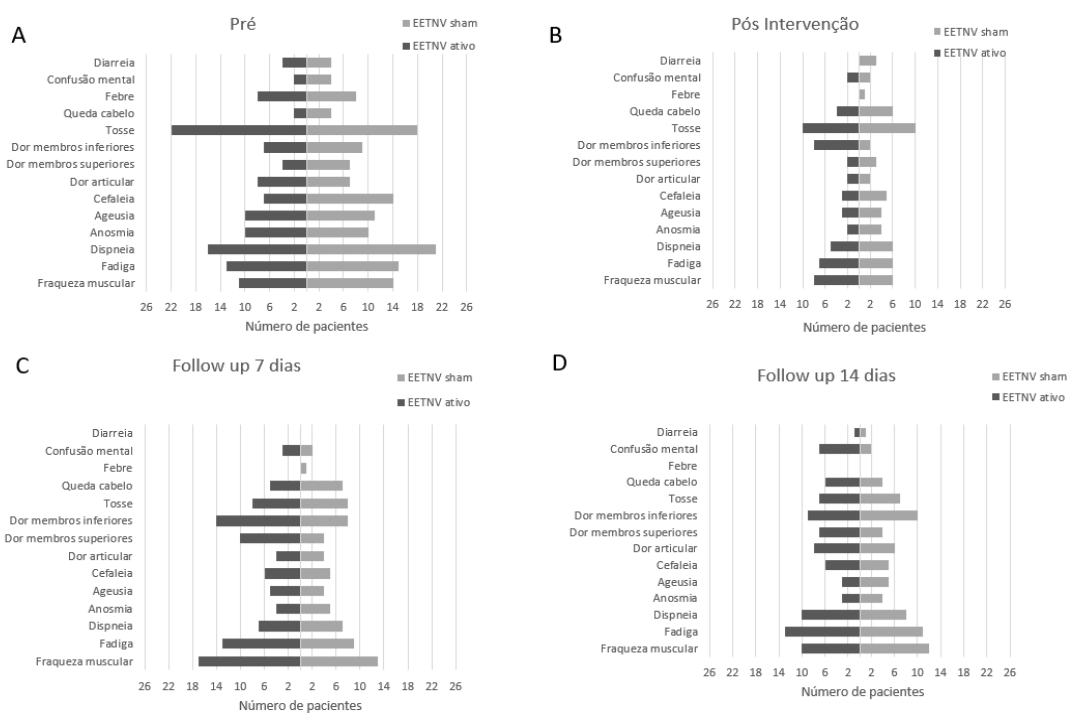


Figura 6. Resultado do quadro clínico do grupo EETNV ativo (n=26) e EETNV sham (n=26) no pré (A), pós-intervenção (B), follow up de 7 dias (C) e follow up de 14 dias (D). EETNV: Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago.

É possível observar na figura 6, que os sintomas clínicos mais frequentes na condição pré-intervenção para grupo controle foram tosse, dispneia, enxaqueca, ageusia, fadiga e fraqueza muscular e para o grupo experimental foram tosse, dispneia, fadiga e fraqueza muscular.

No pós-tratamento houve uma diminuição dos sintomas clínicos em ambos os grupos, mas em comparação ao basal o grupo experimental apresentou mais participantes com sintomas clínicos, sendo eles a tosse, dores nos membros inferiores, fadiga e fraqueza muscular e para o grupo controle apenas a tosse.

No follow-up de 7 dias houve um aumento dos sintomas clínicos em ambos os grupos, sendo os sintomas clínicos mais frequente no grupo experimental os de dores nos membros inferiores e superiores, fadiga e fraqueza muscular e no grupo controle com tosse, dores nos membros inferiores, fadiga e fraqueza muscular. Ambos os grupos não relataram diarreia e no grupo experimental não houve relato de febre.

No follow-up de 14 dias houve uma diminuição dos sintomas clínicos, sendo mais frequente no grupo experimental os de confusão mental e fadiga e no grupo controle dores nos membros inferiores, fadiga e fraqueza muscular. Em ambos os grupos houve um aumento no sintoma de diarreia em comparação ao 7 dia, e não houve relato de febre em ambos os grupos.

O número de participantes que responderam ao questionário no baseline foram 26 para o grupo experimental e 26 para o grupo controle, no entanto, após a intervenção houve uma redução de participantes que puderam responder, 20 por grupo, pois 12 deles evoluíram para quadro de inconsciência devido a intubação. No follow-up de 7 dias, 39 participantes (19 grupo experimental e 20 grupo controle) concluíram a avaliação, 5 pacientes do grupo experimental e 4 do grupo controle encontravam inconscientes e 4 (2 cada grupo) evoluíram para óbito; já no follow-up de 14 dias, 40 participantes (20 cada grupo) concluíram a avaliação de quadro clínico, 4 pacientes do grupo experimental e 2 do grupo controle estavam inconscientes e 6 evoluíram para óbito (2 do grupo experimental e 4 do grupo controle). Os participantes do presente estudo passaram mais de 1 semana internados, no grupo experimental apresentaram de 8 a 83 dias com uma média de 19 dias de internação e no grupo controle apresentaram de 7 a 23 dias com uma média de 13 dias de internação, em ambos os grupos foram relatadas alguma sequela pós COVID-19. Esses resultados foram relatados via contato telefônico, os participantes alegaram um aumento de fadiga com mais facilidade, dores em MMII, memória e atenção prejudicadas, queda de cabelo acentuados, apresentaram problemas renais e articulares (atrofia muscular), alguns pacientes ex-tabagistas apresentam dificuldade para respirar e fizeram uso de oxigênio quando necessário, início de quadro de labirintite acentuada, piora do quadro agudo de catarata, 1 paciente apresentou delírio pós COVID-19.

Em relação ao número de óbitos de cada grupo, observamos uma proporção igual entre os grupos com 5 óbitos no grupo experimental, com média de idade de 64 anos, e 6 óbitos no grupo controle, com média de idade de 69 anos. Todos os participantes que evoluíram para óbito tinham comorbidades e estavam em estado crítico da doença, e

intubados, sendo a causa das mortes relatadas como infecção por COVID-19.

É possível observar o nível de ansiedade e depressão na tabela 3.

Tabela 3. Resultado de ansiedade e depressão nos pacientes com COVID-19.

Variável	EETNV ativa (N=26)				EETNV sham (N=26)				Diferença ajustada entre grupos ##	P
	Pré	Pós	Alterações ajustadas dentro do grupo	Diferença ajustada entre grupos #	Pré	Pós	Alterações brutas dentro do grupo	Alterações ajustadas dentro do grupo #		
Ansiedade	8.00±3.51	5.30±3.76	-2.70±4.34	2.49±4.58	5.54± 3.37	4.70±4.58	-1.00±3.66	-1.21±4.58	-1.27 (-4.09;1.53)	0.363
Depressão	4.65±4.02	4.00±5.03	-0.95±3.79	-1.83±4.22	3.15±3.03	3.05±3.80	0.15±3.56	1.03±4.22	-2.85 (-5.43; -0.27)	0.031*

Legenda: Dados expressos em média e desvio padrão. EETNV: Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago. Comparação dos efeitos brutos e ajustados do tratamento para variáveis desbalanceadas no início do estudo (estado vacinal, escore de ansiedade, sexo e índice de massa corporal) para ansiedade e depressão.

Foram considerados 40 participantes para a análise do nível de atenção e memória em 7 dias, 14 dias, 30 dias, 60 dias, 90 dias, 120 dias, 150 dias e 180 dias pós sessões sendo 20 do grupo ativo e 20 do grupo sham. Foram excluídos cinco participantes por óbito e um participante por falta de contato do grupo experimental e seis participantes por óbito do grupo controle. A tabela 4 mostra os resultados dos níveis de atenção e memória.

Tabela 4. Resultados de memória e atenção dos pacientes com COVID-19.

Memória			
	EETNV ativo	EETNV sham	p
Dias			
7 dias	4.15±0.334	4.05±0.334	0.833
14 dias	3.95±0.034	4.10±0.334	0.751
30 dias	4±0.334	3.5±0.334	0.290
60 dias	3.45±0.334	3.75±0.334	0.526
90 dias	3.1±0.334	3.9±0.334	0.091
120 dias	3.4±0.334	3.85±0.334	0.341
150 dias	4.05±0.334	3.85±0.334	0.672
180 dias	4.15±0.334	3.95±0.334	0.672
Atenção			
Dias			
7 dias	3.9±0.34	3.85±0.34	0.917
14 dias	3.9±0.34	3.7±0.34	0.677
30 dias	3.85±0.34	3.5±0.34	0.466
60 dias	3.55±0.34	3.6±0.34	0.917
90 dias	3.35±0.34	3.75±0.34	0.405
120 dias	3.6±0.34	3.8±0.34	0.677
150 dias	4.25±0.34	3.75±0.34	0.298
180 dias	4.3±0.34	3.65±0.34	0.176

Legenda: Valores expressos em média e desvio padrão. EETNV: Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago.

Foi observado na Tabela 4 que não houve diferença estatisticamente significativas após o tratamento para os grupos ativo e sham em nenhum dia coletado de nível de atenção e memória.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo verificar a atuação da EETNV na inflamação e evolução clínica em pacientes com COVID-19. Foram observadas diminuição significativa de PCR e IL-6, além de diminuição nos níveis de depressão no grupo ativo, sem apresentar efeitos significativos para IL-10, cortisol, evolução da condição clínica e níveis de atenção e memória.

A neuromodulação pode ser uma ferramenta utilizada nos pacientes com COVID-19: na redução de inflamação com a estimulação de áreas de regulação do sistema anti-inflamatório e/ou autonômico, prevenção de neuro inflamação e recuperação do sistema respiratório; melhora do sistema musculoesquelético e fadiga; reabilitação física e cognitiva; tratamento de transtornos psicológicos exacerbados pelo estresse relacionado com a pandemia (20).

Foi hipotetizado por Bonaz, Sinniger e Pellisier (52) que direcionar a via anti-inflamatória colinérgica (VAC) com EETNV pode ser um possível tratamento para pacientes com COVID-19 como efeito anti-inflamatório via eferente do nervo vago com liberação de acetilcolina que atua nos neurônios intrínsecos do sistema nervoso entérico e estimula liberação de citocinas como a IL-1 β , IL6 e TNF, principalmente em pacientes com COVID-19 graves. A diminuição da inflamação exacerbada encontrada nesses pacientes atenuaria a gravidade da doença e a EETNV como terapia complementar pode aliviar disfunção orgânica e melhorar o quadro clínico nessa enfermidade (64).

O vírus SARS-CoV-2 acessa o SNC via nervos periféricos, como os nervos vago e olfatório, acessando os receptores ECA2, liberando citocinas, aumentando a atividade simpática, levando a condição inflamatória. A estimulação do nervo vago na orelha pode neutralizar essa condição. A presença do vírus no tronco cerebral, mesmo sem apresentar infecção pulmonar, induz a uma disfunção neuronal que pode estar associada a um desequilíbrio autonômico induzido pela redução de liberação de acetilcolina e catecolamina na periferia (20). A EETNV é capaz de atuar na lesão pulmonar aguda por meio da regulação do desequilíbrio do sistema nervoso autônomo pela presença de baixa atividade parassimpática e alta atividade simpática e atuando pela VAC, por meio de $\alpha 7$ nAChR para prevenir a lesão pulmonar (52)

O uso de EETNV na inflamação ainda encontra-se em debate, porém há algumas teorias da atuação desta em 3 vias: 1) via hipotalâmica-pituitária-adrenal, ativada pelos

estímulos pró-inflamatórios, liberando glicocorticoides inibindo as citocinas; 2) via colinérgica anti-inflamatória, pela via eferente vagal que libera acetilcolina, suprimindo assim o sistema inflamatório pelos receptores muscarínicos e pelo receptor vagal $\alpha 7$ n-acetilcolina dependente ($\alpha 7$ nAChR), que induz a síntese de citocinas, TNF- α pelo sistema anti-inflamatório colinérgico; 3) via esplênica vagal anti-inflamatória, a qual o nervo vago inibe a produção de TNF- α pelos macrófagos esplênicos, essa via utiliza a norepinefrina que se liga ao receptor $\beta 2$ dos linfócitos T esplênicos, liberando acetilcolina que interage com $\alpha 7$ nAChR dos macrófagos que inibe liberação de TNF- α (65).

Os sintomas clínicos como febre e dispneia apresentaram associação significativa com a severidade da COVID-19, além de altos níveis de proteína C reativa, ao contrário da tosse, náusea, dor de cabeça e garganta, expectoração, diarreia, mialgia e fadiga que não apresentaram associação com a COVID-19 severa (19).

Foi observado por Koopman *et al.* (66) diminuição de TNF e IL-6 em pacientes com artrite reumatoide, os níveis séricos desses elementos inflamatórios diminuíram com a estimulação invasiva do nervo vago. Esses achados são importantes para pacientes com COVID-19, uma vez que os níveis de IL-6 se encontram aumentados.

Em estudo de Staats *et al.* (67) houve relato de dois estudos de caso que houve melhora dos sintomas de COVID-19 com o uso de estimulação transcutânea cervical, mesmo que os pacientes tratados apresentaram comorbidades, ambos não evoluíram para piora da doença. Apresentando, dessa forma, diminuição do uso de medicação hospitalar, porém níveis séricos de marcadores inflamatórios não foram avaliados.

Em nosso estudo houve diminuição de IL-6 e PCR no grupo ativo, estes são considerados biomarcadores válidos para orientar a gravidade e provável progressão da COVID-19. Níveis elevados de PCR (≥ 40 mg/mL) são preditivos de doença grave e mortalidade, enquanto níveis mais baixos estão associados a menor risco de progressão da doença (68,69).

Diminuição dos níveis de IL-6 foram encontrados em estudo de Boezaart e Botha (53) que trataram dois pacientes com COVID-19 em estágio 3, ou seja, apresentaram pneumonia viral, porém um dos pacientes avaliados foi tratado com injeção de esteroides, portanto não é possível afirmar que a diminuição de IL-6 se deu pelo uso de EETNV, em

contrapartida o outro paciente avaliado não teve o mesmo tratamento e apresentou diminuição de IL-6.

Em estudo de Tornero *et al.* (70) que realizou estimulação não invasiva do nervo vago cervical em pacientes com COVID-19 com protocolo de estimulação 3 vezes ao dia por dois minutos (bitateral) utilizando o aparelho Gamma Core Sapphire™, observaram diminuição de níveis de PCR, procaciltonina e Ddímero, este último sem apresentar diminuição significativa, em nosso estudo foi observado diminuição de PCR, porém outras variáveis não foram avaliadas.

Em nosso estudo, não houve alteração dos níveis de IL-10, esse achado é esperado, uma vez que a IL-10 atua nas células imunológicas de monócitos e macrófagos do IL-10R1 e IL-10R2 pelo STAT-3 levando à diminuição de síntese de citocinas como TNF, IL-1 β 1, IL-6, IL-8 e quimiocinas, ou seja, IL-10 tem papel importante de inibir citocinas inflamatórias e liberação e síntese de quimiocinas, mesmo papel esperado pela atuação da EETNV (62). Talvez a EETNV não tenha interação com IL-10, pois a acetilcolina não atua na liberação de IL-10, dessa forma a EETNV não altera IL-10, portanto a diminuição de TNF não está associada a esse mediador inflamatório (71). Os mesmos achados foram encontrados em estudo de Lerman *et al.* (62) que verificaram os efeitos da EETNV em grupo ativo e sham nos níveis inflamatórios em pessoas saudáveis.

A COVID-19 promove uma disfunção cognitiva, promovendo uma “névoa mental” ou *brain fog* que leva à perda de memória, falta de atenção e concentração pobre ou desorientação, que segundo Hassani *et al.* (72) pode ser causada por toxemia, desordens metabólicas e hipóxia durante a infecção que leva à infecção tóxica encefalopática. Dessa forma, hipotetizamos que a EETNV melhoraria a atenção e memória dos pacientes com COVID-19, pois em estudo de Sun *et al.* (73), a estimulação do nervo vago foi capaz de melhorar o mecanismo de atenção e memória em pacientes com epilepsia, provavelmente relacionado com a liberação de norepinefrina, a qual a estimulação ativa os neurônios de *locus coeruleus*. Além de ter sido relatado por Rosso *et al.* (65) que apresentaram melhora no nível de memória e atenção, com modelo proposto de interação entre o nervo vago-neurotrofina no cérebro moduladas pelas EETNV estimulando o fator de crescimento do nervo e do fator neurotrófico derivado do cérebro (52).

Foi observado em estudo de McIntire *et al.* (74) que avaliaram a atenção e fadiga em indivíduos com privação de sono de 24 horas, utilizando estimulação do nervo vago cervical, observaram que houve menor diminuição da atenção no grupo ativo em comparação ao grupo sham, porém não encontramos alteração de memória e atenção em nos indivíduos do presente estudo.

Em relação aos níveis de depressão e ansiedade, houve uma diminuição após a EETNV para ambos os desfechos, porém de forma significativa apenas para a depressão no grupo experimental. Johnson and Wilson(75) relatam em uma revisão sistemática que a EETNV é capaz de diminuir os sintomas de ansiedade e depressão.

Do que se trata a depressão, existe uma relação entre esta e a inflamação, tornando-se um ciclo vicioso, uma vez que a depressão promove a inflamação e vice-versa (76). Foi observado que o estresse e depressão apresentam respostas exacerbadas de inflamação e desregulação imunológica (62), com aumento de níveis séricos de IL-6 e IFN γ (77).

A estimulação do nervo vago tem sido utilizada para pacientes depressivos, substituindo ou integrando o uso de medicações (65) aprimorando a cognição (77).

Rosso *et al.* (65) em revisão relatam que há uma desativação significativa medial pré-frontal/límbica seguida de terapia de estimulação do nervo vago ou uso de antidepressivo.

O uso de estimulação não invasiva do nervo vago cervical bloqueou respostas inflamatórias e a raiva subjetiva em pacientes com indivíduos com estresse pós traumático, isso se dá pela estimulação do NTS que se estende ao *locus coeruleus* e ao hipotálamo, áreas importantes na hiperexcitação simpática, além de áreas como a amígdala que está associada ao medo e além disso ao córtex pré-frontal medial cingulado anterior, que está envolvido à extinção do medo e na resposta neuro-humorais periféricas ao estresse, dessa forma a diminuição de picos de IL-6 e IFN γ beneficiaria sintomas da inflamação bem como melhorariam a saúde mental. O aumento de IL-6 e IFN γ estão relacionados com diminuição de triptofano, precursor da serotonina, importante neurotransmissor associada à depressão (77). Dessa forma, diante destes resultados, é possível inferir que a EETNV também pode utilizada no processo depressivo de pacientes hospitalizados com COVID-19, uma vez que essa terapia foi aprovada em 2005 para o tratamento de depressão(36).

As condições de saúde foram avaliadas em forma de questionários e escala as quais continham perguntas relacionadas aos sintomas da COVID-19, como descritos previamente por BONAZ et al. (52).

Não encontramos diferença entre os grupos com relação a melhora dos sintomas após a EETNV, no entanto, estudo de STAATS *et al.*(67) relataram 2 casos de pacientes com COVID-19 que receberam estimulação do nervo vago e que relataram diminuição dos sintomas de tosse, dor no peito, dispneia e uma boa capacidade de limpar os pulmões após a estimulação; TARN *et al.*(78) avaliaram os efeitos da ENV na fadiga e respostas imunes em pacientes com síndrome de Sjögren primária, quinze mulheres participaram do estudo, no qual doze participantes tiveram uma melhora em seu nível de fadiga e LAI et al. (79) relataram numa revisão que a nVNS cervical é eficaz no alívio da dor aguda para enxaqueca e cefaleia.

No estudo de STRAUBE et al.(80) apresentaram 40 pessoas com enxaqueca crônica, seguido por um período de tratamento de 12 semanas de grupos paralelos com 1 Hz ou 25 Hz, utilizando EETNV com o dispositivo NEMOS, a estimulação ocorreu na concha da orelha externa, onde forneceram evidências de que o tratamento diário com EETNV auricular é eficaz para pessoas com enxaqueca crônica.

Um fator importante a ser mencionado é que os participantes ficaram mais de 1 semana hospitalizados, sempre acamados e com redução de movimentos, dessa forma este pode ser um motivo de queixa ou de acentuação dos sintomas de dores nos MMSS, dores nos MMII, dores nas articulações, fadiga e fraqueza muscular.

Sobre a evolução clínica, observamos que todos os participantes desde o início utilizaram suporte ventilatório tais como cateter nasal, máscara não reinalante e helmet; 16 pessoas (7 do grupo experimental e 9 no grupo controle) evoluíram para intubação orotraquial (IOT). Esse quadro da COVID-19 foi relatado previamente, quando comparada com a infecção por Influenza, mostrando que a COVID-19 apresenta sintomas clínicos semelhantes, mas com maior proporção de evoluções para infecções graves e críticas, exigindo oxigenoterapia e suporte ventilatório (8).

Fatores limitantes

Esse estudo ocorreu em ambiente hospitalar, uma vez que os pacientes foram tratados com tratamentos diversos como medicação, suplemento de oxigênio, dentre outros, dessa forma alguns resultados podem estar associados ao tratamento hospitalar e não somente à EETNV.

7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados desse estudo, a EETNV pode reduzir níveis inflamatórios e a depressão em pacientes hospitalizados acometidos com COVID-19, o que é desejável pois na maioria dos casos uma inflamação pela infecção causa o óbito desses pacientes. Dessa forma verificar se a modulação de marcadores inflamatórios nos pacientes de COVID-19 com EETNV necessitam de mais estudos.

8. REFERÊNCIAS

1. Lu H, Stratton CW, Tang YW. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. Vol. 92, *Journal of Medical Virology*. John Wiley and Sons Inc.; 2020. p. 401–2.
2. Lake MA. What we know so far: COVID-19 current clinical knowledge and research. Vol. 20, *Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London*. Royal College of Physicians; 2020. p. 124–7.
3. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. Vol. 324, *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association; 2020. p. 782–93.
4. Umakanthan S, Sahu P, Ranade A V., Bukelo MM, Rao JS, Abrahao-Machado LF, et al. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). Vol. 96, *Postgraduate Medical Journal*. BMJ Publishing Group; 2020. p. 753–8.
5. Hui DS, I Azhar E, Madani TA, Ntoumi F, Kock R, Dar O, et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health — The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. Vol. 91, *International Journal of Infectious Diseases*. Elsevier B.V.; 2020. p. 264–6.
6. Tascioglu D, Akkaya E, Genc S. The understanding of the immunopathology in COVID-19 infection. Vol. 81, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. Taylor and Francis Ltd.; 2021. p. 255–63.
7. Grygiel-Górniak B, Oduah MT. Covid-19: What should the general practitioner know? Vol. 16, *Clinical Interventions in Aging*. Dove Medical Press Ltd; 2021. p. 43–56.
8. WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>. 2020;
9. Amiri-Dashatan N, Koushki M, Parsamanesh N, Chiti H. Serum cortisol concentration and COVID-19 severity: a systematic review and meta-analysis. Vol. 70, *Journal of Investigative Medicine*. BMJ Publishing Group; 2022. p. 766–72.
10. Fudim M, Qadri YJ, Ghadimi K, MacLeod DB, Molinger J, Piccini JP, et al. Implications for Neuromodulation Therapy to Control Inflammation and Related

Organ Dysfunction in COVID-19. Vol. 13, Journal of Cardiovascular Translational Research. Springer; 2020. p. 894–9.

11. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*. 15 de fevereiro de 2020;395(10223):507–13.
12. Macedo DB, Tim CR, Kido HW, Macedo JB, Martignago CCS, Renno ACM, et al. Influence of photobiomodulation therapy on the treatment of pulmonary inflammatory conditions and its impact on Covid-19. *Lasers Med Sci*. 25 de outubro de 2022;37:1971–1929.
13. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). Vol. 87, *Indian Journal of Pediatrics*. Springer; 2020. p. 281–6.
14. Mastitskaya S, Thompson N, Holder D. Selective Vagus Nerve Stimulation as a Therapeutic Approach for the Treatment of ARDS: A Rationale for Neuro-Immunomodulation in COVID-19 Disease. Vol. 15, *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2021.
15. Darif D, Hammi I, Kihel A, El Idrissi Saik I, Guessous F, Akarid K. The pro-inflammatory cytokines in COVID-19 pathogenesis: What goes wrong? Vol. 153, *Microbial Pathogenesis*. Academic Press; 2021.
16. Tsai SC, Lu CC, Bau DT, Chiu YJ, Yen YT, Hsu YM, et al. Approaches towards fighting the COVID-19 pandemic (Review). Vol. 47, *International Journal of Molecular Medicine*. Spandidos Publications; 2021. p. 3–22.
17. Do Nascimento IJB, Cacic N, Abdulazeem HM, von Groote TC, Jayarajah U, Weerasekara I, et al. Novel coronavirus infection (Covid-19) in humans: A scoping review and meta-analysis. *J Clin Med*. 1º de abril de 2020;9(4).
18. Guo ZP, Sörös P, Zhang ZQ, Yang MH, Liao D, Liu CH. Use of Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation as an Adjuvant Therapy for the Depressive Symptoms of COVID-19: A Literature Review. Vol. 12, *Frontiers in Psychiatry*. Frontiers Media S.A.; 2021.
19. Li J, He X, Yuan Yuan, Zhang W, Li X, Zhang Y, et al. Meta-analysis investigating the relationship between clinical features, outcomes, and severity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pneumonia. Vol. 49, *American Journal of Infection Control*. Elsevier Inc.; 2021. p. 82–9.

20. Baptista AF, Baltar A, Okano AH, Moreira A, Campos ACP, Fernandes AM, et al. Applications of Non-invasive Neuromodulation for the Management of Disorders Related to COVID-19. Vol. 11, *Frontiers in Neurology*. Frontiers Media S.A.; 2020.
21. Ramezani M, Simani L, Karimialavijeh E, Rezaei O, Hajiesmaeili M, Pakdaman H. The role of anxiety and cortisol in outcomes of patients with Covid-19. *Basic Clin Neurosci*. 1º de abril de 2020;11(2):179–83.
22. Huang C, Soleimani J, Herasevich S, Pinevich Y, Pennington KM, Dong Y, et al. Clinical Characteristics, Treatment, and Outcomes of Critically Ill Patients With COVID-19: A Scoping Review. Vol. 96, *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier Ltd; 2021. p. 183–202.
23. Maiese A, Manetti AC, Bosetti C, Del Duca F, La Russa R, Frati P, et al. SARS-CoV-2 and the brain: A review of the current knowledge on neuropathology in COVID-19. Vol. 31, *Brain Pathology*. John Wiley and Sons Inc; 2021.
24. Doyle MF. Central nervous system outcomes of COVID-19. Vol. 241, *Translational Research*. Elsevier Inc.; 2022. p. 41–51.
25. Hosseini N, Nadjafi S, Ashtary B. Overview of covid-19 and neurological complications. Vol. 32, *Reviews in the Neurosciences*. De Gruyter Open Ltd; 2021. p. 671–91.
26. Xu Y, Zhuang Y, Kang L. A Review of Neurological Involvement in Patients with SARS-CoV-2 Infection. Vol. 27, *Medical Science Monitor*. International Scientific Information, Inc.; 2021.
27. Clancy JA, Deuchars SA, Deuchars J. Experimental Physiology The wonders of the Wanderer. *Exp Physiol* [Internet]. 2013;98:38–45. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1113/expphysiol>.
28. Bonaz B, Sinniger V, Pellissier S. Anti-inflammatory properties of the vagus nerve: potential therapeutic implications of vagus nerve stimulation. Vol. 594, *Journal of Physiology*. Blackwell Publishing Ltd; 2016. p. 5781–90.
29. Howland RH. Vagus Nerve Stimulation. *Curr Behav Neurosci Rep*. 1º de junho de 2014;1(2):64–73.
30. Buschman HP, Storm CJ, Duncker DJ, Verdouw PD, Van Der Aa HE, Van Der Kemp P. Heart Rate Control Via Vagus Nerve Stimulation. Vol. 9, *Neuromodulation*. 2006.

31. Olshansky B, Sabbah HN, Hauptman PJ, Colucci WS. Parasympathetic nervous system and heart failure pathophysiology and potential implications for therapy. Vol. 118, *Circulation*. 2008. p. 863–71.
32. Bonaz B, Sinniger V, Pellissier S. Vagal tone: Effects on sensitivity, motility, and inflammation. *Neurogastroenterology and Motility*. 1º de abril de 2016;28(4):455–62.
33. Bara GA, de Ridder D, Maciaczyk J. Can neuromodulation support the fight against the COVID19 pandemic? Transcutaneous non-invasive vagal nerve stimulation as a potential targeted treatment of fulminant acute respiratory distress syndrome. Vol. 143, *Medical Hypotheses*. Churchill Livingstone; 2020.
34. Kaniusas E, Szeles JC, Kampusch S, Alfageme-Lopez N, Yucuma-Conde D, Li X, et al. Non-invasive Auricular Vagus Nerve Stimulation as a Potential Treatment for Covid19-Originated Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front Physiol*. 28 de julho de 2020;11.
35. Rangon CM, Barruet R, Mazouni A, Le Cossec C, Thevenin S, Guillaume J, et al. Auricular Neuromodulation for Mass Vagus Nerve Stimulation: Insights From SOS COVID-19 a Multicentric, Randomized, Controlled, Double-Blind French Pilot Study. *Front Physiol*. 2 de agosto de 2021;12.
36. Farmer AD, Strzelczyk A, Finisguerra A, Gourine A V., Gharabaghi A, Hasan A, et al. International Consensus Based Review and Recommendations for Minimum Reporting Standards in Research on Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation (Version 2020). *Front Hum Neurosci*. 23 de março de 2021;14.
37. Yuan H, Silberstein SD. Vagus Nerve and Vagus Nerve Stimulation, a Comprehensive Review: Part II. Vol. 56, *Headache*. Blackwell Publishing Inc.; 2016. p. 259–66.
38. Austelle CW, O’Leary GH, Thompson S, Gruber E, Kahn A, Manett AJ, et al. A Comprehensive Review of Vagus Nerve Stimulation for Depression. Vol. 25, *Neuromodulation*. International Neuromodulation Society; 2022. p. 309–15.
39. Huston JM, Ochani M, Rosas-Ballina M, Liao H, Ochani K, Pavlov VA, et al. Splenectomy inactivates the cholinergic antiinflammatory pathway during lethal endotoxemia and polymicrobial sepsis. *Journal of Experimental Medicine*. 10 de julho de 2006;203(7):1623–9.
40. Peña G, Cai B, Ramos L, Vida G, Deitch EA, Ulloa L. Cholinergic Regulatory Lymphocytes Re-Establish Neuromodulation of Innate Immune Responses in Sepsis. *The Journal of Immunology*. 15 de julho de 2011;187(2):718–25.

41. Johnson RL, Wilson CG. A review of vagus nerve stimulation as a therapeutic intervention. Vol. 11, *Journal of Inflammation Research*. Dove Medical Press Ltd; 2018. p. 203–13.
42. Johnston GR, Webster NR. Cytokines and the immunomodulatory function of the vagus nerve. Vol. 102, *British Journal of Anaesthesia*. Oxford University Press; 2009. p. 453–62.
43. Zhang Y, Popović ZB, Bibevski S, Fakhry I, Sica DA, Van Wagoner DR, et al. Chronic vagus nerve stimulation improves autonomic control and attenuates systemic inflammation and heart failure progression in a canine high-rate pacing model. *Circ Heart Fail*. novembro de 2009;2(6):692–9.
44. Li S, Qi D, Li J ni, Deng X yu, Wang D xin. Vagus nerve stimulation enhances the cholinergic anti-inflammatory pathway to reduce lung injury in acute respiratory distress syndrome via STAT3. *Cell Death Discov*. 1º de junho de 2021;7(1).
45. Dietrich S, Smith J, Scherzinger C, Hofmann-Preiß K, Freitag T, Eisenkolb A, et al. A novel transcutaneous vagus nerve stimulation leads to brainstem and cerebral activations measured by functional MRI. *Biomedizinische Technik*. 1º de junho de 2008;53(3):104–11.
46. Capone F, Motolese F, Di Zazzo A, Antonini M, Magliozzi A, Rossi M, et al. The effects of transcutaneous auricular vagal nerve stimulation on pupil size. *Clinical Neurophysiology*. 1º de agosto de 2021;132(8):1859–65.
47. Van Leusden JWR, Sellaro R, Colzato LS. Transcutaneous Vagal Nerve Stimulation (tVNS): A new neuromodulation tool in healthy humans? Vol. 6, *Frontiers in Psychology*. Frontiers Research Foundation; 2015.
48. Redgrave J, Day D, Leung H, Laud PJ, Ali A, Lindert R, et al. Safety and tolerability of Transcutaneous Vagus Nerve stimulation in humans; a systematic review. *Brain Stimul*. 1º de novembro de 2018;11(6):1225–38.
49. Yap JYY, Keatch C, Lambert E, Woods W, Stoddart PR, Kameneva T. Critical Review of Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation: Challenges for Translation to Clinical Practice. Vol. 14, *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2020.
50. Clancy JA, Mary DA, Witte KK, Greenwood JP, Deuchars SA, Deuchars J. Non-invasive Vagus nerve stimulation in healthy humans reduces sympathetic nerve activity. *Brain Stimul*. 1º de novembro de 2014;7(6):871–7.
51. Badran BW, Dowdle LT, Mithoefer OJ, LaBate NT, Coatsworth J, Brown JC, et al. Neurophysiologic effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation

(taVNS) via electrical stimulation of the tragus: A concurrent taVNS/fMRI study and review. *Brain Stimul.* 1º de maio de 2018;11(3):492–500.

52. Bonaz B, Sinniger V, Pellissier S. Targeting the cholinergic anti-inflammatory pathway with vagus nerve stimulation in patients with Covid-19? *Bioelectron Med.* dezembro de 2020;6(1).
53. Boezaart AP, Botha DA. Treatment of Stage 3 COVID-19 With Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation Drastically Reduces Interleukin-6 Blood Levels: A Report on Two Cases. Vol. 24, *Neuromodulation*. Blackwell Publishing Inc.; 2021. p. 166–7.
54. Torres-Rosas R, Yehia G, Peña G, Mishra P, Del Rocio Thompson-Bonilla M, Moreno-Eutimio MA, et al. Dopamine mediates vagal modulation of the immune system by electroacupuncture. *Nat Med.* 2014;20(3):291–5.
55. Rosas-Ballina M, Olofsson PS, Ochani M, Valdés-Ferrer SI, Levine YA, Reardon C, et al. Acetylcholine-synthesizing T cells relay neural signals in a vagus nerve circuit. *Science* (1979). 7 de outubro de 2011;334(6052):98–101.
56. Serhan CN, de la Rosa X, Jouvene C. Novel mediators and mechanisms in the resolution of infectious inflammation: evidence for vagus regulation. Vol. 286, *Journal of Internal Medicine*. Blackwell Publishing Ltd; 2019. p. 240–58.
57. Carreno FR, Frazer A. Vagal Nerve Stimulation for Treatment-Resistant Depression. Vol. 14, *Neurotherapeutics*. Springer New York LLC; 2017. p. 716–27.
58. Guo ZP, Sörös P, Zhang ZQ, Yang MH, Liao D, Liu CH. Use of Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation as an Adjuvant Therapy for the Depressive Symptoms of COVID-19: A Literature Review. Vol. 12, *Frontiers in Psychiatry*. Frontiers Media S.A.; 2021.
59. Botega NJ, Bio MR, Zomignani MA, Garcia C, Pereira WAB. Transtornos do humor em enfermagem de clínica médica e validação de escala de medida (HAD) de ansiedade e depressão. 1995.
60. Guy W. *Clinical Global Impression (CGI)*. Rockville; 1976.
61. Botega NJ, Bio MR, Zomignani MA, Garcia C, Pereira WAB. Transtornos do humor em enfermagem de clínica médica e validação de escala de medida (HAD) de ansiedade e depressão. *Rev Saúde Pública.* 1995;29(5):355–63.
62. Lerman I, Hauger R, Sorkin L, Proudfoot J, Davis B, Huang A, et al. Noninvasive Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation Decreases Whole Blood Culture-Derived

- Cytokines and Chemokines: A Randomized, Blinded, Healthy Control Pilot Trial. *Neuromodulation*. 1º de abril de 2016;19(3):283–91.
63. Trevizol AP, Shiozawa P, Taiar I, Soares A, Gomes JS, Barros MD, et al. Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation (taVNS) for Major Depressive Disorder: An Open Label Proof-of-Concept Trial. Vol. 9, *Brain Stimulation*. Elsevier Inc.; 2016. p. 453–4.
 64. Azabou E, Bao G, Bounab R, Heming N, Annane D. Vagus Nerve Stimulation: A Potential Adjunct Therapy for COVID-19. *Front Med (Lausanne)*. 7 de maio de 2021;8.
 65. Rosso P, Iannitelli A, Pacitti F, Quartini A, Fico E, Fiore M, et al. Vagus nerve stimulation and Neurotrophins: a biological psychiatric perspective. Vol. 113, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Elsevier Ltd; 2020. p. 338–53.
 66. Koopman FA, Chavan SS, Miljko S, Grazio S, Sokolovic S, Schuurman PR, et al. Vagus nerve stimulation inhibits cytokine production and attenuates disease severity in Rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 19 de julho de 2016;113(29):8284–9.
 67. Staats P, Giannakopoulos G, Blake J, Liebler E, Levy RM. The Use of Non-invasive Vagus Nerve Stimulation to Treat Respiratory Symptoms Associated With COVID-19: A Theoretical Hypothesis and Early Clinical Experience. *Neuromodulation*. 1º de agosto de 2020;23(6):784–8.
 68. Mueller AA, Tamura T, Crowley CP, DeGrado JR, Haider H, Jezmir JL, et al. Inflammatory Biomarker Trends Predict Respiratory Decline in COVID-19 Patients. *Cell Rep Med*. 17 de novembro de 2020;1(8).
 69. Stringer D, Braude P, Myint PK, Evans L, Collins JT, Verduri A, et al. The role of C-reactive protein as a prognostic marker in COVID-19. *Int J Epidemiol*. 17 de maio de 2021;50(2):420–9.
 70. Tornero C, Pastor E, Garzando M del M, Orduña J, Forner MJ, Bocigas I, et al. Non-invasive Vagus Nerve Stimulation for COVID-19: Results From a Randomized Controlled Trial (SAVIOR I). *Front Neurol [Internet]*. 8 de abril de 2022;13. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2022.820864/full>
 71. Borovikova L V, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin [Internet]. 2000. Disponível em: www.nature.com

72. Hassani M, Fathi Jouzdani A, Motarjem S, Ranjbar A, Khansari N. How COVID-19 can cause autonomic dysfunctions and postural orthostatic syndrome? A Review of mechanisms and evidence. *Neurol Clin Neurosci.* novembro de 2021;9(6):434–42.
73. Sun L, Peräkylä J, Holm K, Haapasalo J, Lehtimäki K, Ogawa KH, et al. Vagus nerve stimulation improves working memory performance. *J Clin Exp Neuropsychol.* 26 de novembro de 2017;39(10):954–64.
74. McIntire LK, McKinley RA, Goodyear C, McIntire JP, Brown RD. Cervical transcutaneous vagal nerve stimulation (ctVNS) improves human cognitive performance under sleep deprivation stress. *Commun Biol.* 1º de dezembro de 2021;4(1).
75. Johnson RL, Wilson CG. A review of vagus nerve stimulation as a therapeutic intervention. Vol. 11, *Journal of Inflammation Research.* Dove Medical Press Ltd; 2018. p. 203–13.
76. Bonaz B, Sinniger V, Pellissier S. Therapeutic Potential of Vagus Nerve Stimulation for Inflammatory Bowel Diseases. Vol. 15, *Frontiers in Neuroscience.* Frontiers Media S.A.; 2021.
77. Bremner JD, Gurel NZ, Jiao Y, Wittbrodt MT, Levantsevych OM, Huang M, et al. Transcutaneous vagal nerve stimulation blocks stress-induced activation of Interleukin-6 and interferon- γ in posttraumatic stress disorder: A double-blind, randomized, sham-controlled trial. *Brain Behav Immun Health.* dezembro de 2020;9:100138.
78. Tarn J, Evans E, Traianos E, Collins A, Stylianou M, Parikh J, et al. The Effects of Noninvasive Vagus Nerve Stimulation on Fatigue in Participants With Primary Sjögren’s Syndrome. *Neuromodulation.* 1º de abril de 2023;26(3):681–9.
79. Lai YH, Huang YC, Huang LT, Chen RM, Chen C. Cervical Noninvasive Vagus Nerve Stimulation for Migraine and Cluster Headache: A Systematic Review and Meta-Analysis. Vol. 23, *Neuromodulation.* Blackwell Publishing Inc.; 2020. p. 721–31.
80. Straube A, Eren O. tVNS in the management of headache and pain. *Auton Neurosci.* 1º de dezembro de 2021;236.

9. APÊNDICE

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

TCLE - Termo de Consentimento livre e esclarecido para Participação em Pesquisa

Nome do participante: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ CEP: _____

Telefone(s) para contato: _____

E-mail: _____

1.Título do Trabalho Experimental: Efeito da estimulação do nervo vago na inflamação, modulação autonômica cardíaca e evolução clínica dos pacientes com COVID-19: estudo piloto

2.Objetivo: Avaliar o efeito da estimulação do nervo vago (estímulo elétrico do nervo localizado próximo ao ouvido externo) na inflamação, modulação autonômica cardíaca (sistema do nosso corpo responsável pelo controle do coração) e evolução clínica dos pacientes com COVID-19.

3.Justificativa: A pandemia de COVID-19 afetou o mundo rapidamente infectando muitas pessoas resultando em uma alta mortalidade. Por conta disso, especialmente no Brasil, houve um impacto econômico e na saúde pública de grande proporção. Desde então, cientistas e profissionais da saúde estão procurando alternativas para reduzir esse impacto por meio de técnicas e recursos já conhecidos e pela busca de novos métodos de tratamento. Embora a vacina já seja uma realidade, ainda se faz necessário o aprimoramento de tratamentos que visem redução de mortalidade e de sequelas dos pacientes infectados pela COVID-19, garantindo melhor qualidade de vida aos contaminados. A técnica de estimulação não invasiva (sem agulhas, sem cirurgias e sem medicamentos orais) do nervo vago (estímulo elétrico do nervo localizado próximo ao ouvido externo) para pessoas diagnosticadas com COVID-19 pode ser um tratamento promissor. O nervo vago percorre

do cérebro até o abdômen, podendo ser estimulado próximo a orelha onde ele tem muitas ramificações. Tem várias funções no nosso corpo, como regulação dos batimentos do coração e da pressão do sangue que circula no nosso corpo. O nervo vago também pode interferir no sistema de defesa do nosso organismo, podendo auxiliar no processo de inflamação. Portanto, o benefício desta estimulação é que além de ter baixo custo, tem mostrado eficácia na diminuição de processos inflamatórios, característica principal da doença causada pela COVID-19

4. Procedimentos da Fase Experimental:

Você está sendo convidado a participar de um estudo que tentará diminuir a inflamação que a COVID-19 pode trazer durante seu internamento no hospital. Ao aceitar participar do estudo você não fará nada a menos do que seria seu tratamento padrão. Para responder os objetivos do estudo você poderá ser sorteado para dois grupos: o grupo tratamento tradicional e o grupo tratamento tradicional + estimulação do nervo vago (estímulo elétrico do nervo localizado próximo ao ouvido externo).

Caso você seja sorteado para o grupo tratamento tradicional + estimulação do nervo vago nós iremos nos encontrar 14 vezes. Os encontros acontecerão **pelo período de 90 minutos pela manhã e 90 minutos a tarde/noite. Serão 7 encontros consecutivos (2 pela manhã e 2 pela tarde/noite). Nossos encontros acontecerão no seu próprio leito e você receberá uma estimulação não invasiva (sem agulhas, sem cirurgias e sem medicamentos orais) do nervo vago (nervo localizado próximo ao ouvido externo), onde será posto um adesivo (o eletrodo) e o equipamento de estimulação. A intensidade da estimulação será de acordo com a sua tolerância (0,5 a 12 mA). Se você for sorteado para o tratamento tradicional+ estimulação sham, você não terá prejuízo em seu tratamento, pois todas as medidas médicas já conhecidas serão tomadas para que você tenha a melhora do seu quadro. A estimulação é apenas um acréscimo do seu tratamento e buscamos observar se ela irá potencializar um tratamento já conhecido, que é o tratamento médico tradicional. As sessões de estimulação do nervo vago serão realizadas se autorizados pelo médico (ou equipe médica) responsável no dia e período, a fim de não aumentar riscos de interferência com a conduta vigente no momento. Essa estimulação será aplicada por um**

fisioterapeuta formado, com experiência em atendimentos a pacientes e conhecedor da rotina de um hospital.

Em nosso primeiro e após o último encontro nós vamos avaliar, enquanto você está em repouso, os dados dos batimentos do seu coração por um período de 20 minutos, medidas da pressão arterial sanguínea, por 10 minutos. Nós também vamos obter uma amostra de sangue para verificar substâncias que indicam a inflamação. Não será necessário que você faça exames de sangue extras. As informações sanguíneas serão obtidas a partir dos exames que você já irá fazer em sua rotina hospitalar. Será solicitado que você responda no primeiro, oitavo e décimo quarto dia um questionário para avaliar nível de depressão e ansiedade, que deve demorar aproximadamente 5 a 10 minutos para respondê-lo.

Após 7 e 14 dias do término das 7 sessões será avaliada a sua evolução clínica (os dias de internação, evolução dos parâmetros clínicos e ocorrência de desfechos), por meio dos seus dados de prontuário e por meio de um questionário a ser aplicado pessoalmente se ainda estiver internado ou por contato telefônico se tiver recebido alta hospitalar (duração aproximada de 10 minutos).

As amostras de sangue serão obtidas apenas para as análises de substâncias inflamatórias deste projeto e não serão armazenadas para estudos futuros.

5.Desconforto ou Riscos Esperados: Os riscos apresentados por esse estudo são baixos. Todos os testes e procedimentos são usados em vários estudos e bem tolerados. A estimulação elétrica pode apresentar pequenos efeitos colaterais mínimos como vermelhidão no local da estimulação, você sentirá apenas um formigamento leve quando o equipamento for ligado, significa que está passando corrente, e a intensidade da corrente será aplicada de acordo com a sua tolerância. Esse formigamento pode ir diminuindo ao longo da estimulação tornando-se até mesmo imperceptível. Você receberá estimulação no próprio leito. Durante a medida dos batimentos cardíacos do seu coração você poderá sentir um desconforto, pois pediremos que você fique em repouso, sem conversar e sem se mexer bruscamente por 20 minutos, o que poderá trazer uma sensação de aflição. Na medida da pressão arterial, a braçadeira quando inflada pode apertar e trazer desconforto, mas a medida é breve e o aperto

tolerável para a maioria das pessoas. As coletas de sangue para análise de alguns marcadores da inflamação (substâncias que dizem se há presença de inflamação) já serão parte de sua rotina hospitalar, os cuidados serão aqueles rotineiros do hospital, com pessoas da área da saúde treinadas para as coletas. O questionário será aplicado enquanto estiverem presentes no local apenas o pesquisador e você, de forma que evite que você fique constrangido em responder a alguma pergunta diante de outros profissionais/pessoas não envolvidas nesta pesquisa. O seu nome e dados que possam te identificar serão mantidos em sigilo.

6. Medidas protetivas aos riscos: Qualquer procedimento do estudo poderá ser interrompido caso você se sinta desconfortável e, em qualquer momento, queira parar. Para o momento da estimulação não gerar desconforto, a intensidade da corrente será aplicada de acordo com a sua tolerância.

7. Benefícios da Pesquisa: Apesar de haver evidências que a estimulação do nervo vago reduz o processo inflamatório em outras doenças, até o presente momento não há evidências que provem o benefício da estimulação do nervo vago em pacientes com COVID-19. Sendo assim, essa pesquisa não traz benefícios diretos para você.

8. Métodos Alternativos Existentes: O controle da inflamação e variáveis cardíacas para pacientes com COVID-19 são realizados por meio de medicamentos. Esses métodos não serão ignorados. O presente estudo propõe adição de um método e não substituição.

9. Retirada do Consentimento: Em qualquer momento do estudo você poderá suspender as atividades sob quaisquer motivos, não sendo penalizado por isso.

10. Garantia do Sigilo: Todos os dados obtidos não farão menção ao seu nome, garantindo total sigilo e anonimato. Os dados serão armazenados em um banco de dados no qual somente o pesquisador responsável terá acesso. A divulgação dos resultados não fará menção a você e sim às suas respostas aos tratamentos.

11. Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da Participação na Pesquisa: Você não receberá nenhuma compensação em dinheiro pela participação do estudo. Da mesma forma a estimulação e os exames serão oferecidos gratuitamente e os

custos gerados por ele ficaram sob responsabilidade dos pesquisadores, não havendo nenhum custo para você.

12. Local da Pesquisa: O estudo será realizado no Hospital Lydia Storopoli, 2 subsolo da Universidade Nove de Julho – Campus Vergueiro localizado à Rua Vergueiro, 235/249 - Liberdade, São Paulo – SP.

13. Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, que deve existir nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos participantes de pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa envolvendo Seres Humanos – Res. CNS nº 466/12 e Res. CNS 510/2016). O Comitê de Ética é responsável pela avaliação e acompanhamento dos protocolos de pesquisa no que corresponde aos aspectos éticos. **Endereço do Comitê de Ética da Uninove: Rua. Vergueiro nº 235/249 – 12º andar – Liberdade – São Paulo – SP CEP. 01504-001. Telefone: 3385-9010. E-mail: comitedeetica@uninove.br**

Horários de atendimento do Comitê de Ética: segunda-feira a sexta-feira – Das 11h30 às 13h00 e Das 15h30 às 19h00

14. Nome Completo e telefones dos Pesquisadores (Orientador e Alunos) para Contato: Você poderá entrar em contato com os pesquisadores em qualquer momento que tiver dúvidas ou sentir necessidade de alguma informação, podendo utilizar ligações (inclusive a cobrar), mensagens SMS ou até mesmo via Whatsapp. Os pesquisadores responsáveis por esses estudo são: Profa. Dra. Fernanda Ishida de Corrêa (11) 97344-0380, Prof. Dr. Raphael Mendes Ritti Dias (19) 999406878 e Prof. Dr. João Carlos Ferrari Corrêa (11) 999512523.

15. Eventuais intercorrências que vierem a surgir no decorrer da pesquisa poderão ser discutidas pelos meios próprios.

São Paulo, de de

16. Consentimento Pós-Informação:

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmando que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a realização do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos somente neste estudo no meio científico.

Assinatura do Participante ou responsável legal

OBS: Caso o paciente não tenha condições de tomada de decisões será solicitado a um responsável a assinatura.

(Todas as folhas devem ser rubricadas pelo participante da pesquisa)

17. Eu, _____ (Pesquisador do responsável desta pesquisa), certifico que:

a) Esta pesquisa só terá início após a aprovação do (s) referido (s) Comitê(s) de Ética em Pesquisa o qual o projeto foi submetido.

b) Considerando que a ética em pesquisa implica o respeito pela dignidade humana e a proteção devida aos participantes das pesquisas científicas envolvendo seres humanos;

c) Este estudo tem mérito científico e a equipe de profissionais devidamente citados neste termo é treinada, capacitada e competente para executar os procedimentos descritos neste termo;

Profa. Dra. Fernanda Ishida Corrêa

Assinatura do Pesquisador Responsável

APÊNDICE B – AVALIAÇÃO DO QUADRO CLÍNICO**AVALIAÇÃO DO QUADRO CLÍNICO**

Nome do paciente: _____

Telefone de contato: _____

Nome de um acompanhante ou responsável: _____

Contato: _____

Idade: _____ Data de nascimento: _____

Raça: _____

Peso: _____ Altura: _____

IMC: _____

Tomou vacina? () Não

() Sim , quantas doses? _____

Data que tomou e qual vacina? _____

Data de internação: _____

Data de início dos sintomas: _____.

Quais foram os sintomas? _____

Data da alta: _____

Comorbidades? _____

Medicamentos utilizados e outros tratamentos:

Checar se assinou o termo de consentimento livre e esclarecido (anexar a este

Atenção aos critérios de elegibilidade

Incluir se:

- Paciente tem diagnóstico confirmado de COVID-19 e recém internados no hospital, com início dos sintomas entre 1 e 14 dias () ok
- Paciente é maior de 18 anos () ok
- Está contactuante para poder entender o tratamento que será aplicado () ok
- Está recebendo oxigênio suplementar, de forma que possa ser colocado a estimulação () ok

Não incluir se:

- Faz uso de implante coclear () ok
- Apresenta co-morbididades como diabetes e hipertensão **não controlada** por medicamentos.

() ok

- Estar intubado ou usando equipamentos de auxílio ventilatório que impeça a estimulação como Helmet () ok

documento) () sim, assinou (ele ou responsável)

1- Avaliação pré tratamento

Nome do paciente: _____

Data: ____/____/____ **Avaliador:** _____

() Exames de sangue IL-6, IL-10, PCR, Cortisol.

Horário e data de coleta: _____

() pressão arterial braquial, indivíduos permanecerão por dez minutos na posição supina. Serão realizadas três medidas consecutivas, com um minuto de intervalo, no braço **SEM** acesso aos medicamentos. O valor utilizado será a média das duas últimas medidas.

Horário de coleta: _____ Braço: () direito () esquerdo

Medida 1: _____/_____ mmHg e FC _____ bpm

Medida 2: _____/_____ mmHg e FC _____ bpm

Medida 3: _____/_____ mmHg e FC _____ bpm

() variabilidade da frequência cardíaca será avaliada por 10 minutos na posição supina.

Horário que colocou: _____ hrs

Horário que parou de gravar: _____ hrs

Observações sobre estado clínico:

Sintomas	Não apresento	Apresento levemente	Apresento de forma moderada	Apresento de forma acentuada	Quando começou (dias)?
Pré tratamento					
Fraqueza muscular					
Fadiga					
Dispneia					
Perda de Olfato					
Perda de Paladar					
Visão turva/borrada					
Conjuntivite					
Zumbido/Tinnitus					
Dor de cabeça					
Dor nas articulações					
Dor nos MMSS					
Dor nos MMII					
Dor no peito					
Dor de cabeça persistente					

Tosse persistente					
Queda de cabelo					
Dermatite					
Febre intermitente					
Confusão mental					
Perda de memória					
Depressão					
Pânico					
Ansiedade					
Diarreia					

Nome do paciente: _____

1ª INTERVENÇÃO (Manhã) (Parâmetros de estimulação 90 minutos, frequência de 10 a 30Hz, largura de pulso de 150µs, intensidade limiar de tolerância do paciente, eletrodo anodo sobre tragus ESQUERDO, e catodo sobre a mandíbula)

Datas de estimulação 1 – 7 sessões	Realizou	Horário que colocou e retirou a estimulação	Não realizou	Observações/intercorrência, mudança de tratamento médico, interrupção do tratamento médico, alteração do quadro clínico, alta, outros
Dia 01				
Dia 02				
Dia 03				
Dia 04				
Dia 05				
Dia 06				
Dia 07				

Nome do paciente: _____

**Após 6 a 8 horas de
intervalo**

2ª INTERVENÇÃO (Parâmetros de estimulação 90 minutos, frequência de 10 a 30Hz, largura de pulso de 150µs, intensidade limiar de tolerância do paciente, eletrodo anodo sobre tragus ESQUERDO, e catodo sobre a mandíbula)

Datas de estimulação 1 – 7 sessões	Realizou	Horário que colocou e retirou a estimulação	Não realizou	Observações/intercorrência, mudança de tratamento médico, interrupção do tratamento médico, alteração do quadro clínico, alta, outros
Dia 01				
Dia 02				
Dia 03				
Dia 04				
Dia 05				
Dia 06				
Dia 07				

2. Avaliação pós tratamento

Nome do paciente: _____

Data: ____/____/____ Avaliador: _____

() Exames de sangue IL-6, IL-10, PCR, Cortisol.

Horário e data de coleta: _____

() pressão arterial braquial, indivíduos permanecerão por dez minutos na posição supina. Serão realizadas três medidas consecutivas, com um minuto de intervalo, no braço SEM acesso aos medicamentos. O valor utilizado será a média das duas últimas medidas.

Horário de coleta: _____ Braço: () direito () esquerdo

Medida 1: ____/____ mmHg e FC ____ bpm

Medida 2: ____/____ mmHg e FC ____ bpm

Medida 3: ____/____ mmHg e FC ____ bpm

() variabilidade da frequência cardíaca será avaliada por 10 minutos na posição supina.

Horário que colocou: _____ hrs

Horário que parou de gravar: _____ hrs

Observações sobre estado clínico:

Sintomas	Não apresento	Apresento levemente	Apresento de forma moderada	Apresento de forma acentuada	Quando começou (dias)?
Pré tratamento					
Fraqueza muscular					
Fadiga					
Dispneia					
Perda de Olfato					
Perda de Paladar					
Visão turva/borrada					
Conjuntivite					
Zumbido/Tinnitus					
Dor de cabeça					
Dor nas articulações					
Dor nos MMSS					
Dor nos MMII					

Sintomas	Não apresento	Apresento levemente	Apresento de forma moderada	Apresento de forma acentuada	Quando começou (dias)?
Pré tratamento					
Fraqueza muscular					
Fadiga					
Dispneia					
Perda de Olfato					
Perda de Paladar					
Visão turva/borrada					
Conjuntivite					
Zumbido/Tinnitus					
Dor de cabeça					
Dor nas articulações					
Dor nos MMSS					
Dor nos MMII					
Dor no peito					
Dor de cabeça persistente					
Tosse persistente					
Queda de cabelo					
Dermatite					
Febre intermitente					
Confusão mental					
Perda de memória					
Depressão					
Pânico					
Ansiedade					
Diarreia					

() pressão arterial braquial, indivíduos permanecerão por dez minutos na posição supina. Serão realizadas três medidas consecutivas, com um minuto de intervalo, no braço SEM acesso aos medicamentos. O valor utilizado será a média das duas últimas medidas.

Horário de coleta: _____ Braço: () direito () esquerdo

Medida 1: _____/_____ mmHg e FC _____ bpm

Medida 2: ____/____ mmHg e FC ____ bpm

Medida 3: _____/_____ mmHg e FC _____ bpm

() variabilidade da frequência cardíaca será avaliada por 10 minutos na posição supina.

Horário que colocou: _____ hrs

Horário que parou de gravar: _____hrs

Observações sobre estado clínico:

Evolução do paciente do pós-intervenção até o follow-up (anotar intercorrências, evolução do quadro clínico (intubação, encaminhamento para UTI, alta, medicações etc). Colocar a evolução, dados clínicos e as datas de ocorrência:

[illegible]

APÊNDICE C – ARTIGO PUBLICADO: Efeito da estimulação elétrica transcutânea do nervo vago na inflamação, modulação autonômica cardíaca e evolução clínica dos pacientes com COVID-19: estudo de protocolo para um ensaio clínico, controlado, randomizado e cego (DOI: 10.1590/1809-2950/22007429042022PT)

DOI: 10.1590/1809-2950/22007429042022PT



PESQUISA ORIGINAL

Efeito da estimulação elétrica transcutânea do nervo vago na inflamação, modulação autonômica cardíaca e evolução clínica dos pacientes com COVID-19: estudo de protocolo para um ensaio clínico, controlado, randomizado e cego

Effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation on inflammation, cardiac autonomic modulation, and clinical evolution of patients with COVID-19: protocol for a clinical, controlled, randomized, and blind trial

Efecto de la estimulación eléctrica transcutánea del nervio vago sobre la inflamación, la modulación autonómica cardíaca y la evolución clínica de pacientes con COVID-19: estudio de protocolo para un ensayo clínico, controlado, aleatorizado y ciego

Laura Uehara¹, João Carlos Ferrari Corrêa², Paulo Henrique Souza Leite³, Raphael Mendes Ritti-Dias⁴, Felipe Fregni⁵, Fernanda Ishida Corrêa⁶

RESUMO | O objetivo deste estudo é avaliar o efeito da estimulação elétrica transcutânea do nervo vago (EETNV) na inflamação, modulação autonômica cardíaca e evolução clínica dos pacientes com COVID-19. Trata-se de um ensaio clínico, controlado por *sham*, randomizado e cego, no qual participarão 52 indivíduos hospitalizados com diagnóstico de COVID-19, que serão randomizados em dois grupos de tratamento: grupo experimental (tratamento médico usual associado à EETNV ativa) ou grupo-controle (tratamento médico usual associado à EETNV *sham*). A EETNV será realizada por meio de um estimulador elétrico neuromuscular (modelo Dualpex 071 da Quark Medical Products), com o eletrodo de estimulação posicionado sobre o tragus esquerdo, com corrente alternada, frequência de 30Hz e variação de 50%, intensidade ajustada para o limiar sensorial do paciente, com duração de

90 minutos cada sessão de estimulação, duas vezes ao dia, durante sete dias consecutivos, totalizando 14 sessões. Serão avaliados pré e pós-intervenção o nível de interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10), cortisol e proteína C reativa (PCR), pressão arterial, variabilidade da frequência cardíaca pelos parâmetros de baixa frequência (BF), alta frequência (AF) e pela razão da baixa e alta frequência (BF/AF), além de evolução clínica dos pacientes, incluindo o nível de ansiedade e depressão, cujos dados serão obtidos por meio de prontuários e questionários. Será realizado também um acompanhamento 7 e 14 dias após o término das intervenções para verificar a evolução clínica, incluindo nível de ansiedade e depressão, e durante seis meses serão avaliadas memória e atenção.

Descritores | COVID-19; Nervo Vago; Estimulação do Nervo Vago; Inflamação.

Este estudo foi realizado na Universidade Nove de Julho (Uninove), campus Vergueiro, e no Hospital Professora Lydia Storópoli da Uninove – São Paulo (SP), Brasil.

¹Universidade Nove de Julho (Uninove) – São Paulo (SP), Brasil. E-mail: lor.uehara@gmail.com. ORCID-0000-0002-3941-859X

²Universidade Nove de Julho (Uninove) – São Paulo (SP), Brasil. E-mail: jcorrea@uninove.br. ORCID-0000-0002-8642-9814

³Universidade Nove de Julho (Uninove) – São Paulo (SP), Brasil. E-mail: paulohenrique-151@hotmail.com.

ORCID-0000-0002-7997-2130

⁴Universidade Nove de Julho (Uninove) – São Paulo (SP), Brasil. E-mail: raphaelritti@gmail.com. ORCID-0000-0001-7883-6746

⁵Harvard T.H. Chan School of Public Health – Boston (MA), Estados Unidos. E-mail: fregni.felipe@mgh.harvard.edu.

ORCID-0000-0001-9359-8643

⁶Universidade Nove de Julho (Uninove) – São Paulo (SP), Brasil. E-mail: correafe29@gmail.com. ORCID-0000-0001-7321-6257

ABSTRACT | This study aims to evaluate the effect of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) on inflammation, cardiac autonomic modulation, and clinical evolution of patients with COVID-19. This is a clinical, sham-controlled, randomized, and blind trial, in which 52 hospitalized individuals diagnosed with COVID-19 will participate. They will be randomized into: experimental group (usual medical treatment associated with active taVNS) and control group (usual medical treatment associated with sham taVNS). The taVNS will be performed by a neuromuscular electric stimulator (Dualpex model 071 of Quark Medical Products), with the stimulation electrode positioned on the left tragus, with alternating current, at a 30Hz frequency with 50% variation. Intensity will be adjusted to the patient's sensory threshold, with 90-minutes-long stimulation sessions, happening twice per day for seven consecutive days, totaling 14 sessions. Interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10), cortisol and C-reactive protein (CRP), blood pressure, heart rate variability (HRV) by low frequency (LF), high frequency (HF) and low and high frequency ratio (LF/HF) parameters will be evaluated before and after the intervention, as well as patients' clinical evolution—including anxiety and depression levels—whose data will be obtained through medical records and questionnaires. A follow-up will also be performed seven and 14 days after the end of the interventions to verify the clinical evolution, including anxiety and depression levels. Memory and attention levels will be evaluated for six months.

Keywords | COVID-19; Vagus Nerve; Vagus Nerve Stimulation; Inflammation.

RESUMEN | El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la estimulación eléctrica transcutánea del nervio vago (EETNV) sobre la inflamación, la modulación autonómica cardíaca y la evolución clínica de pacientes con COVID-19. Se trata de un ensayo clínico, controlado por simulado, aleatorizado y ciego, en el que participarán 52 individuos hospitalizados diagnosticados de COVID-19, que serán aleatorizados en dos grupos de tratamiento: grupo experimental (tratamiento médico habitual asociado a la EETNV activa) o grupo control (tratamiento médico habitual asociado a la EETNV simulada). La EETNV se realizará mediante un estimulador eléctrico neuromuscular (modelo Dualpex 071 de Quark Medical Products), con el electrodo de estimulación colocado en el trago izquierdo, con corriente alterna, frecuencia de 30Hz y 50% de variación, intensidad ajustada al umbral sensorial del paciente, con una duración de 90 minutos cada sesión de estimulación, dos veces al día, durante siete días consecutivos, lo que totaliza 14 sesiones. Se evaluarán antes y después de la intervención la interleucina-6 (IL-6) y la interleucina-10 (IL-10), el cortisol y la proteína C reactiva (PCR), la presión arterial, la variabilidad de la frecuencia cardíaca por los parámetros de baja frecuencia (BF), alta frecuencia (AF) y razón de baja y alta frecuencia (BF/AF), así como la evolución clínica de los pacientes, incluidos los parámetros de ansiedad y depresión cuyos datos se obtendrán de historias clínicas y cuestionarios. También se realizará un seguimiento de 7 y 14 días tras finalizadas las intervenciones para verificar la evolución clínica, incluidos el nivel de ansiedad y de depresión, y durante seis meses se evaluará la memoria y la atención.

Palabras clave | COVID-19; Nervio Vago; Estimulación del Nervio Vago; Inflamación.

INTRODUÇÃO

A COVID-19 é uma infecção respiratória aguda causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, potencialmente grave, de elevada transmissibilidade e distribuição global. A epidemia de COVID-19 começou na cidade de Wuhan, na China, no final de dezembro de 2019¹, e desde então se espalhou rapidamente pelo mundo, sendo declarada como uma pandemia global pela Organização Mundial da Saúde² em março de 2020.

O aspecto clínico da COVID-19 varia amplamente, mas apresenta como característica uma reação imunológica com elevados níveis de citocinas inflamatórias, como a interleucina-6 (IL-6), considerada fator importante para o aumento da mortalidade pela doença^{3,4}. Dessa forma, os primeiros protocolos de tratamento para pacientes com SARS-CoV-2 incluíram a administração de esteroides,

que visavam modular essa resposta exacerbada de citocinas, de forma semelhante ao tratamento da síndrome do desconforto respiratório agudo não viral⁵. No entanto, os tratamentos da infecção por SARS-CoV-2 se mostraram ineficazes^{6,7}. Assim, com o intuito de minimizar essa resposta inflamatória, tratamentos alternativos têm sido investigados, como a estimulação elétrica transcutânea do nervo vago (EETNV).

A EETNV demonstrou ser um modulador potente de reações imunes patológicas, suprimindo especificamente os níveis de citocinas inflamatórias por meio da ativação da via anti-inflamatória colinérgica (VAC)⁸⁻¹¹. Boezaart e Botha¹¹ relataram o caso de dois pacientes com COVID-19 em estágio 3, nos quais os níveis de IL-6 estavam marcadamente elevados, que passara pela EETNV, que foi capaz de reduzir drasticamente os níveis sanguíneos de IL-6 em um

período relativamente curto. Staats et al.⁸ também descreveram dois casos de pacientes com sintomas de COVID-19 que fizeram uso da estimulação do nervo vago cervical, com resultados relevantes na melhora clínica, interrupção do uso de medicamentos opioides e supressores de tosse e alívio imediato de dispnéia (cinco minutos após a estimulação), bem como uma capacidade melhorada para limpar seus pulmões. Para esses pesquisadores⁸, a estimulação não invasiva pode ajudar os pacientes com envolvimento respiratório de COVID-19, por meio de dois mecanismos: broncodilatação e ativação da VAC.

Existem evidências que a EETNV também diminui a atividade simpática e está associada à liberação da norepinefrina, melhorando o controle autonômico¹². Este dado é importante, uma vez que pacientes com COVID-19 apresentam disfunção autonômica, com valores de variabilidade de frequência cardíaca diminuída¹³.

Assim, diante do número crescente de óbitos no Brasil decorrente das complicações da COVID-19 e com impacto relevante na saúde pública, a possibilidade de uso da EETNV para pessoas diagnosticadas com COVID-19 torna-se importante, visto seus efeitos promissores sobre a diminuição de processos

inflamatórios, além de ser um tratamento com efeitos colaterais mínimos e baixo custo.

Dessa forma, este estudo tem como objetivo principal avaliar o efeito da EETNV na inflamação, e como objetivos secundários verificar a modulação autonômica cardíaca, evolução clínica, nível de depressão e ansiedade e nível de memória e atenção dos pacientes com COVID-19.

METODOLOGIA

Desenho do estudo

Este é um ensaio clínico, controlado por *sham*, randomizado e cego (paciente), que será conduzido com 52 pacientes com diagnóstico de COVID-19 internados no Hospital Lydia Storópoli, localizado na Universidade Nove de Julho, São Paulo (SP), Brasil. Os participantes serão informados sobre o procedimento antes de assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido. Este estudo foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR-399t4g5). O cronograma (Spirit – *Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials*) do estudo está apresentado na Figura 1.

	Período do estudo																	
	Inscrição	Alocação	Pós-alocação							Avaliação pós tratamento	Follow-up							
											7 dias	14 dias	1 mês	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses	6 meses
PONTO TEMPORAL**	-t ₁	0	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₆	t ₇	t ₈	t ₉	t ₁₀	t ₁₁					
INSCRIÇÃO:																		
Eligibilidade	X																	
Consentimento informado	X																	
Alocação		X																
INTERVENÇÃO:																		
[EETNV ativo mais tratamento usual]			●	—	—	—	—	—	—	●								
[EETNV placebo mais tratamento usual]			●	—	—	—	—	—	—	●								
AVALIAÇÕES:																		
[interleucina 6, interleucina 10, cortisol, proteína C reativa, variabilidade da frequência cardíaca, pressão arterial]	X										X							
[evolução clínica e nível de ansiedade e depressão (HAD Scale)]	X										X	X	X					
Nível de memória e atenção												X	X	X	X	X	X	X

Figura 1. Cronograma do *Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials*

EETNV: estimulação elétrica transcutânea do nervo vago; tx1: follow-up de sete dias; tx2: follow-up de 14 dias; tx3: follow-up de um mês; tx4: follow-up de dois meses; tx5: follow-up de três meses; tx6: follow-up de quatro meses; tx7: follow-up de cinco meses; tx8: follow-up de seis meses.

Participantes

Participarão do estudo 52 indivíduos com diagnóstico confirmado de COVID-19 e que estiverem internados no Hospital Professora Lydia Storópoli. Os pacientes selecionados deverão ser maiores de 18 anos; apresentar diagnóstico confirmado de COVID-19 de moderado a grave¹; com início de sintomas entre 1 e 10 dias; estar contactantes e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido. Poderão ser incluídos participantes que estiverem recebendo oxigênio suplementar, ventilação não invasiva, mas que não estiverem intubados durante a avaliação inicial. Serão excluídos os pacientes que fizerem uso de implante coclear, devido à proximidade da aplicação do estímulo, e que tiverem marcapasso.

Cálculo amostral

Para o cálculo da amostra, foi empregada a diferença da IL-6 pós e a pré-intervenção com EETNV, realizada com estudo piloto com 21 participantes (11 no grupo-controle e 10 no grupo experimental). Foi considerado um intervalo de confiança de 80%, α de 5%, com valor de $p < 0,05$. O cálculo amostral foi realizado por meio do software G*POWER 3. Usando esses parâmetros, o cálculo da amostra resultou em um tamanho amostral de 52 participantes (26 por grupo).

Procedimentos

Os participantes do estudo serão avaliados antes e após sete dias de intervenções quanto ao seu perfil inflamatório (indicadores inflamatórios), modulação autonômica cardíaca, pressão arterial, quadro clínico – incluindo nível de ansiedade e depressão –, e serão randomizados por meio do site *Research Randomizer* (www.randomizer.org) em dois grupos: experimental (EETNV ativa associada ao tratamento médico usual) ou controle (EETNV *sham* associada ao tratamento médico usual). Após o término do tratamento, serão acompanhados os níveis de memória e atenção dos participantes por seis meses.

Painel inflamatório

Técnicas do imunoensaio enzimático

Amostras de sangue de 15ml serão coletadas por um profissional da enfermagem, por meio de punção da veia, em tubo contendo inibidor de protease e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), que será

prontamente centrifugado (3.000rpm, 15min, 4°C). O plasma desse tubo será então transferido para tubos de microcentrifuga (1,5ml) e armazenado a -80°C. Posteriormente, será enviado para um laboratório especializado em análises clínicas, que fará as análises da IL-6, IL-10, PCR e cortisol.

Parâmetros cardiovasculares

Serão avaliadas a pressão arterial e a variabilidade da frequência cardíaca (VFC). A pressão arterial braquial será mensurada por meio de um monitor (HEM-742, Omron Healthcare, Japão). Enquanto os indivíduos permanecem por 10 minutos na posição supina, serão realizadas três medidas consecutivas, com um minuto de intervalo, em ambos os braços e com tamanho do manguito adequado à circunferência do braço. O valor utilizado será a média das duas últimas medidas, conforme recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia¹⁴.

A VFC será avaliada a fim de estimar a modulação autonômica do sistema cardiovascular. Para tanto, após 20 minutos de repouso, os pacientes permanecerão 15 minutos na posição supina, período no qual terão registrados os intervalos RR, por meio de um monitor de frequência cardíaca validado para esta função (V800, Polar Electro, Finlândia). Serão considerados válidos sinais com pelos menos cinco minutos estacionários.

Após a coleta, os intervalos RR serão exportados para o programa Kubios HRV (Version 2.0, Biosignal Analysis and Medical Imaging Group, Finlândia), e as análises serão realizadas no domínio da frequência. Os parâmetros do domínio da frequência serão obtidos pela técnica da análise espectral, utilizando o método autorregressivo, com a ordem do modelo de 12 pelo critério de Akaike. Serão consideradas como fisiologicamente significativas as frequências entre 0,04 e 0,4Hz, sendo o componente de baixa frequência (BF) representado pelas oscilações entre 0,04 e 0,15Hz e o componente de alta frequência (AF) entre 0,15 e 0,4Hz.

Evolução da doença

Para avaliar o quadro clínico será aplicado antes, logo após, e 7 e 14 dias após o término das intervenções, um questionário de quadro clínico contendo perguntas sobre os sintomas da COVID-19 e a intensidade deles – que poderá ser nenhum (N), leve (L), moderado (M) ou acentuado (A) –, e uma escala de ansiedade

e depressão (HAD – *hospital anxiety and depression scale*)¹⁵, que consiste em um questionário com pontuação de 0 a 3 para cada pergunta, totalizando 31 pontos. O resultado pode ser: improvável (0-7 pontos), possível: questionável ou duvidosa (8-11 pontos), e provável (12-21 pontos).

Além disso, informações sobre dados demográficos, histórico de saúde, início dos sintomas da COVID-19, dados sobre vacinação, comorbidades, medicamentos, intercorrências, parâmetros específicos referentes à COVID-19, incluindo exames sanguíneos, exames de imagem e tempo da doença, serão obtidos por meio de análise de prontuário médico e contato telefônico (caso o paciente tiver alta hospitalar); mas o nome do paciente será mantido em sigilo.

Atenção e memória

A qualidade da atenção e da memória será obtida por meio de um questionário contendo duas perguntas sobre como está a memória e a atenção após terem contraído a COVID-19, com sete respostas possíveis: (1) muito melhor; (2) melhor; (3) um pouco melhor; (4) sem mudança; (5) um pouco pior; (6) pior; (7) muito pior. Trata-se de uma versão adaptada pelos autores da impressão clínica global (CGI – *clinical global impression*)¹⁶.

O questionário será aplicado 7, 14, 30, 60, 90, 120 e 180 dias após o término do protocolo de EETNV, por meio de contato telefônico (caso o paciente tiver alta hospitalar).

Intervenções

As intervenções serão realizadas durante a internação dos pacientes. Para tanto, um fisioterapeuta se dirigirá ao leito do paciente e posicionará o equipamento de EETNV.

Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago ativa

A EETNV ativa será realizada por um estimulador elétrico neuromuscular transcutâneo multifuncional, modelo Dualpex 071 da Quark Produtos Médicos (registro Anvisa nº 80079190022), com um eletrodo sobre o tragus, local anatômico humano onde há distribuições cutâneas do nervo vago aferente (Figura 2) do lado esquerdo, considerado mais seguro¹⁷. O outro eletrodo será posicionado sobre a clavícula do mesmo lado.

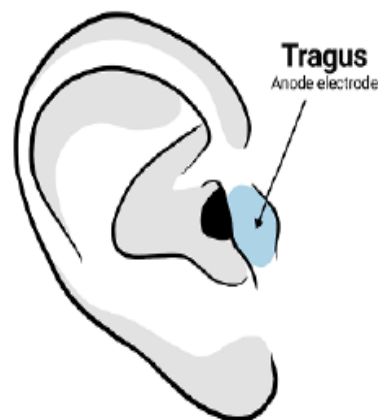


Figura 2. Área do ramo auricular do nervo vago onde será aplicada a eletroestimulação

A EETNV será realizada com eletrodos adesivos de 15mm, corrente sinusoidal alternada com frequência de 30Hz com variação de 50%, por um período de 90 minutos¹⁸, duas vezes ao dia (pela manhã e tarde ou à noite, com intervalo entre estimulações de 6 a 8 horas) por sete dias consecutivos, totalizando 14 sessões de estimulação. A intensidade será mantida entre 0,5 e 12mA, de acordo com a tolerância do paciente, para não causar dor ou contração muscular, dentro do limiar sensorial¹⁹.

Intervenção sham

Para a estimulação sham será utilizado o mesmo equipamento da EETNV ativa, que, no entanto, permanecerá desligado durante o período do estudo.

Análise dos dados

Os dados do estudo serão apresentados em média e desvio-padrão, para os dados paramétricos, e mediana e amplitude interquartil, para os dados não paramétricos. A normalidade será avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis inflamatórias (IL-6, IL-10, PCR e cortisol) e os níveis de ansiedade, depressão, memória e atenção serão calculadas com teste t pareado.

A variabilidade da frequência cardíaca será analisada pelas seguintes variáveis: unidade normalizadas (un) de BF e AF e razão BF/AF analisados pelo programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS versão 25.0 para Windows). Os dados de variabilidade da frequência cardíaca serão analisados por equações de estimativas generalizadas. Serão considerados $p < 0,05$ e a intenção de tratar para a análise.

DISCUSSÃO

A COVID-19 gerou uma pandemia global e em um curto período aumentou a curva de pacientes infectados e as taxas de mortalidade. Como consequência, observa-se um impacto econômico e de saúde pública de grande proporção, especialmente no Brasil. Diante disso, cientistas e profissionais da saúde mobilizam-se para reduzir esse impacto por meio de técnicas e recursos já conhecidos e pela busca de novos métodos de tratamento.

Embora a vacina já seja uma realidade, ainda se faz necessário o aprimoramento de tratamentos que visem à redução da mortalidade e de sequelas, garantindo melhor qualidade de vida aos contaminados. Além disso, o aparecimento de novas cepas mostra a urgência de tratamentos eficazes e alternativos diante de um cenário ainda não totalmente conhecido. Dessa forma, a EETNV pode ser um recurso anti-inflamatório para melhora de quadros clínicos relacionados ao controle autonômico em pacientes com complicações da COVID-19, como já mostrado na literatura em outras populações e em alguns relatos de casos com pacientes diagnosticados com a doença.

CONCLUSÃO

A EETNV pode ser um tratamento promissor para pessoas diagnosticadas com COVID-19, apresentando efeitos colaterais mínimos sem gravidade, baixo custo e eficácia na diminuição de processos inflamatórios, característica principal da doença causada pelo SARS-CoV-2.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Renan Tironi Giglio, Elizabeth Akemi Nishio, Ione Paiotti, Rafael Akira Sakugawa Becker e ao Hospital Lygia Storópoli por permitirem a execução desta pesquisa. Doutor Fregni é financiado pelos *National Institutes of Health* (NIH) e é consultor na companhia Neurive.

REFERÊNCIAS

- Umakanthan S, Sahu P, Ranade AV, Bukelo MM, Rao JS, et al. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgrad Med J*. 2020;96(1142):753-8. doi: 10.1136/postgradmedj-2020-138234.
- WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19. Geneva: WHO; 2020 Mar 11 [cited 2022 Dec 9]. Available from: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
- Ulhaq ZS, Soraya GV. Interleukin-6 as a potential biomarker of COVID-19 progression. *Med Mal Infect*. 2020;50(4):382-3. doi: 10.1016/j.medmal.2020.04.002.
- Zhang C, Wu Z, Li JW, Zhao H, Wang GQ. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;55(5):105954. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105954.
- Lai KN, Leung JCK, Metz CN, Lai FM, Bucala R. Role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. *J Pathol*. 2003;199(4):496-508. doi: 10.1002/path.1291.
- Koren G, King S, Knowles S, Phillips E. Ribavirin in the treatment of SARS: a new trick for an old drug? *CMAJ*. 2003;168(10):1289-92.
- Lee N, Hui D, Wu A, Chan P, Cameron P, et al. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med*. 2003;348(20):1986-94. doi: 10.1056/NEJMoa030685.
- Staats P, Giannakopoulos G, Blake J, Liebler E, Levy RM. The use of non-invasive vagus nerve stimulation to treat respiratory symptoms associated with COVID-19: a theoretical hypothesis and early clinical experience. *Neuromodulation*. 2020;23(6):784-8. doi: 10.1111/ner.13172.
- Tracey KJ. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J Clin Invest*. 2007;117(2):289-96. doi: 10.1172/JCI30555.
- Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*. 2000;405(6785):458-62. doi: 10.1038/35013070.
- Boezaart AP, Botha DA. Treatment of stage 3 COVID-19 with transcutaneous auricular vagus nerve stimulation drastically reduces interleukin-6 blood levels: a report on two cases. *Neuromodulation*. 2021;24(1):166-7. doi: 10.1111/ner.13293.
- Zhang Y, Popović ZB, Bibevski S, Fakhry I, Sica DA, et al. Chronic vagus nerve stimulation improves autonomic control and attenuates systemic inflammation and heart failure progression in a canine high-rate pacing model. *Circ Heart Failure*. 2009;2(6):692-9. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.873968.
- Pan Y, Yu Z, Yuan Y, Han J, Wang Z, et al. Alteration of autonomic nervous system is associated with severity and outcomes in patients with COVID-19. *Front Physiol*. 2021;12:630038. doi: 10.3389/fphys.2021.630038.
- Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, et al. Brazilian Guidelines of Hypertension - 2020. *Arq Bras Cardiol*. 2021;116(3):516-658. doi: 10.36660/abc.20201238.
- Boteaga NJ, Bio MR, Zomignani MA, Garcia Junior C, Pereira WAB. Transtornos do humor em enfermagem de clínica médica e validação de escala de medida (HAD) de ansiedade e depressão. *Rev Saude Publica*. 1995;29(5):355-63. doi: 10.1590/S0034-89101995000500004.

16. Guy W. Clinical global impressions. In: Guy W, editor. ECDEU assessment manual for psychopharmacology. Rockville: U.S. Department of Health, Education, and Welfare; 1976.
17. Yuan H, Silberstein SD. Vagus nerve and vagus nerve stimulation, a comprehensive review: part II. Headache. 2016;56(2):259-66. doi: 10.1111/head.12650.
18. Lerman I, Hauger R, Sorkin L, Proudfoot J, Davis B, et al. Noninvasive transcutaneous vagus nerve stimulation decreases whole blood culture-derived cytokines and chemokines: a randomized, blinded, healthy control pilot trial. Neuromodulation. 2016;19(3):283-91. doi: 10.1111/ner.12398.
19. Trevizol AP, Shiozawa P, Taiar I, Soares A, Gomes JS, et al. Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation (taVNS) for major depressive disorder: an open label proof-of-concept trial. Brain Stimul. 2016;9(3):453-4. doi: 10.1016/j.brs.2016.02.001.

APÊNDICE D- ARTIGO PUBLICADO: Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation effects on inflammatory markers and clinical evolution of patients with COVID-19: a pilot randomized clinical trial
 (https://doi.org/10.1080/17434440.2022.2154147)



Expert Review of Medical Devices



ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/ierd20>

Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation effects on inflammatory markers and clinical evolution of patients with COVID-19: a pilot randomized clinical trial

Laura Uehara, João Carlos Ferrari Corrêa, Raphael Ritti, Paulo Leite, Deivide Rafael Gomes de Faria, Kevin Pacheco-Barrios, Luis Castelo-Branco, Felipe Fregni & Fernanda Ishida Corrêa

To cite this article: Laura Uehara, João Carlos Ferrari Corrêa, Raphael Ritti, Paulo Leite, Deivide Rafael Gomes de Faria, Kevin Pacheco-Barrios, Luis Castelo-Branco, Felipe Fregni & Fernanda Ishida Corrêa (2022) Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation effects on inflammatory markers and clinical evolution of patients with COVID-19: a pilot randomized clinical trial, Expert Review of Medical Devices, 19:11, 915-920, DOI: [10.1080/17434440.2022.2154147](https://doi.org/10.1080/17434440.2022.2154147)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/17434440.2022.2154147>



Published online: 20 Dec 2022.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

ORIGINAL RESEARCH



Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation effects on inflammatory markers and clinical evolution of patients with COVID-19: a pilot randomized clinical trial

Laura Uehara^a, João Carlos Ferrari Corrêa^a, Raphael Ritti^a, Paulo Leite^a, Deivide Rafael Gomes de Faria^a, Kevin Pacheco-Barrios^{b,c}, Luis Castelo-Branco^b, Felipe Fregni^b and Fernanda Ishida Corrêa^a

^aRehabilitation Sciences, Nove de Julho University, São Paulo, Brazil; ^bHarvard Medical School, Neuromodulation Center and Center for Clinical Research Learning, Spaulding Rehabilitation Hospital and Massachusetts General Hospital, Boston, Mass, USA; ^cUniversidad San Ignacio de Loyola, Vicerrectorado de Investigación, Unidad de Investigación para la Generación y Síntesis de Evidencias en Salud, Lima, Peru

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) on inflammatory markers and clinical outcomes in patients with COVID-19.

Methods: A randomized blinded pilot study was carried out with 21 individuals hospitalized with COVID-19 who received 14 sessions of active (a-taVNS) or sham taVNS (s-taVNS). The level of interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), cortisol, and C-reactive protein (CRP) in plasma and clinical evolution pre- and post-intervention were evaluated. The memory and attention levels were evaluated 14 days after the end of the treatment.

Results: After treatment, significant intragroup differences were found in the CRP ($p = 0.01$), IL-6 ($p = 0.01$), and cortisol ($p = 0.01$) levels; however, in the comparison between the groups, only the CRP level was statistically lower for the a-taVNS ($p = 0.04$). The impression of improvement in memory and attention was greater in the a-taVNS than in the s-taVNS ($p = 0.01$, $p = 0.04$, respectively). There was no difference between the other clinical outcomes.

Conclusions: taVNS is a viable and safe intervention in the acute care of patients with COVID-19, which can modulate their inflammatory profile and improve cognitive symptoms. However, improvements in overall clinical outcomes were not detected. Larger sample sizes and longer follow-ups are needed to confirm the anti-inflammatory and clinical effects of taVNS in patients with COVID-19.

Trials Registry: The Brazilian Registry of Clinical Trials (RBR-399t4g5).

ARTICLE HISTORY

Received 6 January 2022
Accepted 29 November 2022

KEYWORDS

COVID-19; vagus nerve; inflammation; neuromodulation; noninvasive vagus nerve stimulation; SARS-CoV-2

1. Introduction

COVID-19 presented itself as a global pandemic, and in a short period, the curve of infected patients and mortality rates increased. Consequently, a large economic and public health impact was observed. As of 25 April 2022, the World Health Organization [1] panel has confirmed 507,501,771 cases of COVID-19, including 6,220,390 deaths. In view of this, scientists and health professionals are mobilized in search of the reduction of this impact through techniques and resources already known and by the search for new treatment methods.

The clinical spectrum of COVID-19 is heterogeneous and can progress to acute lung injury, respiratory distress syndrome, septic shock, acute kidney failure, central nervous system compromise, and death. This progression is associated with an extreme increase in inflammatory cytokines such as interleukin 2 (IL2), interleukin 6 (IL6), interleukin 10 (IL10), and tumor necrosis factor α (TNF α), known as cytokine storm [2–5].

Because of this, the technique of noninvasive vagus nerve stimulation (nVNS) for people diagnosed with COVID-19 may be a promising treatment, since it causes minimal side effects, has low cost, and is effective in decreasing inflammatory processes [6], a main feature of COVID-19.

There are different devices for vagus nerve stimulation. The implantable device consists of an electrode wrapped around the left vagus nerve and a battery and pulse generator implanted below the collarbone [7]. On the other hand, transcutaneous vagus nerve stimulation (taVNS) has a similar efficacy [8,9] and has the advantage of having no adverse reactions [10–12] or minimal side effects such as skin irritation [13]. Its application can be performed using electrical stimulation of the upper or lower concha (tragus) of the external ear, by surface electrodes connected to the stimulus generator device [14].

Evidence shows that the anti-inflammatory effect of vagus nerve stimulation occurs through the activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway (CAP). Tracey [15] first identified this pathway, which signals the afferents of the vagus nerve when there is peripheral inflammation, which in turn notifies the central nervous system about an inflammatory process, initiating a cascade of events that results in the inhibition of the inflammatory process, TNF, IL1 β , and other pro-inflammatory cytokines [16–21].

Recent studies have investigated the effect of nVNS as Lerman et al. [22] who investigated the effects of nVNS on modulating the peripheral immune system in healthy men and women and concluded that nVNS negatively regulates

the release of inflammatory cytokines, suggesting that this therapeutic resource may be an effective anti-inflammatory treatment.

Boezaart e Botha [23] reported the case of two patients with COVID-19 in whom IL-6 levels were markedly elevated and observed that taVNS reduced IL-6 blood levels in a relatively short period. Verbanck et al. [24] reported the clinical and biological effects of taVNS in patients suffering from long-term COVID syndrome and concluded that taVNS is a potent therapeutic tool to reduce symptoms of patients suffering from long-term COVID. More recently, a randomized clinical trial [25] investigated the effects of nVNS stimulation in people hospitalized with COVID-19 who received 1 session of nVNS, three times daily plus usual medical care, and compared this group with another that received only the usual medical care. As a result, they observed decreased levels of C-reactive protein (CRP) and procalcitonin for the nVNS group.

However, despite evidence of the anti-inflammatory effect of taVNS, there is little evidence of this treatment in randomized controlled trials to treat 'cytokine storm' in patients affected by COVID-19. Thus, this study aims to assess the effects of 14 sessions of taVNS on inflammatory markers IL-6, IL-10, cortisol, and C-reactive protein (CRP) and the clinical outcome of hospitalized patients with COVID-19.

2. Methods

This is a pilot, randomized, blinded (patients), sham-controlled clinical trial in which 21 patients diagnosed with COVID-19 admitted to Lydia Storopoli Hospital, São Paulo, Brazil, were randomized (by site www.randomizer.org) with a 1:1 ratio to receive active transcutaneous vagus nerve stimulation (taVNS) or sham taVNS, twice a day, for 7 days, totaling 14 stimulation sessions.

Assessments of inflammatory markers and clinical symptoms were performed before and after 14 sessions of taVNS. Clinical symptoms were followed for 14 days after the end of stimulation (Figure 1- Study timeline).

This study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki and started after approval by the Research Committee on Human Beings of the University Nove de Julho (46,699,521.5.0000.5511), and after registration in the Brazilian Registry of Clinical Trials (RBR-399t4g5). Participants were informed about the study procedures before signing an informed consent form and will remain anonymous.

2.1. Participants

To be included in the study, the patients should have a confirmed diagnosis of COVID-19, age over 18 years, be hospitalized and with symptom onset 1–10 days before admission, be conscious to consent to treatment, and answer questions about their clinical status. Individuals with contraindications to taVNS, as cochlear implants and cardiac pacemakers, were not included.

2.2. Treatment protocol

2.2.1. Routine medical care

Usual medical treatment was prescribed by the physician, according to each patient's needs. The medical treatment included medication, physical therapy, and oxygen therapy or other ventilatory therapy and was performed and monitored by the hospital's health-care team.

Active or sham stimulation was added to this medical routine.

2.2.2. noninvasive transcutaneous vagus nerve stimulator (taVNS)

The treatment of noninvasive vagus nerve stimulation was performed by two researchers in this study, physical therapists. Stimulation was carried out by an electrical neuromuscular stimulator (model Dualpex 071 from Quark Medical Products) with an electrode over the tragus of the left ear and another over the clavicle on the same side. Active taVNS was accomplished with a frequency of 30 Hz, variation of 50%, and intensity between 0.5 mA and 12 mA (depending on the patient's tolerance) for 90 minutes, twice a day (interval of 6–8 hours between each stimulation), for seven consecutive days, totaling 14 stimulation sessions. The taVNS sham followed the same setup, but the device remained off during each session. Patients and researchers responsible for data analysis were blinded to group allocation.

2.3. Assessment

2.3.1. Inflammatory markers

To obtain the inflammatory profile, 15 ml of blood was taken via vein puncture, always in the morning. It was stored in a tube containing a protease inhibitor and EDTA and then centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes at 4°C. The resulting plasma was transferred to micro-centrifuge tubes (1.5 ml) and stored at –80°C. This sample was later sent for analysis of interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), cortisol, and C-reactive protein (CRP).

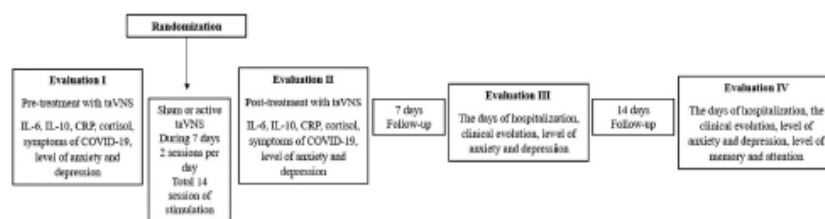


Figure 1. Timeline of the pilot study. taVNS: transcutaneous auricular vagus nerve stimulation; taVNS: transcutaneous auricular vagus nerve stimulation; interleukin-6 (IL-6); interleukin-10 (IL-10); C-reactive protein (CRP).

The method of analysis of IL-6, IL-10, and cortisol was the Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) method and the Chemiluminescent Competitive Immunoassay following the manufacturer's recommendations. To determine the PCR was used a high-sensitivity method (nephelometry).

2.3.2. Assessment of the clinical status of patients

The clinical symptoms evaluated were anxiety, depression, memory and attention levels, and other symptoms described by Yang et al. [26] and Umakanthan et al. [27] related to COVID-19, such as cough, fever, and weakness, among others.

To assess anxiety and depression, the Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD) was used [28,29]. Outcomes could be unlikely (score 0–7), possible – questionable or doubtful (8–11 points), and probable (12–21 points).

To assess memory and attention was applied the Clinical Global Impression-Improvement (CGI-I) [30], whose results could be 1 = Much better, better, a little better; 0 = A little worse, worse, much worse, no change.

To assess the other clinical symptoms was applied a questionnaire developed by the researchers containing a list of symptoms in which the participant should answer whether they had it or not, and if so, qualify as 1 = moderate or severe; 0 = none or light.

Clinical symptoms were followed for 14 days after the end of stimulation. Memory and attention were assessed only 14 days after the end of treatment. If the participant was discharged from the hospital, they were contacted by telephone.

Hospital records were also analyzed to collect medication information, changes in medical conduct, personal data, hospitalization, mortality, and adverse events.

2.4. Data analysis

Descriptive statistics are presented in medians and interquartile ranges. Nonparametric statistical analysis was used because the assumption of normality was not maintained in the sample, in addition to the small sample size of each group. The Fisher's exact test and the Mann-Whitney U-test were used to compare groups and the Wilcoxon signed-rank test to assess within-group differences. Spearman correlation coefficients were used to evaluate the correlations between inflammatory markers and clinical

symptoms. Due to the exploratory nature of the study, adjustment for multiple comparisons was not performed. We considered two-sided p-values and a 0.05 significance level for all the analyses. Analyses were conducted using R version 4.0.2.

3. Results

Thirty-one patients were selected between May and August 2021, of which 10 were excluded, because they were intubated or died before the randomization and the first assessment. Therefore, 21 patients were randomized to the active taVNS group (n = 10) and taVNS sham group (n = 11). Analysis of markers of inflammation was performed for the 21 patients who completed treatment. Follow-up assessments were followed with seven patients for active taVNS as three did not follow up and in sham taVNS seven participants completed follow-up because one participant died and three did not follow up (see supplementary material S1).

The characteristics of the patients included in the study are shown in Table 1.

There was no significant difference between the groups on most demographic and COVID-19 characteristics, although the simulated group had slightly younger individuals, fewer males, and fewer patients with comorbidities.

Results of the amount of C – reactive protein (A), IL-6 (B), cortisol (C), IL-10 (D), and levels of anxiety (E) and depression (F) pre- and post-stimulation protocol (Figure 2)

Nonparametric tests revealed statistically significant lower plasma CRP levels (p = 0.04) in the active group than in the sham group after 7 days of stimulation. However, no other statistically significant differences were found between the groups regarding other inflammatory markers. Furthermore, the intragroup analysis showed statistically significant results for CRP (p = 0.01), IL-6 (p = 0.01), and cortisol (p = 0.01) only in the active group. Supplementary Table S1 shows the results of inflammatory and clinical outcomes at baseline, after treatment, and at follow-up.

There were no statistically significant difference between group on the CGI for memory and attention improvement (90% vs. 25%, p = 0.01; and 90% vs. 37.5%, p = 0.04, respectively). Moreover, there was no difference among other clinical outcomes, including clinical evolution, hospitalization duration, or

Table 1. Characteristics of included patients.

Variables	Active taVNS (n = 10)	Sham taVNS (n = 11)	Total (n = 21)
Age (year)	53 (IQR = 18, SD = 10.8)	44 (IQR = 28, SD = 22.7)	52.50 (IQR = 20, SD = 18.1)
Sex (male, %)	7/10 (70%)	4/11 (36.36%)	11/21 (52.38%)
Weight (kg)	84 (IQR = 20, SD = 14.0)	90 (IQR = 25, SD = 11.21)	87 (IQR = 15, SD = 15.6)
Height (mt)	1.67 (IQR = 0.06, SD = 0.1)	1.65 (IQR = 0.07, SD = 0.1)	1.65 (IQR = 0.05, SD = 0.1)
BMI (kg/m ²)	28.73 (IQR = 4.78, SD = 3.1)	30.5 (IQR = 7.95, SD = 5.4)	30.11 (IQR = 8.24, SD = 5.6)
COVID-19 characteristics			
Disease duration at hospitalization (days)	8 (IQR = 6, SD = 3.3)	6 (IQR = 5, SD = 3.2)	7 (IQR = 4, SD = 3.1)
Disease duration at stimulation (days)	8 (IQR = 5, SD = 3.5)	10 (IQR = 5, SD = 2.7)	9 (IQR = 4, SD = 3.2)
Vaccinated (%)	2/10 (20%)	2/11 (18.18%)	4/21 (19.04%)
Severe COVID-19 (%)	6/10 (60%)	6/11 (54.54%)	12/21 (57.14%)
Corticosteroids use (%)	10/10 (100%)	11/11 (100%)	21/21 (100%)
Comorbidities (%)			
Hypertension	7/10 (70%)	4/11 (36.36%)	11/21 (52.38%)
Diabetes	2/10 (20%)	0/11 (0%)	2/21 (9.52%)
Obesity	4/10 (40%)	6/11 (54.54%)	10/21 (47.62%)

BMI: body mass index. Numerical variables are reported as Median, Interquartile range (IQR), and standard deviation (SD); categorical variables are reported as percentage (%).

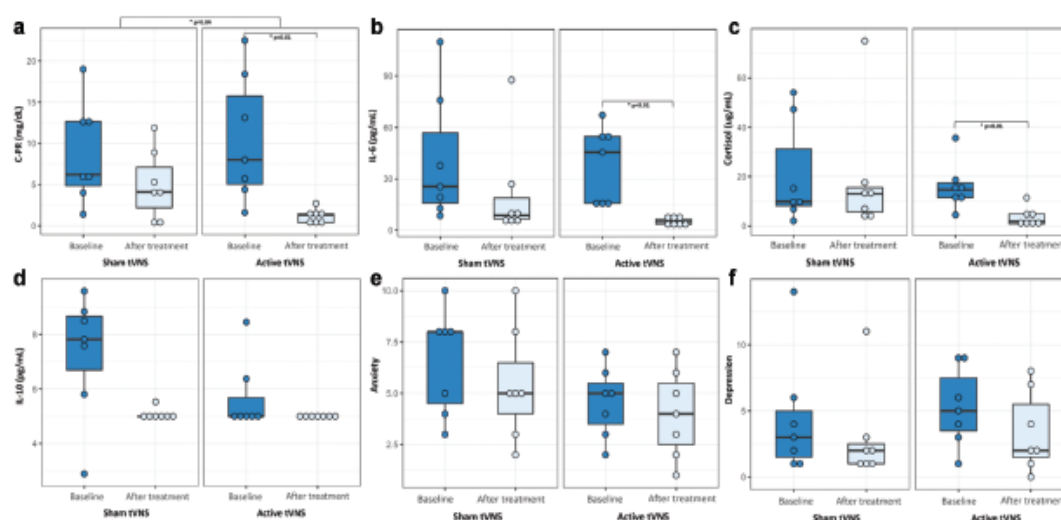


Figure 2. Changes in C-reactive protein (A), IL-6 (B), cortisol (C), IL-10 (D), anxiety (E), and depression (F). Groups: active tVNS (n = 10) and sham tVNS (n = 11).

mortality. There were no statistically significant correlation between depression and anxiety scores with inflammatory markers. No adverse events were reported in either of the groups.

4. Discussion

This study aimed to assess the effects of tVNS on inflammatory markers and clinical outcomes in hospitalized patients with COVID-19. Our data suggest a potential reduction in inflammatory markers after 7 days of stimulation and an increase in the self-reported impression of improvement in the memory and attention domains. However, no significant differences were found in the other clinical features up to the last 14 days of follow-up.

Our results are in agreement with recent case reports of vagus nerve stimulation in patients with COVID-19, such as Staats et al. [31] who followed the clinical symptoms of two patients treated with nVNS for the treatment of respiratory symptoms associated with COVID-19, showing a decrease in these symptoms; however, the stimulation protocol was different from ours, as they stimulated the vagus in the neck and the stimulations were performed by the patient himself in two consecutive periods of 120 seconds of stimulation (one on each side of the neck) given approximately every 3 h while awake. Boezaart & Botha [23] stimulated the conchae of both ears with the anode in one ear and the cathode in the other ear, for 60 minutes a day. As a result, they observed a reduction in blood levels of IL-6 in a relatively short period.

Only one randomized clinical trial was recently performed with treatment by vagus nerve stimulation in hospitalized patients with COVID-19 with satisfactory results for CRP and procalcitonin reduction [25]. However, this study differs from ours in several aspects, as the stimulation was in the region of the cervical vagus nerve, the treatment was performed only 1 day, the outcomes were not all the same, and there was no clinical sign follow-up as in ours, the long term.

However, these findings corroborate with the findings in the literature, which indicate that the vagus nerve plays a relevant role in the metabolic homeostasis regulation and in the control of immune function. This communication between the immune system and the brain is vital for the inflammation control, performed through the inflammatory reflex [15,32].

This physiological mechanism, known as inflammatory reflex, occurs in the presence of innate immune responses and inflammation, during the invasion of pathogens and tissue injury. In this way, the afferent vagus nerve is signaled connecting with brain regions such as the solitary tract nucleus and forebrain. Consequently, the efferent vagus nerve-mediated immunoregulatory output to the spleen, liver, and gastrointestinal tract ultimately suppresses pro-inflammatory cytokines [16].

This reflex, therefore, can be increased or maintained for a longer time by vagus nerve stimulation, which leads to a significant reduction in cytokine production, and attenuation of disease severity. As demonstrated in the study by Borovikova et al. [33], who observed relevant attenuation of cytokine release, inhibition of TNF synthesis in the liver, attenuation of serum TNF peaks and prevention of shock development after stimulating animal models of sepsis. Another study by Kohoutova et al. [34] also demonstrated that vagus nerve stimulation attenuates multiple organ dysfunction in a porcine model of sepsis.

The decrease in CRP in our study in favor of active tVNS compared to sham tVNS, and the reductions in IL-6, CRP, and cortisol in the active group support the idea of a modulation of the vagus nerve-mediated anti-inflammatory reflex [33,35]. We found no difference in IL-10 levels like the original study by Borovikova et al. [33], whose vagus nerve stimulation-induced ACh activation (VNS) did not alter IL-10 levels in a mouse model. However, recent studies [36–40] have shown increased anti-inflammatory factors including IL-10 in animal

and human experiments with VNS. Therefore, we included the measurement of IL-10 because it is still a controversial topic that requires further exploration, especially in acute illnesses.

Regarding the effects of taVNS on clinical symptoms, no significant improvement was found during the study; however, it is known that after the resolution of inflammation, concentrations of inflammatory biomarkers fall faster than clinical improvement [41]. Thus, a longer follow-up is necessary for future studies.

Interestingly, our data suggest potential changes in cognition-related outcomes, which have been associated with persistent cytokine levels and long-term disability [42], suggesting that taVNS may be a beneficial treatment not only in acute care but also in subacute and chronic cases in patients with the post-COVID syndrome. Verbank et al. [24] verified the effect of taVNS in chronic COVID syndrome; as a result, they observed improvement during treatment in symptoms such as fatigue, pain, digestive problems, and cognitive difficulties. However, they did not observe any modification of blood inflammatory factors circulating, invalidating the hypothesis of taVNS effect on a remaining inflammatory state. They suggest that taVNS ameliorates chronic COVID syndrome through a 'sympathetic reset.'

Another study by McIntire et al. [43] that showed that the effects of cervical vagus nerve stimulation on attention corroborate with our findings on this variable. Although their findings were not found in patients with COVID sequelae, as they assessed attention and fatigue in individuals who remained in sleep deprivation for 24 h, we believe this is an important finding for patients who have had COVID-19, as decreased memory and attention have been reported as one of the long-term sequelae to this disease [44].

Vagus nerve stimulation improves cognition and mood by increasing norepinephrine levels, as the vagus nerve innervates the nucleus of the solitary tract, which is connected to the locus coeruleus, the main site of norepinephrine synthesis, thus improving task performance [45]. Importantly, norepinephrine imbalance is also related to depression and anxiety, variables evaluated in this study that showed improvement after active stimulation, but it is necessary to emphasize that depression in these patients may be associated with fear of hospitalization for COVID-19 and the possibility of hospital discharge may have generated this effect of improving symptoms of depression.

Finally, we can infer that this randomized study shows the feasibility and safety of using taVNS in the treatment of hospitalized patients in the acute phase of COVID-19 disease, corroborating the safety record already reported for vagus nerve stimulation [13,46], although a limitation of our study is the small sample size. Thus, we emphasize the importance of studies with larger samples.

5. Conclusions

The taVNS is a viable and safe intervention for COVID-19 that potentially modulates its inflammatory profile and cognitive symptoms. We found no clear evidence that taVNS improved overall clinical outcomes; however, we were unable to detect small effects and cannot rule out a survival or disability benefit due to short follow-up. Whether the modulation of inflammatory

markers correlates with the clinical response to taVNS deserves further study.

Acknowledgments

The authors would like to thank Nove de Julho University for its support in providing the necessary materials and infrastructure to carry out the research. We also thank Renan Tironi Giglio, Elizabeth Akemi Nishio, Ione Paiotti, Rafael Akira Sakugawa Becker, and all the patients who participated in the study, especially Hospital Lygia Storopoli for allowing this research to be carried out."

Authors' contributions

FIC, FF, JCFC, RR designed the study. The data collection, interventions, and recruitment of the participants were performed by FIC, LU, PL, DRGF. The analysis was performed by KPB. The manuscript was prepared by KPB, LCB, and FF, then was revised and edited by JCFC, RR, LU and FIC. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

This paper was not funded.

Declaration of Interest

Laura Uehara and Paulo Leite received a scholarship from the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES) - agency under Notice 88,887.612408/2021-00 and 88,887.613510/2021-00 respectively. The Higher Education Team - Brazil (CAPES) had no role in the study design, data collection, analysis, publication decision or manuscript preparation, or research financial support. The authors have no relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript. This includes employment, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, grants or patents received or pending, or royalties.

Reviewers disclosure

One reviewer declares filing a patent on vagus nerve stimulation in COVID. The peer reviewers on this manuscript have no other relevant financial relationships or otherwise to disclose.

ORCID

Kevin Pacheco-Barrios  <http://orcid.org/0000-0002-7166-2816>

Felipe Fregni  <http://orcid.org/0000-0001-9359-8643>

Fernanda Ishida Corrêa  <http://orcid.org/0000-0001-7321-6257>

References

1. WHO. World Health Organization: Director-general's opening remarks at the media briefing on COVID-19. 2020 [Internet] [cited March 11]. Available from: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19-11-march-2020>
2. Moore JB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science*. 2020;368(1979):473-474.
3. KK-W T, Sridhar S, Chiu KH-Y, et al. Lessons learned 1 year after SARS-CoV-2 emergence leading to COVID-19 pandemic. *Emerg Microbes Infect*. 2021;10(1):507-535.
4. Rhea EM, Logsdon AF, Hansen KM, et al. The S1 protein of SARS-CoV-2 crosses the blood-brain barrier in mice. *Nat Neurosci*. 2021;24(3):368-378.

5. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507–513.
6. Mastitskaya S, Thompson N, Holder D. Selective vagus nerve stimulation as a therapeutic approach for the treatment of ARDS: a rationale for neuro-immunomodulation in COVID-19 disease. *Front Neurosci*. 2021;13(15):667036.
7. Yap JYY, Keatch C, Lambert E, et al. Critical review of transcutaneous vagus nerve stimulation: challenges for translation to clinical practice. *Front Neurosci*. 2020;14:14.
8. Murray AR, Atkinson L, Mahadi MK, et al. The strange case of the ear and the heart: the auricular vagus nerve and its influence on cardiac control. *Auton Neurosci*. 2016;199:48–53.
9. Farmer AD, Strzelczyk A, Finisguerra A, et al. International consensus based review and recommendations for minimum reporting standards in research on transcutaneous vagus nerve stimulation (version 2020). *Front Hum Neurosci*. 2021;23(14):568051.
10. Dietrich S, Smith J, Scherzinger C, et al. A novel transcutaneous vagus nerve stimulation leads to brainstem and cerebral activations measured by functional MRI/Funktionelle Magnetresonanztomographie zeigt Aktivierungen des Hirnstammes und weiterer zerebraler Strukturen unter transkutaner Vagusnervstimulation. *Biomed Tech/ Biomed Eng*. 2008;53(3):104–111.
11. Capone F, Assenza G, Di Pino G, et al. The effect of transcutaneous vagus nerve stimulation on cortical excitability. *J Neural Transm*. 2015;122(5):679–685.
12. van Leusden JWR, Sellaro R, Colzato LS. Transcutaneous vagal nerve stimulation (tVNS): a new neuromodulation tool in healthy humans? *Front Psychol*. 2015;6:6.
13. Redgrave J, Day D, Leung H, et al. Safety and tolerability of transcutaneous vagus nerve stimulation in humans; a systematic review. *Brain Stimul*. 2018;11(6):1225–1238.
14. Clancy JA, Deuchars SA, Deuchars J. The wonders of the wanderer. *Exp Physiol*. 2013;98(1):38–45.
15. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002;420(6917):853–859.
16. Pavlov VA, Chavan SS, Tracey KJ. Molecular and functional neuro-science in immunity. *Annu Rev Immunol*. 2018;36(1):783–812.
17. de Jonge WJ, van der Zanden EP, The FO, et al. Stimulation of the vagus nerve attenuates macrophage activation by activating the Jak2-STAT3 signaling pathway. *Nat Immunol*. 2005;6(8):844–851.
18. Torres-Rosas R, Yehia G, Peña G, et al. Dopamine mediates vagal modulation of the immune system by electroacupuncture. *Nat Med*. 2014;20(3):291–295.
19. Serhan CN, Rosa X, Jouvene C. Novel mediators and mechanisms in the resolution of infectious inflammation: evidence for vagus regulation. *J Intern Med*. 2019;286(3):240–258.
20. Huston JM, Ochan M, Rosas-Ballina M, et al. Splenectomy inactivates the cholinergic antiinflammatory pathway during lethal endotoxemia and polymicrobial sepsis. *J Exp Med*. 2006;203(7):1623–1628.
21. Peña G, Cai B, Ramos L, et al. Cholinergic regulatory lymphocytes re-establish neuromodulation of innate immune responses in sepsis. *J Immunol*. 2011;187(2):718–725.
22. Lerman I, Hauger R, Sorkin L, et al. Noninvasive transcutaneous vagus nerve stimulation decreases whole blood culture-derived cytokines and chemokines: a randomized, blinded, healthy control pilot trial. *Neuromodulation: Technol Neural Interface*. 2016;19(3):283–291.
23. Boezaart AP, Botha DA. Treatment of stage 3 COVID-19 with transcutaneous auricular vagus nerve stimulation drastically reduces interleukin-6 blood levels: a report on two cases. *Neuromodulation: Technol Neural Interface*. 2021;24(1):166–167.
24. Verbanck P, Clarival AM, Burton F, et al. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (tVNS) can reverse the manifestations of the long-covid syndrome: a pilot study. *Adv Neurol Neurosci Res*. 2021;2:1–13.
25. Tornero C, Pastor E, Del M GM, et al. Non-invasive vagus nerve stimulation for COVID-19: results from a randomized controlled trial (SAVIOR I). *Front Neurol*. 2022 Apr 8;13:820864.
26. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*. 2020;8(5):475–481.
27. Umakanthan S, Sahu P, Ranade AV, et al. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgrad Med J*. 2020;96(1142):753–758. BMJ Publishing Group.
28. Zigmond AS, Snaith RP. The Hospital Anxiety and Depression Scale. *Acta Psychiatr Scand*. 1983;67(6):361–370.
29. Botega NJ, Bio MR, Zomignani MA, et al. Transtornos do humor em enfermagem de clínica médica e validação de escala de medida (HAD) de ansiedade e depressão. *Rev Saude Publica*. 1995;29(5):359–363.
30. Guy W. Clinical global impressions. ECDEU. 1976.
31. Staats P, Giannakopoulos G, Blake J, et al. The use of non-invasive vagus nerve stimulation to treat respiratory symptoms associated with COVID-19: a theoretical hypothesis and early clinical experience. *Neuromodulation: Technol Neural Interface*. 2020;23(6):784–788.
32. Andersson U, Tracey KJ. Reflex principles of immunological homeostasis. *Annu Rev Immunol*. 2012;30(1):313–335.
33. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*. 2000;405(6785):458–462.
34. Kohoutova M, Horak J, Jarkovska D, et al. Vagus nerve stimulation attenuates multiple organ dysfunction in resuscitated porcine progressive sepsis. *Crit Care Med*. 2019;47(6):e461–e469.
35. Pavlov VA, Wang H, Czura CJ, et al. The cholinergic anti-inflammatory pathway: a missing link in neuroimmunomodulation. *Mol Med*. 2003;9(5–8):125–134.
36. Chen H, Feng Z, Min L, et al. Vagus nerve stimulation reduces neuroinflammation through microglia polarization regulation to improve functional recovery after spinal cord injury. *Front Neurosci*. 2022 Apr 7;16(813472):1–13.
37. Li S, Qi D, Li J, et al. Vagus nerve stimulation enhances the cholinergic anti-inflammatory pathway to reduce lung injury in acute respiratory distress syndrome via STAT3. *Cell Death Discov*. 2021;7(1):63.
38. Hu W, Wang Y, Cheng B, et al. Protective effect of electrical stimulation of the vagus nerve in lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Mol Med Rep*. 2021;23(5):365.
39. Tsaava T, Datta-Chaudhuri T, Addoriso ME, et al. Specific vagus nerve stimulation parameters alter serum cytokine levels in the absence of inflammation. *Bioelectron Med*. 2020;6(1):8.
40. Seitz T, Szeles JC, Kitzberger R, et al. Percutaneous auricular vagus nerve stimulation reduces inflammation in critical covid-19 patients. *Front Physiol*. 2022 Jul 4;13:897257.
41. Osei-Bimpong A, Meek JH, Lewis SM. ESR or CRP? A comparison of their clinical utility. *Hematology*. 2007;12(4):353–357.
42. Mazza MG, Palladini M, de Lorenzo R, et al. Persistent psychopathology and neurocognitive impairment in COVID-19 survivors: effect of inflammatory biomarkers at three-month follow-up. *Brain Behav Immun*. 2021;94:138–147.
43. McIntire LK, McKinley RA, Goodyear C, et al. Cervical transcutaneous vagal nerve stimulation (ctVNS) improves human cognitive performance under sleep deprivation stress. *Commun Biol*. 2021;4(1):634.
44. Ceban F, Ling S, Lui LMW, et al. Fatigue and cognitive impairment in post-COVID-19 syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. 2022;101:93–135.
45. Sun L, Peräkylä J, Holm K, et al. Vagus nerve stimulation improves working memory performance. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2017;39(10):954–964.
46. Ben-Menachem E. Vagus nerve stimulation, side effects, and long-term safety. *J Clin Neurophysiol*. 2001;18(5):415–418.

APÊNDICE E- ARTIGO PUBLICADO: Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation Improves Inflammation but Does Not Interfere with Cardiac Modulation and Clinical Symptoms of Individuals with COVID-19: A Randomized Clinical Trial (<https://doi.org/10.3390/life12101644>)

Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation Improves Inflammation but Does Not Interfere with Cardiac Modulation and Clinical Symptoms of Individuals with COVID-19: A Randomized Clinical Trial

Fernanda Ishida Corrêa ^{1,*}, Paulo Henrique Leite Souza ¹, Laura Uehara ¹, Raphael Mendes Ritti-Dias ¹, Gustavo Oliveira da Silva ¹, Wellington Segheto ¹, Kevin Pacheco-Barrios ^{2,3}, Felipe Fregni ² and João Carlos Ferrari Corrêa ¹

- ¹ Doctoral and Master's Programs in Rehabilitation Sciences, Nove de Julho University, São Paulo 01525-000, Brazil
- ² Neuromodulation Center and Center for Clinical Research Learning, Spaulding Rehabilitation Hospital and Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02114, USA
- ³ Unidad de Investigación para la Generación y Síntesis de Evidencias en Salud, Universidad San Ignacio de Loyola, Lima 15024, Peru
- * Correspondence: correafe29@gmail.com; Tel.: +55-11-973440380



Citation: Corrêa, F.I.; Souza, P.H.L.; Uehara, L.; Ritti-Dias, R.M.; Oliveira da Silva, G.; Segheto, W.; Pacheco-Barrios, K.; Fregni, F.; Corrêa, J.C.F. Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation Improves Inflammation but Does Not Interfere with Cardiac Modulation and Clinical Symptoms of Individuals with COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *Life* **2022**, *12*, 1644. <https://doi.org/10.3390/life12101644>

Academic Editor:
Andrés Molero-Chamizo, Guadalupe Nathzidy Rivera-Urbina

Received: 19 September 2022
Accepted: 15 October 2022
Published: 19 October 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Transcranial auricular vagus nerve stimulation (taVNS) has shown effectiveness in reducing inflammation and depression. Thus, this study evaluated its effect on inflammation, cardiac autonomic modulation, and clinical symptoms in individuals affected by COVID-19. **Methods:** There were 52 randomized participants hospitalized with COVID-19 diagnosis who were to receive active (a-taVNS) or sham taVNS (s-taVNS) for 90 min twice a day for seven consecutive days. Interleukin 6 (IL-6), 10 (IL-10), cortisol, C-reactive protein (CRP), heart rate variability (HRV), and clinical symptoms were assessed before and after seven days of treatment. There were also seven- and fourteen-day follow-ups for clinical symptoms, including anxiety and depression levels, as well as a six-month follow-up for memory and attention levels. **Results:** There was significant reduction in CRP -23.9% , (95% CI -46.3 to -1.4) and IL-6 -37.7% , (95% CI -57.6 to -17.7) for the a-taVNS group. There were no changes in IL-10, cortisol levels, or in HRV results ($p > 0.05$) in both groups. There were no changes regarding clinical symptoms, except for a significant decrease in depression level (-2.85 , 95% CI -5.44 to -0.27) in the a-taVNS group. **Conclusion:** taVNS showed effects on CRP, IL-6, and depression levels; however, it did not affect other clinical symptoms.

Keywords: COVID-19; vagus nerve stimulation; inflammation; autonomic modulation; clinical symptoms

1. Introduction

The clinical features of COVID-19 vary from an asymptomatic state to a severe clinical status such as pneumonia and death [1]. COVID-19 is associated with an extreme increase in inflammatory cytokines in the blood, known as a cytokine storm [2]. It has also been observed that people with COVID-19 have sympathetic hyperactivity and impaired parasympathetic autonomic signaling that can affect the cardiovascular system [3].

Thus, treatment to minimize inflammation and its clinical effects has been implemented for patients, using corticosteroids and ventilatory support [4,5]. However, complementary therapies have been investigated to potentiate the effects of these treatments, such as transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS).

taVNS is a powerful tool for modulating bodily functions, as the vagus nerve is an important neuroimmunomodulator in inflammatory body processes [6,7]. The use of taVNS for patients diagnosed with COVID-19 was recently researched [8,9], showing its effectiveness for reducing inflammatory marker levels and managing symptoms and

depression. This non-invasive stimulation may also exhibit favorable cardiovascular effects during sepsis [10].

Thus, this study aimed to evaluate the effect of taVNS on inflammation, cardiac autonomic modulation and clinical symptoms, including levels of anxiety, depression, attention, and memory of patients diagnosed with Covid-19.

2. Material and Methods

Participants were randomized (www.randomizer.org) by a researcher not involved in the treatments for 14 sessions of active transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (a-taVNS) or sham transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (s-taVNS) (Appendix A). The participants were blind to the treatment.

The local Ethics Committee for Research on Human Subjects approved this study (CAAE: 46699521.5.0000.5511) in compliance with Resolution 466/12 of the Brazilian National Board of Health. All participants signed an informed consent document before the beginning of the study. The protocol was registered in the Brazilian Registry of Clinical Trials (RBR-399t4g5).

2.1. Participants

Physiotherapists selected as participants adults admitted to Lydia Storópoli Hospital who had been diagnosed with moderate or severe COVID-19. To be included, participants had to have symptoms of COVID-19 within ten days of the beginning of the first evaluation of this research. Individuals who had contraindications for the use of taVNS (cochlear implants and cardiac pacemakers) or who were not conscious enough to consent to taVNS treatment and to respond to the initial questionnaires were not included.

The recruited participants were evaluated for their inflammatory profile, cardiac autonomic modulation, and clinical symptoms before and after the interventions. Seven and fourteen days after the end of the interventions, clinical symptoms (including depression, anxiety, attention, and memory) were reassessed. The level of attention and memory was further monitored during a 6-month follow-up (Figure 1).

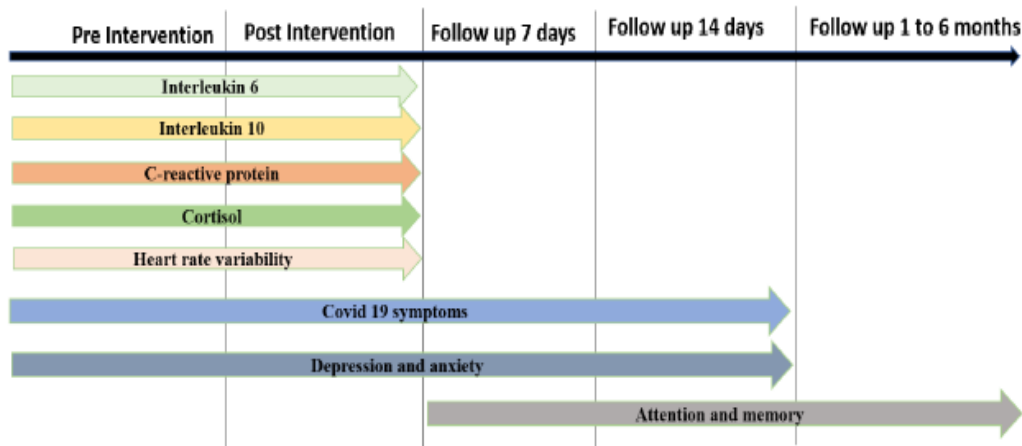


Figure 1. Timeline of Outcome Measures. Source: authors.

2.2. Intervention

2.2.1. Experimental Group

Participants continued to receive usual medical care throughout the study, as prescribed by the hospital physician. In addition, participants in the experimental group received transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) twice a day for seven consecutive days, totaling 14 stimulation sessions, with 90 min of stimulation for each session.

The a-taVNS was applied using a multifunctional transcutaneous neuromuscular electrical stimulator (model Dualpex 071, Quark Produtos Médicos), with a current ranging from 25 Hz to 5 kHz, by series of sine waves, with a pulse of 1 ms. Intensity was adjusted based on the participant's tolerance in order to not cause pain or muscle contractions. One 15 mm electrode was positioned on the tragus [11] from the left ear and another on the left clavicle.

2.2.2. Control Group

Participants continued receiving their usual medical care throughout the study, as prescribed by the hospital physician. For sham stimulation, the same protocol as the a-taVNS was used; however, the equipment remained off.

2.3. Outcome Measures

2.3.1. Primary Outcome Measures—Inflammatory Profile

To obtain the inflammatory profile, 15 mL of blood was taken via vein puncture, always in the morning. It was stored in a tube containing protease inhibitor and EDTA, then centrifuged at 3000 rpm for 15 min at 4 °C. The resulting plasma was transferred to micro centrifuge tubes (1.5 mL) and stored at −80 °C. This sample was later sent for analysis of Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-10 (IL-10), Cortisol, and C-reactive Protein (CRP).

IL-6, IL-10, and cortisol were measured by the Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) method and Chemiluminescent Competitive Immunoassay following the manufacturer's recommendations. The quantitative determination of CRP was performed by nephelometry (Dade-Behring N High Sensitivity CRP).

2.3.2. Secondary Outcomes Measures

Cardiac Autonomic Modulation

Cardiac autonomic modulation was analyzed using heart rate variability (HRV), with a heart rate monitor (V800, Polar Electro, Finland). RR intervals were recorded for 15 min, and those with at least five minutes of the stationary signal were considered valid.

The RR intervals were exported to the Kubios HRV program (Version 2.0, Biosignal Analysis and Medical Imaging Group, Finland) for analysis of the frequency domain (low-frequency-LF, high-frequency-HF, and low-frequency and high-frequency ratio-LF/HF).

Frequency domain parameters were obtained through spectral analysis using the autoregressive method. Analysis of all parameters followed the standards of the Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology [12] and updated recommendations [13].

COVID-19 Clinical Symptoms

To obtain the frequency and intensity of COVID-19 clinical symptoms a questionnaire developed by the authors was applied. The list of symptoms in the questionnaire was based on Yang et al. [14] and Umakanthan et al. [15]. Possible responses were none, mild, moderate, or severe.

Personal information and health condition were collected from participants' medical records. After the end of treatment, if the participants were discharged from the hospital, they were contacted by telephone.

Depression and Anxiety Scale

These variables were assessed by the Hospital Anxiety and Depression Scale [16]; results were classified as unlikely (score 0–7), possible-questionable or doubtful (8–11 points), and probable (12–21 points).

Attention and Memory Levels

A questionnaire adapted from the Clinical Global Impression Scale (CGI) [17] was applied to obtain these data. Possible answers were much better, better, a little better, no change, a little worse, worse, and much worse.

2.4. Data Analysis

The sample size calculation was performed using GPOWER3 Software, with 21 subjects (11 from the s-taVNS and 10 from the a-taVNS). The results of pre-and post-intervention differences of primary (IL-6) and secondary (LF/HF) outcomes were considered for analysis. Considering a power of 80%, an α error of 5%, and an effect size of 1.0403050, the estimated sample size was 26 per group for primary outcomes; for secondary outcomes the estimated sample size was 14 patients per group, considering an effect size of 0.9735431.

Primary outcomes were the difference in CRP, IL-6, IL-10, and cortisol from baseline to the last day of stimulation. Clinical outcomes (anxiety, depression, CGI memory, CGI attention, HRV, duration of hospitalization, and mortality) were considered secondary outcomes.

Baseline characteristics were reported with descriptive statistics for each group. Two-tailed tests were applied in all analyses. A significance level of 0.05 and an intention-to-treat (ITT) analysis were used. To manage missing data, the last observation performed method was employed. The assumption of normality was tested using histograms and the Shapiro-Wilk test.

First, changes in inflammatory mediators were standardized by baseline values using the following formula:

$$\% \text{ of change of inflammatory marker} = \frac{(\text{post treatment value} - \text{Baseline})}{\text{post treatment value}} \times 100$$

Then, generalized linear models with identity functions were implemented to test the change in outcomes across groups (post-treatment–baseline). Unbalanced factors were identified at baseline (vaccination status, anxiety score, sex, and body mass index). These variables were, therefore, included as covariates for adjustment.

Durbin-Watson estimates and Cook's distance values were used for regression diagnostics analysis, such as residual autocorrelation and influential cases. The normality of residuals was assessed using QQ-plots. Homoscedasticity assumptions were visually verified by plotting residuals against predicted values. No correction for multiple comparisons was performed to decrease the risk of type II errors in this exploratory analysis, although the number of multiple comparisons was minimized following a predefined list of outcomes. All analyses were performed in R version 4.2.0. The HF (n.u.) and LF (n.u.) and HF/LF ratio analyzed HRV; analysis was performed using SPSS version 22.0 for Windows. Generalized Estimating Equations analyzed HRV, memory CGI, and attention CGI data. A value of $p < 0.05$ was considered significant.

3. Results

A total of 84 participants admitted to Lydia Storópoli Hospital from May 2021 to December 2021 were screened; 32 participants were excluded, seven for not meeting the eligibility criteria, seven who died during treatment, 16 due to hospital discharge during taVNS treatment, and two due to intubation before the first assessments and randomization. Thus, 52 participants remained for analysis. The participants' demographic data are shown in Table 1.

The a-taVNS group had more male participants than the s-taVNS group; a higher level of anxiety was observed for a-taVNS group participants. Most participants in both groups were overweight. The s-taVNS group had more participants with chronic obstructive pulmonary disease and more who were vaccinated. The groups were equal at baseline to HRV.

They were continuously medicated to reduce the symptoms of COVID-19 during this research and, thus, did not just receive the taVNS treatment. In Appendix B there is information about the medical treatment in use during the trial for both groups. There is no significant difference between them.

Table 1. Demographic Data of Participants Diagnosed with COVID-19 (N = 52).

Variables	a-taVNS (N = 26)	s-taVNS (N = 26)
Participants		
Sex, male <i>n</i> (%)	16 (61%)	10 (38%)
Age (years), mean (SD)	53 (17)	57 (16)
Weight (kg), mean (SD)	83 (13)	86 (17)
Height (m), mean (SD)	1.67 (7)	1.66 (7)
BMI (Kg/m ²), mean (SD)	30 (4)	31 (6)
SBP (mmHg), mean (SD)	124 (17)	126 (29)
DBP (mmHg), mean (SD)	78 (10)	75 (12)
HR (bpm), mean (SD)	83 (13)	80 (16)
IL-6 (pg/mL), mean (SD)	32 (28)	43 (38)
IL-10 (pg/mL), mean (SD)	10 (9)	8 (6)
CRP (mg/dL), mean (SD)	9 (7)	11 (10)
Cortisol (ug/dL), mean (SD)	21 (17)	25 (21)
LF (n.u), mean (SD)	52 (27)	50 (31)
HF (n.u), mean (SD)	48 (27)	50 (31)
HF/LF ratio, mean (SD)	3 (5)	3 (4)
Anxiety, mean (SD)	8 (3)	5 (3)
Depression, mean (SD)	5 (4)	3 (3)
Onset of Symptoms (days), mean (SD)	9 (2)	9 (2)
Death (n)	4	6
Comorbidities		
AH, <i>n</i> (%)	12 (46%)	15 (58%)
Diabetes mellitus, <i>n</i> (%)	7 (27%)	7 (27%)
Obesity, <i>n</i> (%)	11 (42%)	13 (50%)
COPD, <i>n</i> (%)	1 (4%)	7 (27%)
Smokers, <i>n</i> (%)	1 (4%)	1 (4%)
Vaccinated, <i>n</i> (%)	21 (81%)	15 (58%)
<i>Pfizer, n (%)</i>		
1st dose	2 (8%)	1 (4%)
2nd dose	1 (4%)	0 (0%)
<i>CoronaVAC, n (%)</i>		
1st dose	12 (46%)	10 (38%)
2nd dose	9 (35%)	10 (38%)
<i>AstraZeneca, n (%)</i>		
1st dose	6 (23%)	3 (12%)
2nd dose	4 (15%)	2 (8%)
<i>Janssen, n (%)</i>	1 (4%)	1 (4%)

Legend: Values presented in absolute frequency, mean, and standard deviation (SD). BMI (Body mass index), SBP (Systolic blood pressure), DBP (Diastolic blood pressure), HR (Heart Rate), mmHg (millimeter per mercury), IL-6 (Interleukin-6), IL-10 (Interleukin-10), CRP (C-reactive protein), LF (low frequency), HF (high frequency), LF/HF (low frequency and high frequency ratio), bpm (beat per minute), AH (arterial hypertension), COPD (chronic obstructive pulmonary disease).

3.1. Effects of Intervention

3.1.1. Primary Outcome—Inflammatory Profile

There was a significant reduction in CRP (difference between groups = -23.9% , 95% CI -46.3 to -1.4 , $p = 0.038$) and IL-6 (difference between groups = -37.7% , 95% CI -57.6 to -17.7 , $p < 0.001$) percentage post treatment with a-taVNS, after adjusting for unbalanced variables at baseline (vaccination status, anxiety score, sex, and body mass index) (Figure 2).

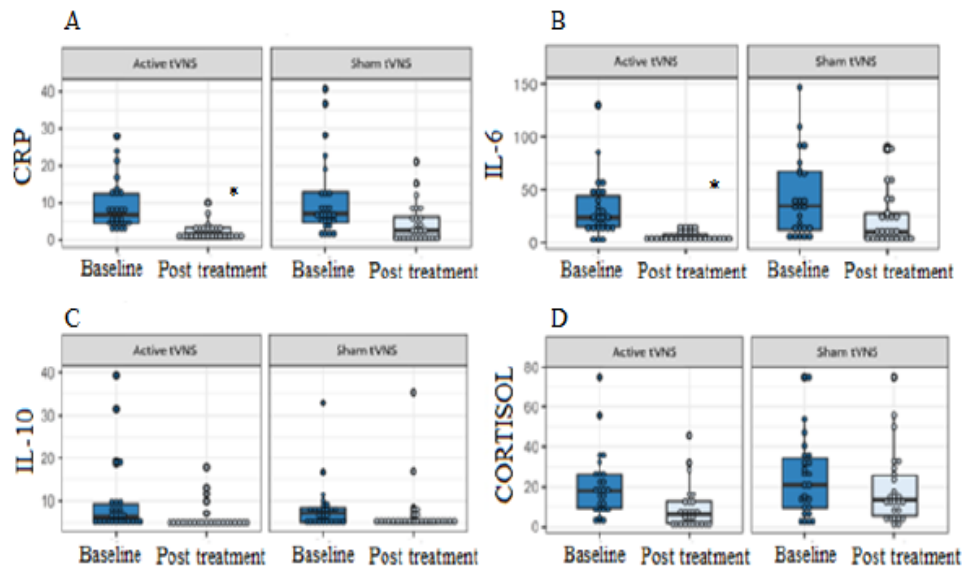


Figure 2. Effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) on CRP (C-reactive protein) levels (A), IL-6 (interleukin 6) (B), IL-10 (interleukin 10) (C), cortisol (D) at baseline and after 14 sessions of taVNS, for groups a-taVNS ($n = 26$) and s-taVNS ($n = 26$). * $p < 0.05$.

3.1.2. Secondary Outcomes

Heart Rate Variability (HRV)

Two participants from the a-taVNS and five participants from the s-taVNS were excluded, as the HR signals were inadequate for analysis; thus, 24 a-taVNS participants and 21 s-taVNS were considered (Figure 3).

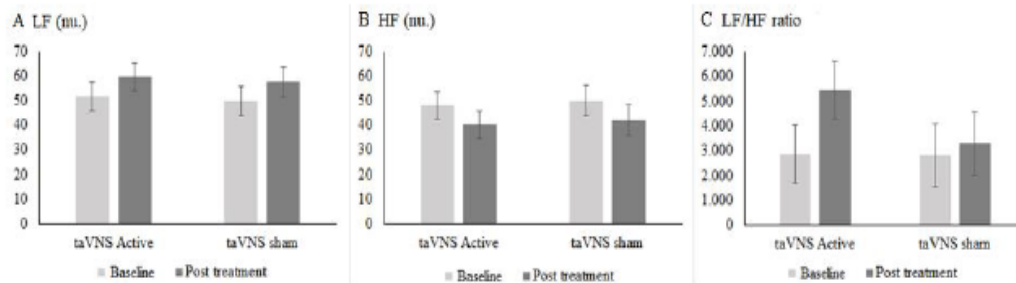


Figure 3. Effects of taVNS at baseline and after 14 sessions of taVNS on the variables LF (Low Frequency) (A); HF (High Frequency) (B); HF/LF (High Frequency and Low Frequency Ratio) (C) for the a-taVNS ($n = 24$) and s-taVNS ($n = 21$) groups. n.u (Standardized Units). Data Expressed as mean and standard deviation (SD), the Generalized Estimating Equations (GEE) test was used.

Figure 3 shows the results of the LF band (n.u), (difference intergroup: 95% IC 40.5 to 62.9) for a-taVNS in pre-treatment vs. post-treatment (95% IC 48.4 to 70.1) and in the s-taVNS, values were (95% IC 37.7 to 61.6) pre-treatment vs. post-treatment (95% IC 45.7 to 69.6). There was no significant difference between groups in post-treatment (95% IC -14.4 to 18.4 , $p = 0.812$).

The pre-treatment HF values (n.u) for the a-taVNS were (95% IC 36.9 to 59.2) vs. post-treatment (95% IC 29.1 to 51.4), and in the s-taVNS, pre-treatment HF was (95% IC 38.0 to 61.9) vs. post-treatment (95% IC 30.1 to 54.0), with no significant difference between the groups in post-treatment (95% IC -18.1 to 14.5 , $p = 0.829$).

The LF/HF values for a-taVNS pre-treatment were (95% IC 566.4 to 5177.6) vs. post-treatment (95% IC 3150.4 to 7759.6), and for s-taVNS pre-treatment LF/HF was (95% IC 332.5 to 5260) vs. post-treatment (95% IC 825.9 to 5753.3), without a significant difference between the groups (95% IC -1208.2 to 5538.0 $p = 0.208$).

Clinical Symptoms

The most frequent initial clinical symptoms for the a-taVNS group were cough, dyspnea, fatigue, and muscle weakness. For the s-taVNS group, those symptoms were cough, dyspnea, migraine, ageusia, fatigue, and muscle weakness. After treatment, there was a decrease in clinical symptoms in both groups, but compared to baseline, the a-taVNS group had more participants with clinical symptoms than the s-taVNS (Figure 4).

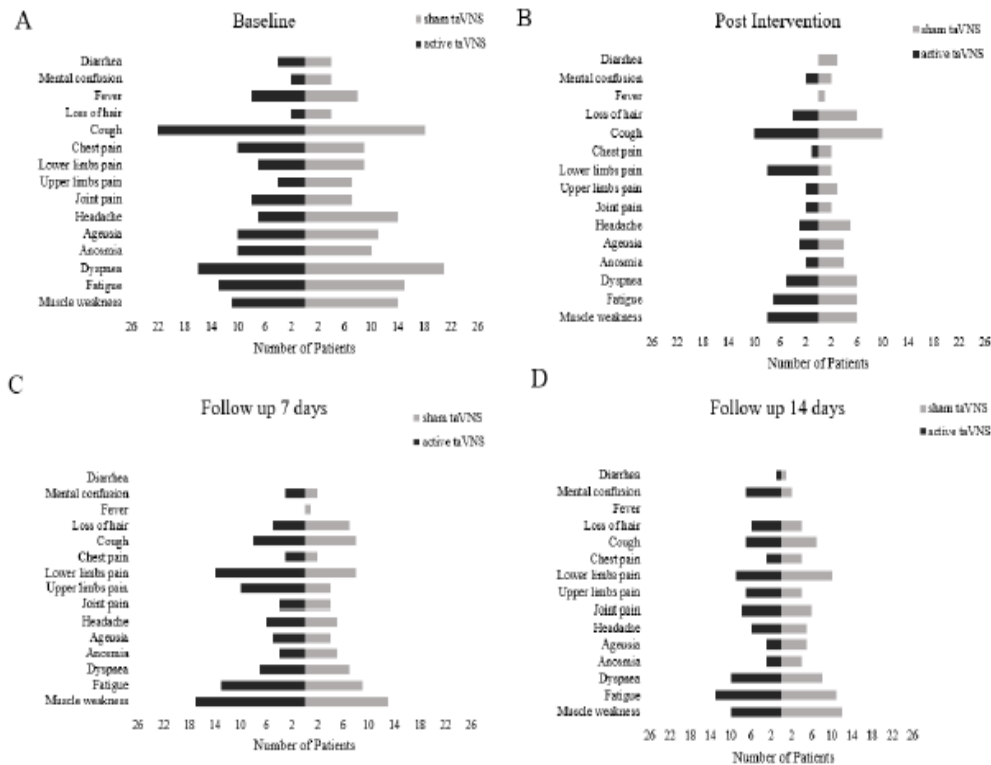


Figure 4. Clinical symptoms of the a-taVNS ($N = 26$) and s-taVNS ($N = 26$) groups pre-treatment (A); post-treatment (B); 7 days of follow-up (C); 14 days of follow-up (D). Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS).

Of the 26 participants who started treatment, only 20 participants per group responded to the questionnaire at follow-up, as the others progressed to intubation.

At the 7-day follow-up, both groups experienced an increase in clinical symptoms. The most frequent clinical symptoms in the a-taVNS group were lower and upper limb pain, fatigue, and muscle weakness; s-taVNS presented cough, pain in lower limbs, fatigue, and muscle weakness. Nineteen participants in the a-taVNS group and 20 in the s-taVNS completed the assessment, as five participants in the a-taVNS group and four in the s-taVNS group remained unconscious, and two participants in each group died.

In the 14-day follow-up, there was a decrease in clinical symptoms, with mental confusion and fatigue being more frequent in the a-taVNS group, and lower limb pain, fatigue, and muscle weakness in the s-taVNS group. In both groups, there was an increase in diarrhea symptoms regarding the seventh day; 20 per group completed the clinical assessment, four

participants in the a-taVNS group and two participants in the s-taVNS group remained unconscious, and six participants died (two from a-taVNS and four from s-taVNS).

Depression and Anxiety

There was a statistically significant reduction in depression in a-taVNS compared to s-taVNS (difference between groups = -2.85 , 95% CI -5.44 to -0.27 , $p = 0.03$), but no changes in anxiety levels (Table 2).

Table 2. Results of Anxiety and Depression Levels. Comparison of Crude and Adjusted Treatment Effects for Unbalanced Variables at Baseline (Vaccination Status, Anxiety Score, Sex, and Body Mass Index).

Variable	a-taVNS (N = 26)				s-taVNS (N = 26)				
	Baseline	Post	Raw Changes within the Group	Adjusted Changes within the Group #	Baseline	Post	Raw Changes within the Group	Adjusted Changes within the Group #	Adjusted Difference between Groups ##
Anxiety	8.00 (3.5)	5.3 (3.7)	-2.7 (4.3)	2.5 (4.6)	5.5 (3.4)	4.7 (4.6)	-1.0 (3.7)	-1.2 (4.6)	-1.27 (-4.1 to 1.5)
Depression	4.6 (4.0)	4.0 (5.0) *	-1.0 (3.8)	-1.8 (4.2)	3.2 (3.0)	3.1 (3.8)	0.2 (3.6)	1.0 (4.2)	-2.85 (-5.4 to -0.3)

Note: Data reported as mean (SD), statistical comparison using multiple linear regression. # Adjusted for unbalanced variables at baseline (vaccination status, anxiety score, sex, and body mass index) (Table 1). ## Adjusted for unbalanced variables at baseline and reported as mean difference (IC 95%). * $p < 0.05$.

Attention and Memory Level

Twenty participants from each group were analyzed because five participants died in the a-taVNS group and one was not contacted for follow-up. In the s-taVNS group, six participants died during follow-up (Table 3).

Table 3. Results from Clinical Global Impression Scale (CGI) Memory and Attention.

Outcome	a-taVNS (N = 20)								s-taVNS (N = 20)								Difference between Groups SD (95% CI)
	7 d	14 d	30 d	60 d	90 d	120 d	150 d	180 d	7 d	14 d	30 d	60 d	90 d	120 d	150 d	180 d	
Memory	4.15 (0.33)	3.95 (0.33)	4 (0.33)	3.45 (0.33)	3.1 (0.33)	3.4 (0.33)	4.05 (0.33)	4.15 (0.33)	4.05 (0.33)	4.10 (0.33)	3.5 (0.33)	3.75 (0.33)	3.9 (0.33)	3.85 (0.33)	3.85 (0.33)	3.95 (0.33)	-0.90 (-0.42 to 0.24)
Attention	3.9 (0.34)	3.9 (0.34)	3.85 (0.34)	3.55 (0.34)	3.35 (0.34)	3.6 (0.34)	4.25 (0.34)	4.3 (0.34)	3.85 (0.34)	3.7 (0.34)	3.5 (0.34)	3.6 (0.34)	3.75 (0.34)	3.8 (0.34)	3.75 (0.34)	3.65 (0.34)	0.14 (-0.20 to 0.47)

Legend: Values expressed as mean and standard deviation (SD); the test used was the Generalized Estimating Equations (GEE) test. d (Days).

There was no statistically significant difference in the attention and memory levels in the follow-up for both groups. During the six-month follow-up, four participants from the a-taVNS group and five from s-taVNS group reported improvement in memory in the fourth month after diagnosis of COVID-19; eight participants from the a-taVNS group and six from s-taVNS group reported memory getting worse after the fourth month.

Regarding attention, eight participants in the a-taVNS group and seven in the s-taVNS group reported improvement after the fourth month following COVID-19 diagnosis, and eight participants in the a-taVNS group and five in the s-taVNS group reported a worsening from the fourth month after COVID-19 diagnosis.

4. Discussion

4.1. Inflammatory Mediators

Our results showed a decrease in CRP and IL-6 levels after taVNS. However, no difference was found in IL-10 and cortisol levels. Tornero et al. [8] observed significant reductions in CRP in participants with COVID-19 who received medical treatment associated with nVNS. However, their participants received two consecutive two-minute sessions of nVNS, three times a day in one day of treatment, whereas our participants received 90 min of

stimulation, two times a day during 7 days. Another study [9] observed a decrease in IL-6 in two patients with COVID-19 after receiving taVNS, with, however, 60 min of stimulation per day, for around 17 days.

Almost all participants in our study had CRP greater than 1.0 mg/d pre-treatment; after treatment, there was a significant decrease in CRP levels, but some participants in both groups still had CRP levels above 1.00 mg/dL post-treatment, which indicates inflammatory processes [18].

The anti-inflammatory effect of VNS has been documented for different diseases, such as Crohn's disease [19], Rheumatoid Arthritis [20], and Sjögren's syndrome [21]. Therefore, using VNS for inflammation treatment appears to be feasible, especially in COVID-19, the main characteristic of which is the inflammatory process. This theoretical concept of the VNS anti-inflammatory effect comes from the fact that inflammation activates the vagus nerves' afferent fibers, which in turn signals the brain about the process, triggering an anti-inflammatory response called the inflammatory reflex [22].

The cholinergic anti-inflammatory pathway (CAP) is the main pathway activated in this response. It innervates the spleen through the efferent vagus nerve, and from the splenic nerve, it relays and acts on macrophages transforming adrenergic stimulation into a cholinergic signal, which exerts an anti-inflammatory effect [23]. Tracey [24] introduced the CAP concept and showed that the $\alpha 7$ subunit of the nicotinic acetylcholine receptor is required for inhibition of Tumor Necrosis Factor release from macrophages. The absence or failure of this mechanism results in excessive inflammatory responses, culminating in chronic conditions [22].

Important data also show that the increase in IL-6 in COVID-19 may be associated with poor prognosis, admission to the Intensive Care Unit, Acute Respiratory Distress Syndrome, respiratory failure, shock, multiple organ dysfunction, and risk of death, being a good marker to monitor these patients [25,26].

In a meta-analysis by Coomes and Haghbayan [26] it was reported that IL-6 levels were 2.9-fold higher in more critically ill patients when compared to milder cases. The same is reported for CRP, as it was observed that higher concentrations of this were associated with lower oxygen saturation, higher temperatures, higher platelet, and white blood cell counts, increased ferritin, and high levels of d-dimer. In addition to increased likelihood of having venous thromboembolism, acute kidney injury, severe illness, and mortality [27].

Similar to our results, Tracey [22] also did not observe the reduction of IL-10 by VNS. Non-inhibition of IL-10 is an advantage, as it is one of the most potent anti-inflammatory cytokines to help fight the COVID-19 cytokine storm [23,24].

Regarding cortisol, there was no difference after taVNS. Cortisol plays a relevant role in the body's metabolic reaction to stress [28]. When its level is high, it can restrict immune responses to prevent excess inflammation [29,30].

4.2. Autonomic Modulation

We found no significant differences in HF, LF, and LF/HF ratio outcomes for both groups. However, satisfactory results of taVNS on autonomic control have already been observed, but in healthy individuals [11].

Monitoring vagal tone in patients with COVID-19 may be essential, as it can be used as a predictive marker of the course of COVID-19 disease. This is because patients with a very low vagal tone at the onset of symptoms may be at high risk of developing a dysregulated pro-inflammatory response during infection, leading to sudden death or transfer to the intensive care unit [11,30].

Annane et al. [31] reported that high concentrations of catecholamines and impaired sympathetic modulation, ordinary in patients with septic shock, suggesting that central autonomic regulatory impairment contributes to circulatory failure. Thus, it is possible that in patients with COVID-19 a dysfunction in autonomic tone for cytokine release syndrome and multiorgan damage are related [32].

It is worth considering that this was the first study documented to date that has evaluated the effect of taVNS on HRV in people hospitalized with COVID-19. This relationship had not been observed with the findings of inflammatory mediators.

4.3. Clinical Symptoms

We found no difference in clinical symptoms after taVNS in both groups. We emphasize that participants were bedridden, which may contribute to increased pain, fatigue, and muscle weakness. The proportion of deaths was similar between the groups. All participants who died had comorbidities and were intubated, with the cause of death reported as COVID-19 infection. For memory and attention, taVNS has already been effectively observed [33]. However, we did not observe differences between the groups, and some participants reported worsening of these variables after the fourth month of diagnosis.

However, Staats et al. [34] reported two cases of patients with COVID-19. In case 1, the patient used nVNS to expedite symptomatic recovery at home after hospital discharge and was able to discontinue the use of opioid medications and cough suppressants; in case 2, the patient experienced immediate and consistent relief from symptoms of chest tightness and shortness of breath, as well as an improved ability to clear the lungs. Tarn et al. [21] observed an improvement in fatigue and immune responses in Sjögren's syndrome after nVNS and Lai et al. [35] reported relief of acute pain for migraine after cervical nVNS.

Although we did not observe major clinical changes between the treated and untreated groups, the literature shows that intense and chronic inflammation can lead to encephalopathy, encephalitis, acute disseminated encephalomyelitis, myelitis, meningitis, ischemic infarctions, or cerebral venous thrombosis [36]. It is noteworthy that the etiology of encephalopathy in COVID-19 is mainly linked to central and peripheral nervous system damage by a cytokine storm, blood clots, or direct damage to specific receptors [37,38].

Furthermore, it has now been well established that both the innate and adaptive immune systems become dysregulated in depressed patients and that controlling inflammation may be of therapeutic benefit [39]. Two meta-analyses showed reliably higher levels of inflammatory markers in depression, namely IL-1 β , IL-6, C-reactive protein (CRP), and TNF- α [40,41].

Thus, based on the psychological impact of the COVID-19 pandemic on psychiatric patients, Guo et al. [42] speak of the importance of targeting the cholinergic anti-inflammatory pathway and modulating brain circuits using taVNS based on what the literature reports on the benefit of the technique to treat COVID-19 and its associated cytokine storm.

Therefore, controlling inflammation may provide an overall long-term therapeutic benefit. This corroborates our findings regarding depression assessed after the end of treatment. Patients in the treated group showed a significant decrease in symptoms of depression when compared to the group not treated with taVNS. Although vagus nerve stimulation has already been approved by the US Food and Drug Administration (FDA) for the treatment of depression [43], it has been applied for the adjunctive treatment of resistant depression [44–46]. This is the first study that has evaluated its effect for depression for hospitalized patients with COVID-19.

In addition to the disease itself being a cause of depression [47], this symptom is the most common mental illness in hospitalized individuals. Studies show that the prevalence of depressive syndrome in hospitalized patients ranges from 15% to 56%. Despite the significant prevalence, depression is generally underdiagnosed and undertreated [48–50].

Thus, Lai et al. [51] report the importance of evidence-based assessments and interventions targeting mental health disorders in COVID-19, as these are scarce and Guo et al. [42] suggest that taVNS can be used as an adjunctive therapy for depressive symptoms during the COVID-19 pandemic; they, however, have not tested the therapy for this population.

The use of taVNS in patients with COVID-19 should still be explored, due to the close relationship between the inflammatory process (a characteristic of COVID-19) and depression. There is evidence showing a sensitivity of the insula and striatum to changes in peripheral inflammation in depression in rodents and humans [52].

In a recent study, CRP level was negatively correlated with amygdala–ventromedial prefrontal cortex connectivity in depressed patients with high levels of inflammation and anxiety symptoms [53]. Nusslock et al. [54] found that higher levels of inflammatory biomarkers were associated with lower connectivities in both the emotional network and the core executive network in urban African American youth, suggesting that inflammation or neuroimmunology may be involved in the pathogenesis of emotional health problems and physical.

These studies show that systemic inflammation is associated with activity in the striatum with reward-related neural and interoceptive circuits and provide evidence of physiological subtypes within depression.

Therefore, depression in COVID-19 may have different causes than resistant depression, which is already treated with taVNS with obvious effects. Thus, there is a need for clinical evidence of the use of taVNS in depression in people with COVID-19.

5. Conclusions

Based on this study's results, taVNS can reduce CRP, IL-6, and depression in patients with COVID-19 but does not interfere in cardiac modulation, COVID-19 clinical symptoms, anxiety, memory, and attention levels.

Author Contributions: F.I.C., F.F., J.C.F.C. and R.M.R.-D. designed the study. Data collection, interventions, and recruitment of participants were performed by F.I.C., L.U., P.H.L.S. The analysis was performed by K.P.-B., G.O.d.S., W.S. and L.U. The manuscript was prepared by P.H.L.S. and L.U., then was revised and edited by J.C.F.C., R.M.R.-D. and F.I.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel, CAPES, acronym in Portuguese) with funding from the second and third authors [Grant numbers 88887.613510/2021-00 and 88887.612408/2021-00 respectively].

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Human Ethics Committee of the Nove de Julho University (CAAE: 46699521.5.0000.5511) in compliance with Resolution 466/12 of the Brazilian National Board of Health. Participants gave written informed consent before data collection began. The protocol was registered by the Brazilian Registry of Clinical Trials (RBR-399t4g5).

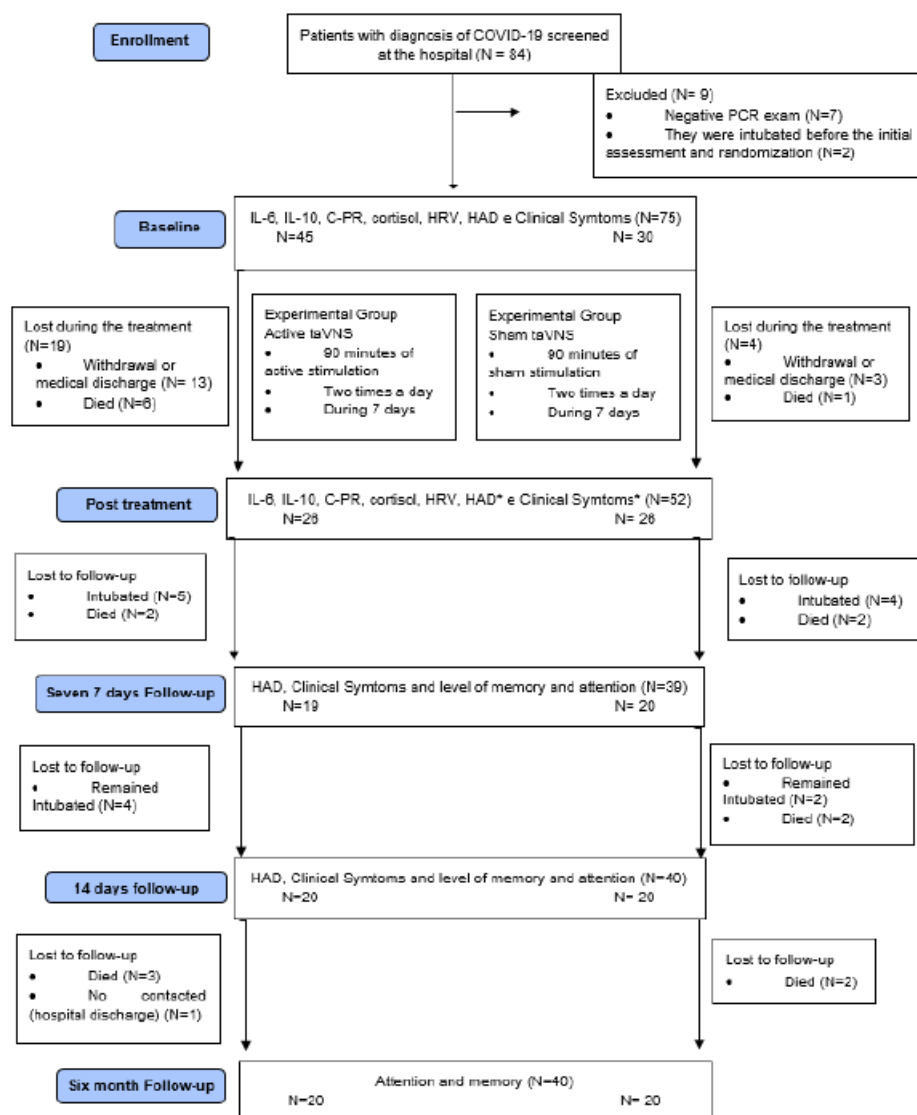
Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: We are grateful to Lygia Storopoli Hospital for allowing us to conduct this research and Nove de Julho University for supporting with the materials.

Conflicts of Interest: The study was supported by Nove de Julho University. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results. Fregni has NIH grants and is a consultant for “Neurive Co”.

Appendix A



Study flowchart. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS); Interleukin 6 (IL-6); Interleukin 10 (IL-10); C-reactive protein (CRP); Heart rate variability (HRV); Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD). * Analysis 1: 26 participants had their blood collected for the analysis of inflammatory markers and had their heart rate variability analyzed. For the assessment of HAD and clinical symptoms, 20 participants answered the questionnaire, since six of them were intubated in both groups.

Appendix B Medications Intake during Trial (n = 52)

Medication	s-taVNS (n = 26) Number (%)	a-taVNS (n = 26) Number (%)	p-Value
Antibiotics	20 (76.9)	23 (88.5)	0.23
Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)	12 (46.2)	18 (69.2)	0.09
Corticosteroids	24 (92.3)	25 (96.2)	0.54
Anticoagulants	21 (80.8)	25 (96.2)	0.07
Antihypertensives	21 (80.8)	26 (100.0)	0.08
Bronchodilator	8 (30.8)	13 (50.0)	0.16
Triglyceride Lowering Drugs	3 (11.5)	6 (23.1)	0.30
Antihistaminic	1 (3.8)	8 (30.8)	0.06
Anesthetic drugs	22 (84.6)	26 (100.0)	0.06
Antithyroid drugs	1 (3.8)	3 (11.5)	0.29
Analgesic	12 (46.2)	17 (65.4)	0.16
Hypoglycemic drugs	10 (38.5)	16 (61.5)	0.09
Vasopressors	6 (23.1)	12 (46.2)	0.08
Gastrointestinal drugs *	10 (38.5)	26 (100.0)	0.001
Antipsychotics	4 (15.4)	6 (23.1)	0.46
Expectorants	0 (0.0)	2 (7.7)	0.17
Antidepressants	2 (7.7)	3 (11.5)	0.63
Antifungal drugs	1 (3.8)	5 (19.2)	0.09
Uric acid lowering agent	0 (0.0)	2 (7.7)	0.14
Antiepileptics	0 (0.0)	2 (7.7)	0.14
Antisepsics	0 (0.0)	1 (3.8)	0.30

* laxants, antiflatulent, or proton pump inhibitor.

References

- Huang, C.; Xu, X.; Cai, Y.; Ge, Q.; Zeng, G.; Li, X.; Zhang, W.; Ji, C.; Yang, L. Mining the Characteristics of COVID-19 Patients in China: Analysis of Social Media Posts. *J. Med. Int. Res.* **2020**, *22*, e19087. [CrossRef] [PubMed]
- Zhou, F.; Yu, T.; Du, R.; Fan, G.; Liu, Y.; Liu, Z.; Xiang, J.; Wang, Y.; Song, B.; Gu, X.; et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: A retrospective cohort study. *Lancet* **2020**, *395*, 1054–1062. [CrossRef]
- Kaniusas, E.; Szeles, J.C.; Kampusch, S.; Alfageme-Lopez, N.; Yucumá, D.; Li, X.; Mayol, J.; Neumayer, C.; Papa, M.; Panetsos, F. Non-invasive Auricular Vagus Nerve Stimulation as a Potential Treatment for Covid19-Originated Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front. Physiol.* **2020**, *11*, 890. [CrossRef] [PubMed]
- Wu, C.; Chen, X.; Cai, Y.; Xia, J.; Zhou, X.; Xu, S.; Huang, H.; Zhang, L.; Zhou, X.; Du, C.; et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern. Med.* **2020**, *180*, 934–943, Erratum in *JAMA Intern. Med.* **2020**, *180*, 1031. [CrossRef] [PubMed]
- Liu, Y.; Li, J.; Feng, Y. Critical care response to a hospital outbreak of the 2019-nCoV infection in Shenzhen, China. *Crit. Care* **2020**, *24*, 56. [CrossRef] [PubMed]
- Beekwilder, J.P.; Beems, T. Overview of the Clinical Applications of Vagus Nerve Stimulation. *J. Clin. Neurophysiol.* **2010**, *27*, 130–138. [CrossRef] [PubMed]
- Sinkovec, M.; Trobec, R.; Meglic, B. Cardiovascular responses to low-level transcutaneous vagus nerve stimulation. *Auton. Neurosci.* **2021**, *236*, 102851. [CrossRef]
- Tornero, C.; Pastor, E.; Garzando, M.D.M.; Orduña, J.; Forner, M.J.; Bocigas, I.; Cedeño, D.L.; Vallejo, R.; McClure, C.K.; Czura, C.J.; et al. Non-invasive Vagus Nerve Stimulation for COVID-19: Results From a Randomized Controlled Trial (SAVIOIR I). *Front. Neurol.* **2022**, *13*, 820864. [CrossRef]
- Boezaart, A.P.; Botha, D.A. Treatment of Stage 3 COVID-19 With Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation Drastically Reduces Interleukin-6 Blood Levels: A Report on Two Cases. *Neuromodulation Technol. Neural Interface* **2020**, *24*, 166–167. [CrossRef]
- Zuanetti, G.; De Ferrari, G.M.; Priori, S.G.; Schwartz, P.J. Protective effect of vagal stimulation on reperfusion arrhythmias in cats. *Circ. Res.* **1987**, *61*, 429–435. [CrossRef]
- Clancy, J.A.; Mary, D.A.; Witte, K.K.; Greenwood, J.P.; Deuchars, S.A.; Deuchars, J. Non-invasive Vagus Nerve Stimulation in Healthy Humans Reduces Sympathetic Nerve Activity. *Brain Stimul.* **2014**, *7*, 871–877. [CrossRef]

12. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation and Clinical Use. *Circulation* **1996**, *93*, 1043–1065. [\[CrossRef\]](#)
13. Plaza-Florido, A.; Alcantara, J.M.; Amaro-Gahete, F.J.; Sacha, J.; Ortega, F.B. Cardiovascular Risk Factors and Heart Rate Variability: Impact of the Level of the Threshold-Based Artefact Correction Used to Process the Heart Rate Variability Signal. *J. Med. Syst.* **2020**, *45*, 2. [\[CrossRef\]](#)
14. Yang, X.; Yu, Y.; Xu, J.; Shu, H.; Xia, J.; Liu, H.; Wu, Y.; Zhang, L.; Yu, Z.; Fang, M.; et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: A single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir. Med.* **2020**, *8*, 475–481. [\[CrossRef\]](#)
15. Umakanthan, S.; Sahu, P.; Ranade, A.V.; Bukelo, M.M.; Rao, J.S.; Abrahao-Machado, L.F.; Dahal, S.; Kumar, H.; Dhananjaya, K.V. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgrad. Med. J.* **2020**, *96*, 753–758.
16. Botega, N.J.; Pondé, M.P.; Medeiros, P.; Lima, M.G.; Guerreiro, C.A.M. Validação da escala hospitalar de ansiedade e depressão (HAD) em pacientes epilépticos ambulatoriais. *J. Bras Psiquiatr.* **1998**, *47*, 285–289.
17. Guy, W. *ECDEU Assessment Manual For Psychopharmacology Revised*; US Department of Health, Education, and Welfare Publication (ADM): Rockville, MD, USA, 1976; pp. 76–338.
18. Sproston, N.R.; Ashworth, J.J. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front. Immunol.* **2018**, *9*, 754. [\[CrossRef\]](#)
19. Sinniger, V.; Pellissier, S.; Fauvel, F.; Trocmé, C.; Hoffmann, D.; Vercueil, L.; Cracowski, J.; David, O.; Bonaz, B. A 12-month pilot study outcomes of vagus nerve stimulation in Crohn's disease. *Neurogastroenterol. Motil.* **2020**, *32*, e13911. [\[CrossRef\]](#)
20. Koopman, F.A.; Chavan, S.S.; Miljko, S.; Grazio, S.; Sokolovic, S.; Schuurman, P.R.; Mehta, A.D.; Levine, Y.A.; Faltyts, M.; Zitnik, R.; et al. Vagus nerve stimulation inhibits cytokine production and attenuates disease severity in rheumatoid arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2016**, *113*, 8284–8289. [\[CrossRef\]](#)
21. Tam, J.; Legg, S.; Mitchell, S.; Simon, B.; Ng, W.-F. The Effects of Noninvasive Vagus Nerve Stimulation on Fatigue and Immune Responses in Patients With Primary Sjögren's Syndrome. *Neuromodulation Technol. Neural Interface* **2018**, *22*, 580–585. [\[CrossRef\]](#)
22. Tracey, K.J. The inflammatory reflex. *Nature* **2002**, *420*, 853–859. [\[CrossRef\]](#)
23. Hu, J.; Liu, S.; Ma, T. Research progress of exploring the treatment of sepsis based on cholinergic anti-inflammatory pathway. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* **2021**, *33*, 122–125.
24. Tracey, K.J. Reflex control of immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **2009**, *9*, 418–428. [\[CrossRef\]](#)
25. García, L.F. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, 1441. [\[CrossRef\]](#)
26. Coomes, E.A.; Haghighyan, H. Interleukin-6 in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Rev. Med. Virol.* **2020**, *30*, 1–9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Smilowitz, N.R.; Kunichoff, D.; Garshick, M.; Shah, B.; Pillinger, M.; Hochman, J.S.; Berger, J.S. C-reactive protein and clinical outcomes in patients with COVID-19. *Eur. Heart J.* **2021**, *42*, 2270–2279. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Jones, C.; Gwenin, C. Cortisol level dysregulation and its prevalence—Is it nature's alarm clock? *Physiol. Rep.* **2021**, *8*, e14644. [\[CrossRef\]](#)
29. Lerman, L.; Hauger, R.; Sorkin, L.; Proudfoot, J.; Davis, B.; Huang, A.; Lam, K.; Simon, B.; Baker, D.G. Noninvasive Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation Decreases Whole Blood Culture-Derived Cytokines and Chemokines: A Randomized, Blinded, Healthy Control Pilot Trial. *Neuromodulation Technol. Neural Interface* **2016**, *19*, 283–291. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Mol, M.B.A.; Strous, M.T.A.; van Osch, F.H.M.; Vogelaar, F.J.; Barten, D.G.; Farchi, M.; Foudraïne, N.A.; Gidron, Y. Heart-rate-variability (HRV), predicts outcomes in COVID-19. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0258841. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Annane, D.; Trarbold, F.; Sharshar, T.; Jarrin, I.; Blanc, A.S.; Raphael, J.C.; Gajdos, P. Inappropriate Sympathetic Activation at Onset of Septic Shock. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1999**, *160*, 458–465. [\[CrossRef\]](#)
32. Ghosh, R.; Roy, D.; Sengupta, S.; Benito-León, J. Autonomic dysfunction heralding acute motor axonal neuropathy in COVID-19. *J. NeuroVirol.* **2020**, *26*, 964–966. [\[CrossRef\]](#)
33. Kong, J.; Fang, J.; Park, J.; Li, S.; Rong, P. Treating Depression with Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation: State of the Art and Future Perspectives. *Front. Psychiatry* **2018**, *9*, 20. [\[CrossRef\]](#)
34. Staats, P.; Giannakopoulos, G.; Blake, J.; Liebler, E.; Levy, R.M. The Use of Non-invasive Vagus Nerve Stimulation to Treat Respiratory Symptoms Associated With COVID-19: A Theoretical Hypothesis and Early Clinical Experience. *Neuromodulation Technol. Neural Interface* **2020**, *23*, 784–788. [\[CrossRef\]](#)
35. Lai, Y.-H.; Huang, Y.-C.; Huang, L.-T.; Chen, R.-M.; Chen, C. Cervical Noninvasive Vagus Nerve Stimulation for Migraine and Cluster Headache: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuromodulation Technol. Neural Interface* **2020**, *23*, 721–731. [\[CrossRef\]](#)
36. Paterson, R.W.; Brown, R.L.; Benjamin, L.; Nortley, R.; Wiethoff, S.; Bharucha, T.; Jayaseelan, D.L.; Kumar, G.; Raftopoulos, R.E.; Zambrenu, L.; et al. The emerging spectrum of COVID-19 neurology: Clinical, radiological and laboratory findings. *Brain* **2020**, *143*, 3104–3120. [\[CrossRef\]](#)
37. Kremer, S.; Lersy, F.; De Sèze, J.; Ferré, J.C.; Maamar, A.; Carsin-Nicol, B.; Collange, O.; Bonneville, F.; Adam, G.; Martin-Blondel, G.; et al. Brain MRI Findings in Severe COVID-19: A Retrospective Observational Study. *Radiology* **2020**, *297*, E242–E251. [\[CrossRef\]](#)
38. Bridwell, R.; Long, B.; Gottlieb, M. Neurologic complications of COVID-19. *Am. J. Emerg. Med.* **2020**, *38*, 1549.e3–1549.e7. [\[CrossRef\]](#)

39. Beurel, E.; Toups, M.; Nemeroff, C.B. The Bidirectional Relationship of Depression and Inflammation: Double Trouble. *Neuron* **2020**, *107*, 234–256. [\[CrossRef\]](#)
40. Dowlati, Y.; Herrmann, N.; Swardfager, W.; Liu, H.; Sham, L.; Reim, E.K.; Lanctôt, K.L. A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression. *Biol. Psychiatry* **2010**, *67*, 446–457. [\[CrossRef\]](#)
41. Howren, M.B.; Lamkin, D.M.; Suls, J. Associations of Depression With C-Reactive Protein, IL-1, and IL-6: A Meta-Analysis. *Psychosom. Med.* **2009**, *71*, 171–186. [\[CrossRef\]](#)
42. Guo, Z.-P.; Sörös, P.; Zhang, Z.-Q.; Yang, M.-H.; Liao, D.; Liu, C.-H. Use of Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation as an Adjuvant Therapy for the Depressive Symptoms of COVID-19: A Literature Review. *Front. Psychiatry* **2021**, *12*, 765106. [\[CrossRef\]](#)
43. Farmer, A.D.; Strzelczyk, A.; Finisguerra, A.; Gourine, A.V.; Gharabaghi, A.; Hasan, A.; Burger, A.M.; Jaramillo, A.M.; Mertens, A.; Majid, A.; et al. International Consensus Based Review and Recommendations for Minimum Reporting Standards in Research on Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation (Version 2020). *Front. Hum. Neurosci.* **2021**, *14*, 568051. [\[CrossRef\]](#)
44. Daban, C.; Martinez-Aran, A.; Cruz, N.; Vieta, E. Safety and efficacy of Vagus Nerve Stimulation in treatment-resistant depression. A systematic review. *J. Affect. Disord.* **2008**, *110*, 1–15. [\[CrossRef\]](#)
45. Fang, J.; Rong, P.; Hong, Y.; Fan, Y.; Liu, J.; Wang, H.; Zhang, G.; Chen, X.; Shi, S.; Wang, L.; et al. Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation Modulates Default Mode Network in Major Depressive Disorder. *Biol. Psychiatry* **2015**, *79*, 266–273. [\[CrossRef\]](#)
46. Nemeroff, C.B.; Mayberg, H.S.; E Kahl, S.; McNamara, J.; Frazer, A.; Henry, T.; George, M.S.; Charney, D.S.; Brannan, S.K. VNS Therapy in Treatment-Resistant Depression: Clinical Evidence and Putative Neurobiological Mechanisms. *Neuropsychopharmacology* **2006**, *31*, 1345–1355. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Guo, J.; Feng, X.L.; Wang, X.H.; Van Ijzendoorn, M.H. Coping with COVID-19: Exposure to COVID-19 and Negative Impact on Livelihood Predict Elevated Mental Health Problems in Chinese Adults. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 3857. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
48. Botega, N.J.; Zomignani, M.A.; Garcia Junior, C.; Bio, M.R.; Pereira, W.A.B. Morbidade psiquiátrica no hospital geral: Utilização da edição revisada da “Clinical Interview Schedule-CIS-R”. *ABP-APAL* **1994**, *16*, 5762.
49. Deitos, T.F.H.; Nascimento, C.A.M.D.; Noal, M.H.O. Depressão no hospital geral: Uma revisão bibliográfica. *J. Bras. De Psiquiatr.* **1992**, *7*, 327–331.
50. Evans, D.L.; Charney, D.S.; Lewis, L.; Golden, R.N.; Gorman, J.M.; Krishnan, K.R.R.; Nemeroff, C.B.; Bremner, J.D.; Carney, R.M.; Coyne, J.C.; et al. Mood Disorders in the Medically Ill: Scientific Review and Recommendations. *Biol. Psychiatry* **2005**, *58*, 175–189. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
51. Lai, J.; Ma, S.; Wang, Y.; Cai, Z.; Hu, J.; Wei, N.; Wu, J.; Du, H.; Chen, T.; Li, R.; et al. Factors associated with mental health outcomes among health care workers exposed to coronavirus disease 2019. *JAMA Netw. Open* **2020**, *3*, e203976. [\[CrossRef\]](#)
52. Harrison, N.A. Brain Structures Implicated in Inflammation-Associated Depression. *Inflamm. Assoc. Depress. Evid. Mech. Implic.* **2016**, *31*, 221–248. [\[CrossRef\]](#)
53. Mehta, N.D.; Haroon, E.; Xu, X.; Woolwine, B.J.; Li, Z.; Felger, J.C. Inflammation negatively correlates with amygdala-ventromedial prefrontal functional connectivity in association with anxiety in patients with depression: Preliminary results. *Brain Behav. Immun.* **2018**, *73*, 725–730. [\[CrossRef\]](#)
54. Nusslock, R.; Brody, G.H.; Armstrong, C.C.; Carroll, A.L.; Sweet, L.H.; Yu, T.; Barton, A.W.; Hallowell, E.S.; Chen, E.; Higgins, J.P.; et al. Higher Peripheral Inflammatory Signaling Associated With Lower Resting-State Functional Brain Connectivity in Emotion Regulation and Central Executive Networks. *Biol. Psychiatry* **2019**, *86*, 153–162. [\[CrossRef\]](#)

10. ANEXOS

ANEXO 1 – ESCALA HAD - AVALIAÇÃO DO NÍVEL DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO (Zigmond e Snaith, 1995)

DADOS PESSOAIS			
NOME			
ORIENTAÇÕES PARA REALIZAÇÃO DO TESTE			
Assinale com “X” a alternativa que melhor descreve sua resposta a cada questão.			
1. Eu me sinto tensa (o) ou contraída (o):			
() a maior parte do tempo[3]	() boa parte do tempo[2]	() de vez em quando[1]	() nunca [0]
2. Eu ainda sinto que gosto das mesmas coisas de antes:			
() sim, do mesmo jeito que antes [0]	() não tanto quanto antes [1]	() só um pouco [2]	() já não consigo ter prazer em nada [3]
3. Eu sinto uma espécie de medo, como se alguma coisa ruim fosse acontecer			
() sim, de jeito muito forte [3]	() sim, mas não tão forte [2]	() um pouco, mas isso não me preocupa [1]	() não sinto nada disso[1]
4. Dou risada e me divirto quando vejo coisas engraçadas			
() do mesmo jeito que antes[0]	() atualmente um pouco menos[1]	() atualmente bem menos[2]	() não consigo mais[3]
5. Estou com a cabeça cheia de preocupações			
() a maior parte do tempo[3]	() boa parte do tempo[2]	() de vez em quando[1]	() raramente[0]
6. Eu me sinto alegre			
() nunca[3]	() poucas vezes[2]	() muitas vezes[1]	() a maior parte do tempo[0]
7. Consigo ficar sentado à vontade e me sentir relaxado:			
() sim, quase sempre[0]	() muitas vezes[1]	() poucas vezes[2]	() nunca[3]
8. Eu estou lenta (o) para pensar e fazer coisas:			
() quase sempre[3]	() muitas vezes[2]	() poucas vezes[1]	() nunca[0]
9. Eu tenho uma sensação ruim de medo, como um frio na barriga ou um aperto no estômago:			
() nunca[0]	() de vez em quando[1]	() muitas vezes[2]	() quase sempre[3]
10. Eu perdi o interesse em cuidar da minha aparência:			
() completamente[3]	() não estou mais me cuidando como eu deveria[2]	() talvez não tanto quanto antes[1]	() me cuido do mesmo jeito que antes[0]
11. Eu me sinto inquieta (o), como se eu não pudesse ficar parada (o) em lugar nenhum:			
() sim, demais[3]	() bastante[2]	() um pouco[1]	() não me sinto assim[0]
12. Fico animada (o) esperando animado as coisas boas que estão por vir			
() do mesmo jeito que antes[0]	() um pouco menos que antes[1]	() bem menos do que antes[2]	() quase nunca[3]
13. De repente, tenho a sensação de entrar em pânico:			
() a quase todo momento[3]	() várias vezes[2]	() de vez em quando[1]	() não senti isso[0]
14. Consigo sentir prazer quando assisto a um bom programa de televisão, de rádio ou quando leio alguma coisa:			

() quase sempre[0]	() várias vezes[1]	() poucas vezes[2]	() quase nunca[3]
RESULTADO DO TESTE			
OBSERVAÇÕES:			
Ansiedade: [] questões (1,3,5,7,9,11,13) Depressão: [] questões (2,4,6,8,10,12 e 14)		Escore: 0 – 7 pontos: improvável 8 – 11 pontos: possível – (questionável ou duvidosa) 12 – 21 pontos: provável	
NOME RESPONSÁVEL PELA APLICAÇÃO DO TESTE			
DATA			

Referências:

Zigmond, A.S.7 Snaith,R.P.The Hospital Anxiety and Depression Scale.Acta Psychiatrica Scandinavica 1983; 67,361 -370

Botega NJ, Bio MR, Zomignani MA, Garcia JR C, Pereira WAB. Transtornos do humor em enfermaria de clínica médica e validação de escala de medida (HAD) de ansiedade e depressão. Revista de Saúde Pública, 29(5): 355-63, 1995.

ANEXO 2 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE NOVE DE
JULHO - UNINOVE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: EFEITO DA ESTIMULAÇÃO DO NERVO VAGO NA INFLAMAÇÃO, MODULAÇÃO AUTÔNOMICA CARDÍACA E EVOLUÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES COM COVID-19: ESTUDO CLÍNICO, CONTROLADO, CEGO E RANDOMIZADO

Pesquisador: Fernanda Ishida Corrêa

Área Temática:

Versão: 9

CAAE: 46699521.5.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.164.286

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1870568_E3, de 07/12/2021).

Resumo:

Objetivos: Avaliar o efeito da estimulação não invasiva do nervo vago (nVNS) na inflamação, modulação autonômica cardíaca e evolução clínica de pacientes com COVID-19. **Delineamento:** ensaio clínico randomizado, cego e controlado por sham, no qual 52 indivíduos hospitalizados por COVID-19 serão randomizados para receber os cuidados usuais mais nVNS ou apenas cuidados usuais. A estimulação será aplicada sobre o tragus esquerdo (corrente alternada variando de 5 kHz a 25Hz, intensidade variando de 0,5 - 8 mA, por um período de 90 minutos pela manhã e 90 minutos à tarde / noite, por 7 dias consecutivos). Os desfechos serão a análise de interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), cortisol, PCR, modulação autonômica cardíaca, pressão arterial e responsividade simpática, as quais serão avaliados antes e após 7 dias de intervenção. Após 7 e 14 dias do término das intervenções será avaliada a evolução clínica dos pacientes (dias de internação, evolução dos parâmetros clínicos e ocorrência dos desfechos) por meio de prontuários e exames e questionário a ser aplicado ao paciente pessoalmente, se ainda estiver internado ou

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

E-mail: comitedeetica@uninove.br



UNIVERSIDADE NOVE DE
JULHO - UNINOVE



Continuação do Parecer: 5.164.286

por contato telefônico, se tiver recebido alta. Será solicitado que responda no primeiro, oitavo e décimo quarto dia um questionário para avaliar nível de depressão e ansiedade (Escala HAD). Conclusão: A nVNS diminui a liberação de citocinas inflamatórias, sugerindo que a técnica pode ser um tratamento antiinflamatório eficaz para indivíduos com COVID-19.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito da estimulação não invasiva do nervo vago na inflamação, modulação autonômica cardíaca e evolução clínica dos pacientes com COVID-19.

Objetivo Secundário:

Avaliar os efeitos de 7 sessões de estimulação não invasiva do nervo vago na IL-6, IL-10, cortisol e proteína C reativa quantitativa (PCR) de pacientes com COVID-19. Avaliar os efeitos de 7 sessões de estimulação não invasiva do nervo vago na modulação autonômica cardíaca, pressão arterial e responsividade simpática de pacientes com COVID-19. Avaliar a evolução dos pacientes 7 e 14 dias após o fim da estimulação não invasiva do nervo vago. Avaliar o nível de ansiedade e depressão pré, pós 7 sessões (8o dia) de estimulação não invasiva do nervo vago, e após 7 e 14 dias após o término das intervenções.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos apresentados por esse estudo são baixos. Todos os testes e procedimentos são usados em vários estudos e bem tolerados. A estimulação elétrica pode apresentar pequenos efeitos colaterais mínimos como vermelhidão no local da estimulação, você sentirá apenas um formigamento leve quando o equipamento for ligado, significa que está passando corrente, e a intensidade da corrente será aplicada de acordo com a sua tolerância. Esse formigamento pode ir diminuindo ao longo da estimulação tornando-se até mesmo imperceptível. Você receberá estimulação no próprio leito. Durante a medida dos batimentos cardíacos do seu coração você poderá sentir um desconforto, pois pediremos que você fique em repouso, sem conversar e sem se mexer bruscamente por 20 minutos, o que poderá trazer uma sensação de aflição. Na medida da pressão arterial, a braçadeira quando inflada pode apertar e trazer desconforto, mas a medida é breve e o aperto tolerável para a maioria das pessoas. As coletas de sangue para análise de alguns marcadores da inflamação (substâncias que dizem se há presença de inflamação) já serão parte de sua rotina hospitalar, os cuidados serão aqueles rotineiros do hospital, com pessoas da área da saúde treinadas para as coletas. O questionário será aplicado enquanto estiverem presentes no

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

E-mail: comitedeetica@uninove.br



UNIVERSIDADE NOVE DE
JULHO - UNINOVE



Continuação do Parecer: 5.164.286

local apenas o pesquisador e você, de forma que evite que você fique constrangido em responder a alguma pergunta diante de outros profissionais/pessoas não envolvidas nesta pesquisa. O seu nome e dados que possam te identificar serão mantidos em sigilo.

Benefícios:

Apesar de haver evidências que a estimulação do nervo vago reduz o processo inflamatório em outras doenças, até o presente momento não há evidências que provem o benefício da estimulação do nervo vago em pacientes com COVID-19. Sendo assim, essa pesquisa não traz benefícios diretos para você.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto versão 9 - Emenda

Desenho:

Trata-se de um ensaio clínico randomizado, cego, controlado por sham que será realizado no Hospital Lydia Storopoli, localizado na Universidade Nove de Julho – Campus Vergueiro- São Paulo- Brasil. Os participantes após serem incluídos no estudo serão avaliados quanto ao seu perfil inflamatório (INDICADORES), modulação autonômica cardíaca, respostas cardiovasculares, pressão arterial e caracterizados quanto ao nível de ansiedade e depressão. Os participantes serão randomizados em dois grupos: experimental (estimulação não invasiva do nervo vago) mais usual care ou sham e usual care, durante 7 dias. As avaliações serão realizadas pré e pós 7 dias de intervenções e follow-up de 7 e 14 dias.

Desfecho Primário:

Níveis de IL-6, IL-10, cortisol e proteína C reativa quantitativa (PCR) de pacientes com COVID-19.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentação obrigatória:

Folha de rosto datada, assinada pelo diretor com carimbo do diretor - OK

Projeto de pesquisa - OK

Cronograma - OK

TCLE - OK

Termo de assentimento (caso se aplique) - Não se aplica

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

E-mail: comitedeetica@uninove.br



UNIVERSIDADE NOVE DE
JULHO - UNINOVE



Continuação do Parecer: 5.164.288

Carta de anuência da instituição coparticipante (caso se aplique) - Não se aplica

Algumas pendências precisam ser solucionadas para a aprovação do presente projeto:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto não apresenta impedimentos éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador poderá dar início à coleta dos dados.

Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Lembramos que esta modificação necessitará de aprovação ética do CEP antes de ser implementada. De forma objetiva com justificativa para nova apreciação, os documentos alterados devem ser evidenciados para facilitar a nova análise.

Ao pesquisador cabe manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP (Res. CNS 466/12 item X1. 2. f).

De acordo com a Res. CNS 466/12, X.3.b), o pesquisador deve apresentar a este CEP/SMS os relatórios semestrais. O relatório final deverá ser enviado através da Plataforma Brasil, ícone Notificação. Uma cópia digital do projeto finalizado deverá ser enviada à instância que autorizou a realização do estudo, via correio, e-mail ou entregue pessoalmente, logo que o mesmo estiver concluído.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1870568_E3.pdf	07/12/2021 17:25:44		Aceito

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

E-mail: comitedeetica@uninove.br



UNIVERSIDADE NOVE DE
JULHO - UNINOVE



Continuação do Parecer: 5.164.286

Folha de Rosto	folhaDeRosto_emenda3.pdf	07/12/2021 14:15:21	Fernanda Ishida Corrêa	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetcovid30_11_21.docx	03/12/2021 09:30:37	Fernanda Ishida Corrêa	Aceito
Outros	emenda3.docx	03/12/2021 09:29:38	Fernanda Ishida Corrêa	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEemenda2.docx	03/12/2021 09:29:13	Fernanda Ishida Corrêa	Aceito
Cronograma	Cronogramacovid.docx	22/10/2021 15:30:46	Fernanda Ishida Corrêa	Aceito
Outros	emenda2.docx	08/09/2021 11:49:15	Fernanda Ishida Corrêa	Aceito
Outros	QUESTIONaRIODEQUADROCLINICO.docx	22/06/2021 20:04:35	Fernanda Ishida Corrêa	Aceito
Outros	had_com_escore.docx	22/06/2021 20:02:11	Fernanda Ishida Corrêa	Aceito
Outros	emenda.docx	22/06/2021 20:00:44	Fernanda Ishida Corrêa	Aceito
Outros	Hosp.pdf	26/05/2021 11:41:20	MARILIA DE ALMEIDA CORREIA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 14 de Dezembro de 2021

Assinado por:
Maria Aparecida Dalboni
(Coordenador(a))

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

E-mail: comitedeetica@uninove.br