

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

PAULO HENRIQUE LEITE SOUZA

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO NÃO INVASIVA DO NERVO VAGO NA
MODULAÇÃO AUTÔNOMICA CARDÍACA DOS PACIENTES COM COVID-19:
ESTUDO CLÍNICO, CONTROLADO, CEGO E RANDOMIZADO**

SÃO PAULO, SP

2022

PAULO HENRIQUE LEITE SOUZA

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO NÃO INVASIVA DO NERVO VAGO NA
MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA DOS PACIENTES COM COVID-19:
ESTUDO CLÍNICO, CONTROLADO, CEGO E RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada à Universidade Nove de Julho
para obtenção do título de Mestre em Ciências da
Reabilitação.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Ferrari Corrêa

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a. Fernanda Ishida Corrêa

SÃO PAULO, SP

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Souza, Paulo Henrique Leite.

“Efeito da estimulação não invasiva do nervo vago na modulação autonômica cardíaca dos pacientes com Covid-19: estudo clínico, controlado, cego e randomizado”. / Paulo Henrique Leite Souza. 2022.

109 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2022.

Orientador (a): Prof. Dr. João Carlos Ferrari Correa

1. COVID-19. 2. Nervo vago. 3. Estimulação transcutânea auricular do nervo vago. 4. Variabilidade da frequência cardíaca. 5. Modulação autonômica cardíaca.

I. Correa, João Carlos Ferrari. II. Título

CDU 615.8

Termo de Aprovação (Defesa)

São Paulo, 25 de novembro de 2022.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno(a): PAULO HENRIQUE LEITE SOUZA

Título da Dissertação: "Efeito da Estimulação Não Invasiva do Nervo Vago na Modulação Autonômica Cardíaca dos Pacientes Com COVID-19: Ensaio Clínico, Controlado, Cego e Randomizado"

Presidente: PROFA. DRA. FERNANDA ISHIDA CORRÊA  _____

Membro: PROFA. DRA. KÁTIA DE ANGELIS LOBO D'AVILA  _____

Membro: PROF. DR. BRUNO RODRIGUES  _____

Agradecimentos

Eu gostaria de agradecer inicialmente a Deus, pois minha vida sem a sua presença seria impossível.

Gostaria de agradecer imensamente a minha base, pois sem eles não estaria aqui para deixar esse legado, pessoas de extrema importância na minha vida, meus pais e meu irmão, Gilmar Souza, Euzênia Leite e Pedro Leite. Pessoas que fazem parte de minha vida e que eu e sem eles não estaria aqui, sempre me incentivando a estudar.

Agradeço aos orientadores Prof^a Dr^a Fernanda Ishida Corrêa e Prof^o Dr^o João Carlos Ferrari Corrêa que acreditaram em mim e me acolheram, dando uma oportunidade incrivelmente única, sem eles não teria iniciado essa jornada incrível. Orientando e permitindo meu aprimoramento profissional e realizando meu sonho.

Não poderia deixar de agradecer meus companheiros de laboratório (Lanfam), em especial minha companheira de pesquisa Mestre Laura Uehara, que presenciou todo sofrimento ao meu lado diante dessa pandemia de COVID-19, e que me ajudou bastante com minha evolução profissional. Além disso, agradeço aos meus alunos de Iniciação científica, são eles: Barbara Rany Bertolini e Lucas Kiyoshi Kishima.

Agradeço ao Hospital Professora Lydia Storopoli por nos permitir realizar essa pesquisa, a todos os profissionais que nos ajudaram a realizar essa pesquisa, todos os médicos por indicar os participantes, todos os enfermeiros por coletar sangue, todos os fisioterapeutas que ajudaram apresentando os casos, em particular os Fisioterapeutas Dr^a Natalia, Dr^a Karina, Dr^o Diego e Dr^o Deivid que auxiliaram e disponibilizaram um espaço para guardar os equipamentos.

Agradeço imensamente a todos os participantes que participaram desse estudo que toparam participar do estudo cedendo o tempo para realização da intervenção de estimulação auricular do nervo vago.

Agradeço à equipe do Neuromodulation Center and Center for Clinical Research Learning, Spaulding Rehabilitation Hospital e Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, EUA por ajudar e apoiar essa pesquisa.

Agradeço a Universidade Nove de Julho pelo programa de bolsa e permitir que muitos profissionais possam se aprimorar. Além disso, agradeço a técnica Núbia por ensinar e ajudar com a pesquisa. Agradeço ainda a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) que apoiou esse estudo.

Obrigado, por me ajudarem nessa etapa de minha vida!

Resumo

Objetivo: Avaliar os efeitos da estimulação transcutânea auricular do nervo vago auricular (ETANV) na modulação autonômica cardíaca de indivíduos acometidos por COVID-19. **Desenho:** Ensaio clínico, randomizado, cego e controlado por placebo. **Local:** foi realizado no Hospital professora Lydia Storopoli. **Participantes:** Participaram do estudo 45 indivíduos adultos com COVID-19 internados no Hospital professora Lydia Storopoli. Os participantes foram randomizados para receber estimulação experimental mais cuidados médicos usuais (a-ETANV) e estimulação controle mais cuidado médicos usuais (s-ETANV). A ETANV foi aplicada duas vezes ao dia durante sete dias consecutivos, totalizando x sessões de 90 minutos de estimulação para cada sessão. Um eletrodo para estimulação foi posicionado sobre o tragus esquerdo e outro sobre a clavícula esquerda. O grupo controle realizou o mesmo protocolo do grupo experimental, no entanto, o equipamento permaneceu desligado. A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) foi avaliada antes e após sete dias de tratamento com um polar foi posicionado sobre o tórax dos participantes, em decúbito dorsal, com um pouco de água para umedecer, durante 15 minutos, sendo considerados válidos aqueles com pelo menos cinco minutos de sinal estacionário pelo programa Kubios HRV. **Resultados:** Não houve alterações nos resultados da VFC. Na BF os resultados pré foram IC 95% (40,5 a 62,9) e pós IC 95% (48,4 a 70,1) para o grupo a-ETANV, e para o grupo s-ETANV foram pré IC 95% (37,7 a 61,6) e pós IC 95% (45,7 a 69,9). Também não houve significância entres os grupos IC 95% (-14,4 a 18,4) com $p= (0.812)$. Na AF os resultados pré foram IC 95% (36,9 a 59,2) e pós IC 95% (29,1 a 41,4) para o grupo a-ETANV, e para o grupo s-ETANV foram pré IC 95% (38,0 a 61,9) e pós IC 95% (30,1 a 54,0). Também não houve significância entres os grupos IC 95% (-18,1 a 14,5) com $p= (0.829)$. Na razão de BF/AF os resultados pré foram IC 95% (0,56 a 5,18) e pós IC 95% (3,15 a 7,76) para o grupo a-ETANV, e para o grupo s-ETANV foram pré IC 95% (0,33 a 5,26) e pós IC 95% (0,83 a 5,76). Também não houve significância entres os grupos IC 95% (-1,21 a 5,54) com $p= (0.208)$. **Conclusão:** A ETANV não mostrou efeitos na modulação da VFC em indivíduos internados com COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19, nervo vago, estimulação transcutânea auricular do nervo vago, variabilidade da frequência cardíaca, modulação autonômica cardíaca.

Abstract:

Objective: To evaluate the effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) on cardiac autonomic modulation in individuals affected by COVID-19. **Design:** Clinical trial, randomized, blinded, placebo-controlled. **Location:** It was held at Professor Lydia Storopoli Hospital. **Participants:** Individuals affected with COVID-19, situated within the first ten days of infection, a random sample of 84 participants diagnosed with COVID-19 was approached to participate in the study, of which 45 completed the survey. 39 participants were excluded. **Intervention:** taVNS was applied twice a day for seven consecutive days, with 90 minutes of stimulation for each session. An electrode was applied on the left tragus and on the left clavicle for the experimental group, the control group followed the same protocol as the experimental group, but the equipment remained turned off. **Outcome measure:** Heart rate variability (HRV) was assessed before and after seven days of treatment. **Results:** There were no changes in HRV results. In LF the pre results were CI 95% (40.5 to 62.9) and post CI 95% (48.4 to 70.1) for the a-taVNS group, and for the s-taVNS group they were pre CI 95 % (37.7 to 61.6) and post 95% CI (45.7 to 69.9). There was also no significance between the 95% CI groups (-14.4 to 18.4) with $p= (0.812)$. In HF the pre results were CI 95% (36.9 to 59.2) and post CI 95% (29.1 to 41.4) for the a-taVNS group, and for the s-taVNS group they were pre CI 95 % (38.0 to 61.9) and post CI 95% (30.1 to 54.0). There was also no significance between the 95% CI groups (-18.1 to 14.5) with $p= (0.829)$. In the LF/HF ratio, the pre results were 95% CI (0.56 to 5.18) and post 95% CI (3.15 to 7.76) for the a-taVNS group, and for the s-taVNS group were pre 95% CI (0.33 to 5.26) and post 95% CI (0.83 to 5.76). There was also no significance between the 95% CI groups (-1.21 to 5.54) with $p= (0.208)$. **Conclusion:** taVNS showed no effects on HRV modulation in individuals affected with COVID-19.

Keywords: COVID-19, vagus nerve, transcutaneous auricular vagus nerve stimulation, heart rate variability, cardiac autonomic modulation.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS.....	13
1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1 SARS-COV-2 (COVID-19).....	14
1.2 Sistema nervoso autônomo (SNA), COVID-19 e VFC	15
1.3 Variabilidade da frequência cardíaca (VFC).....	17
1.4. Nervo Vago (NN).....	18
1.5 Estimulação Transcutânea Auricular do Nervo Vago (ETANV).....	20
1.6 Justificativa.....	22
2. HIPOTESE	22
3. OBJETIVO	23
3.1. Objetivo específicos	23
4. METODOLOGIA.....	23
4.1. Desenho do estudo	23
4.2. Sujeitos	23
4.2.1 Critérios de elegibilidade	23
4.3. Aspectos éticos.....	24
4.4 Local do estudo	24
4.5 Intervenções	24
4.5.1 Grupo experimental	24
4.5.2 Grupo de controle.....	26
4.6 Medida de resultado.....	26
4.6.1 Modulação Autonômica Cardíaca.....	26
4.6.2 Avaliações adicionais	27
4.7 Análise estatística	28
4.7.1 Tamanho da amostra	28
4.8 Aleatorização.....	28
5. RESULTADOS	28
6. DISCUSSÃO.....	32
7. CONCLUSÃO.....	34

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
9. APÊNDICES	45
10. ANEXOS.....	99

LISTA DE TABELAS E QUADROS**Tabela 1.** Características clínicas dos indivíduos

29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Nervo Vago	19
Figura 2. Dispositivo Dualpex 071, Quark Produtos Médicos	25
Figura 3. Eletrodos e local da estimulação	25
Figura 4. Timeline do estudo	27
Figura 5. Resultados Variabilidade da frequência Cardíaca	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a-ETANV – Estimulação transcutânea auricular do nervo vago ativo

ACE2 - angiotensina 2

AF – Alta Frequência

BF – Baixa frequência

BF/AF – Razão de baixa frequência com alta frequência

CoV - Coronavírus

COVID-19 – Coronavírus 19

ETANV – Estimulação transcutânea auricular do nervo vago

FC – Frequência Cardíaca

IMC - Índice de Massa Corpórea

MERS-CoV - Síndrome respiratória do Oriente Médio

NV – Nervo Vago

OMS - Organização Mundial de Saúde

SARS-CoV - Síndrome respiratória aguda grave

SARS-Cov-2 - Síndrome respiratória aguda grave 2

s-ETANV – Estimulação transcutânea auricular do nervo vago simulada

SNA - Sistema nervoso autônomo

TNF- α - fator de necrose tumoral- α

VFC - Variabilidade da Frequência Cardíaca

1. INTRODUÇÃO

1.1 SARS-COV-2 (COVID-19)

Nas últimas duas décadas, três tipos de coronavírus (CoV) cruzaram periodicamente espécies animais, transmitidos a populações humanas e causaram um surto cada vez maior de uma pandemia em larga escala (PERLMAN, 2020; WANG et al., 2020). O CoV é derivado da palavra 'corona' que significa 'coroa' em latim (WEISS; NAVAS-MARTIN, 2005). Causa uma variedade de infecções do trato respiratório humano, variando de resfriado leve a síndrome do desconforto respiratório grave (HEYMANN; SHINDO, 2020). Os patógenos zoonóticos virais relatados anteriormente incluem SARS-CoV (coronavírus da síndrome respiratória aguda grave) e MERS (coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio) (CUI; LI; SHI, 2019; DE WIT et al., 2016), que podem causar doença respiratória grave em humano (LUK et al., 2019; PHAN, 2020).

A doença de coronavírus de 2019 (COVID-19), causada pelo coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2), procedeu em uma pandemia global, tendo como origem na cidade de Wuhan, província de Hubei, China. O vírus se espalhou rapidamente pelo mundo e foi inicialmente declarado uma pandemia em 11 de março de 2020 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION., 2022; CHAVEZ et al., 2021; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022a). Em 27 de dezembro de 2022 houve 651.918.402 casos confirmados de COVID-19, incluindo 6.656.601 mortes no mundo, relatados à Organização Mundial da Saúde (OMS) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022b), no Brasil os casos confirmados chegaram a 36.226.287, com aproximadamente 693.199 mortes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

As características clínicas da COVID-19 foram clinicamente classificadas em doença leve a moderada de um estado assintomático ou a presença de sintomas clínicos que incluem febre, tosse, dor de garganta, dor de cabeça, fadiga e mialgia; a sintomas clínicos mais graves, como dispneia, com frequência respiratória acima de 30 respirações por minuto, saturação de oxigênio inferior a 93%, relação PaO₂/FiO₂ menor que 300 e/ou infiltrados pulmonares em mais de 50% do pulmão, dentro de 24/48 horas e crítico como insuficiência respiratória, choque séptico e/ou disfunção/falha de múltiplos órgãos, síndrome do desconforto respiratório agudo e que podem progredir para pneumonia e morte (CHEN et al., 2020; HUANG; LIM; PRANATA, 2020; PAN et al., 2020; RAOULT et al., 2020; SINGHAL, 2020).

Na COVID-19 também é observado que pessoas infectadas apresentam hiperatividade simpática e sinalização autonômica parassimpática prejudicada, o que pode afetar o sistema cardiovascular (KANIUSAS et al., 2020; LEITZKE et al., 2020; TOPOL, 2020). Assim, o tratamento para minimizar seus efeitos clínicos tem sido implementado aos pacientes pelo uso de corticosteróides, suporte ventilatório como oxigenação, intubação e ventilação mecânica, inalação de interferon (LIU; LI; FENG, 2020; WU et al., 2020). No entanto, terapias complementares vêm sendo investigadas a fim de potencializar os efeitos desses tratamentos já administrados.

1.2 Sistema nervoso autônomo (SNA), COVID-19 e VFC

O curso dessa doença infecciosa potencialmente letal depende principalmente de onde a cascata inflamatória avassaladora ocorre. Existem algumas condições clínicas que levam a um risco de cursos graves de COVID-19 como Asma, doença renal crônica tratada com diálise, doença pulmonar crônica, diabetes, distúrbios da hemoglobina, imunocomprometido, doença hepática, pessoas com 65 anos ou mais, pessoas em lares de idosos ou instalações de longo prazo, doenças cardíacas graves e obesidade grave. Todas essas condições médicas predisponentes têm em comum um desequilíbrio do sistema nervoso autonômico (SNA) (DALISE et al., 2020; JARCZOK et al., 2019). Isso prejudica o compartimento parassimpático autônomo e pode ser interpretado como uma superexcitação simpática adaptativa à doença para manter a homeostase (GOLDBERGER et al., 2019).

O estresse da infecção por SARS-CoV-2 pode ativar o Sistema Nervoso Simpático, levando à estimulação neuro-hormonal e ativação de citocinas pró-inflamatórias, acompanhadas pelo desenvolvimento de uma tempestade da função nervosa simpática, resultando em sudorese, taquicardia e tremor. A superestimulação simpática e/ou tempestade da COVID-19 ocorre devido a diferentes fatores, incluindo hipóxia, fatores emocionais, fatores imunológicos e pró-inflamatórios e alto nível de angiotensina II que resulta o desequilíbrio entre a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) e a enzima conversora angiotensina (ACE) (PORZIONATO et al., 2020).

Sabe-se que a regulação negativa de ACE2 por SARS-CoV-2 leva à hiperativação de AngII, que ativa o corpo carotídeo por meio da via subcentral e da zona posterior e/ou vias periféricas, aumentando assim a estimulação e o fluxo simpático (KARAHAN et al., 2021). Além disso, a regulação negativa da ACE2 no núcleo do solitário pelo SARS-CoV-2 pode

aumentar ainda mais a AngII e a estimulação simpática devido aos efeitos neuroinvasivos do SARS-CoV-2.

No COVID-19, as complicações cardiovasculares ocorrem com frequência, incluindo arritmias, miocardite, insuficiência cardíaca e infarto do miocárdio (MATSUSHITA et al., 2020). Todas essas condições afetam negativamente a superativação simpática e podem representar uma maneira pela qual a ativação simpática induzida por comorbidade pode aumentar a morbidade/mortalidade por COVID-19. Em alguns estudos, a lesão miocárdica foi relatada em 20-40% dos casos hospitalizados (HUANG et al., 2020; RUAN et al., 2020; SHI et al., 2020; XU et al., 2020). Casos de síndrome de Takotsubo também foram relatados no COVID-19. Nesse tipo de cardiomiopatia de estresse, a lesão miocárdica pode ser mediada por vasoespasma induzido por catecolaminas e/ou efeitos diretos das catecolaminas nos cardiomiócitos (GIUSTINO et al., 2020; MINHAS et al., 2020; PASQUALETTO et al., 2020; TAZA et al., 2020).

Foi relatado que a lesão renal aguda ocorre em mais de 20% dos pacientes graves ou mortos com COVID-19, e a doença renal crônica também está significativamente associada ao COVID-19 grave (SARDU et al., 2020). Além disso, os mecanismos acima mencionados envolvidos no ciclo vicioso de hiperatividade simpática e função renal também afetam negativamente a circulação cardíaca (KIUCHI et al., 2020; SCHILLER; PELLEGRINO; ZUCKER, 2015). Portanto, é plausível que a ativação simpática em comorbidades também possa ter efeitos homeostáticos negativos no COVID-19 por meio de efeitos renais. Além disso, lesões hepáticas também foram relatadas em pacientes com COVID-19 (KUKLA et al., 2020), e a ativação simpática também pode ser prejudicial à função hepática (JOUNG et al., 2019).

O sistema nervoso autônomo também desempenha um papel regulador no sistema imunológico, e seu papel potencial no complexo cenário imunológico do COVID-19 deve ser investigado. As fibras simpáticas inervam a maioria dos órgãos linfóides, incluindo a medula óssea (FELTEN et al., 1985), e os receptores adrenérgicos estão presentes em muitos tipos diferentes de células imunes (BRODDE et al., 1981). A influência do sistema nervoso simpático no sistema imunológico é bastante complexa e depende do estado de diferenciação das células imunes. Foi relatado que o fluxo simpático aumentado através dos nervos esplênicos aumenta a liberação de citocinas pelos esplenócitos (GANTA et al., 2005). Por outro lado, o nervo vago tem um efeito inibitório na liberação do fator de necrose tumoral- α (TNF- α) dos macrófagos (HUSTON et al., 2006; WANG et al., 2003). Efeitos antiinflamatórios do sistema nervoso vago

parassimpático também foram observados em distúrbios intestinais (GHIA et al., 2006; GOVERSE; STAKENBORG; MATTEOLI, 2016; SUN et al., 2013) e artrite (MCALLEN et al., 2015). Esses potenciais efeitos imunológicos/inflamatórios do desequilíbrio simpático/parassimpático parecem ser de particular interesse na fisiopatologia do COVID-19, que também leva a uma interrupção da homeostase por meio de uma "tempestade de citocinas".

Embora vários outros métodos tenham sido empregados nesses ambientes clínicos para induzir a alteração dos batimentos cardíacos, a medição da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) raramente era usada para esse propósito. A medida da VFC é um método não invasivo que é frequentemente usada para acompanhamento cardiovascular em atletas (SCHMITT et al., 2015), pessoas saudáveis (HYNYNEN et al., 2011), pacientes cardiovasculares (THAYER; YAMAMOTO; BROSSCHOT, 2010), e está associada à autorregulação dos níveis cognitivos, emocionais, sociais e de saúde (KIM et al., 2018; LABORDE; MOSLEY; THAYER, 2017).

1.3. Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC)

A modulação da frequência cardíaca (FC) é realizada pelo Sistema Nervoso Autônomo (SNA) através dos nervos aferentes e eferentes presentes no coração promovendo respostas alteradas ou adequadas e regulando a função visceral pelas terminações simpáticas do miocárdio e parassimpáticas aos estímulos estressores (nódulo sinusal), que se opõem para manter a homeostase das funções vitais. No sistema cardiovascular, esse equilíbrio não estacionário causa flutuações entre intervalos consecutivos de batimentos cardíacos, conhecidos como variabilidade da frequência cardíaca (VFC) (VANDERLEI et al., 2009; XHYHERI et al., 2012).

A influência do SNA sobre o coração é dependente de informações que partem, dentre outros, dos barorreceptores, quimioceptores, receptores atriais, receptores ventriculares, modificações do sistema respiratório, sistema vasomotor, sistema renina-angiotensina-aldosterona e sistema termorregulador (AUBERT; SEPS; BECKERS, 2003; PASCHOAL; PETRELLUZZI; GONÇALVES, 2002). O coração não é um metrônomo, não possuem a regularidade de um relógio, portanto, as alterações na FC são normais e esperadas, indicando a capacidade do coração de responder a uma variedade de fatores fisiológicos e ambientais, incluindo respiração, exercício físico, estresse mental, distúrbios, alterações hemodinâmicas e metabólicas, sono e postura ereta e compensação de distúrbios causados pela doença.

(AUBERT; SEPS; BECKERS, 2003; CARUANA-MONTALDO; GLEESON; ZWILLICH, 2000; CATAI et al., 2002; RAJENDRA et al., 2006; SANTOS et al., 2003).

A VFC refere-se à alteração entre um batimento cardíaco e outro, o intervalo RR no ECG (BENTO; FONSECA-PINTO; PÓVOA, 2017; BROUCQSAULT-DÉDRIE et al., 2016; LEDOWSKI et al., 2013), especificamente, a análise da VFC permite avaliar a modulação do sistema nervoso simpático que aumenta a FC e do sistema nervoso parassimpático que estimula o sistema nervoso autônomo a diminuir a FC. A banda de baixa frequência (BF) reflete uma mistura de modulação simpática e parassimpática no coração (DE JONCKHEERE et al., 2012; HOLZMAN; BRIDGETT, 2017).

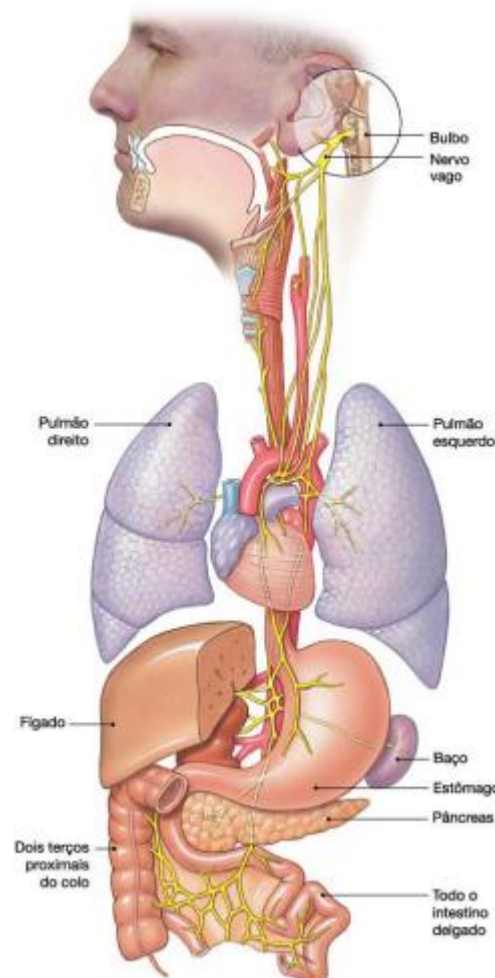
Para auxiliar os pesquisadores nas análises do controle autonômico sobre o sistema cardiovascular, os pesquisadores têm disponíveis múltiplos métodos desde invasivos e não invasivos, tanto em experimentação animal quanto em humanos. Os mais usados tem sido: medida das catecolaminas, microneurografia, sensibilidade barorreflexa, a VFC e da pressão arterial no domínio do tempo e frequência (análise espectral - mais escolhido devido sua estimativa da atividade neural e não neural por meio das oscilações em curto e longo prazo) (MOSTARDA et al., 2009).

1.4 Nervo Vago (NV)

O nervo vago (NV) exerce um papel central nos sistemas autonômico, cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, imunológico e endócrino. O NV é o principal componente parassimpático do Sistema Nervoso Autônomo (SNA), sendo 80% de suas fibras nervosas aferentes e 20% eferentes. Ele é responsável por reduzir a FC, regular a respiração e a atividade dos órgãos do sistema digestivo (BERTHOUD; NEUHUBER, 2000). O NV tem três tipos aferentes (sensoriais): aferente somático geral (que tem controla a sensação somático do meato acústico externo posterior, membrana timpânica, dura-máter na fossa posterior, hipofaringe, laringe e esôfago superior), aferente visceral geral (que controla a sensação visceral da hipofaringe, laringe, coração, pulmões, trato alimentar, arco aórtico (barorreceptores e quimiorreceptores) e também detecta informações hormonais e de citocinas) e aferente visceral especial (que controla a sensação de paladar da epiglote e faringe) e dois tipos eferentes: eferente visceral geral (que controla a maioria dos órgãos abdominais e torácicos por meio de gânglios parassimpáticos e os gânglios cardíacos para inibição cardíaca e os gânglios pulmonares para tamanho das vias aéreas e regulação da secreção) e eferente visceral especial

(Controle motor visceral dos músculos esqueléticos da faringe (exceto músculo estilofaríngeo), laringe e esôfago superior). (YUAN; SILBERSTEIN, 2016). Representado pela figura 1.

Figura 1 – Nervo Vago



Fonte: SILVERTHORN, D.U. Fisiologia humana. Uma abordagem integrada. Artmed, 2010. 992p (SILVERTHORN, 2010)

A função do NV é transmitir informações do corpo para o cérebro, como atuar na regulação de órgãos e manutenção da homeostase (CLANCY; DEUCHARS; DEUCHARS, 2013; HOWLAND, 2014b), regulando o controle da pressão arterial, frequência cardíaca (FC) e participação nos processos de digestão, a resistência vascular, o diâmetro das vias aéreas, a respiração e a alimentação, inflamação e imunidade (BUSCHMAN et al., 2006; OLSHANSKY et al., 2008). Os nutrientes luminais estabelecem não apenas o reflexo vago-vagal para iniciar a digestão e o peristaltismo, mas também a liberação de mediadores enteroendócrinos que interagem com o NV via de sinalização do intestino-cérebro. O NV libera acetilcolina na

periferia para ativar respostas parassimpáticas nos órgãos em todo o corpo, como redução da FC e contratilidade miocárdica no coração (DYAVANAPALLI et al., 2016).

Os efeitos relacionados ao sistema nervoso parassimpático ocorrem através do NV. Portanto, a atividade do Sistema nervoso simpático tende a aumentar a FC com uma resposta lenta, enquanto a atividade do sistema nervoso parassimpático tende a diminuir a FC e a sua resposta é rápida (BERNTSON et al., 1997). Por isso, estimular o NV pode ser um tratamento eficaz para COVID-19, já que uma das suas características é a hiperatividade do sistema nervoso simpático.

1.5 Estimulação Transcutânea Auricular do Nervo Vago (ETANV)

O neurologista americano James Corning no Século 19 foi o primeiro a usar a estimulação do nervo vago (VNS) para tratar a epilepsia, então considerada devido ao fluxo sanguíneo cerebral excessivo. Foi aplicado um “garfo carotídeo” para compressão bilateral parcial da artéria carótida e o foi conectado a eletrodos de corrente contínua para estimulação transcutânea bruta do NV e nervos simpáticos na tentativa de reduzir o fluxo sanguíneo cerebral e a frequência cardíaca (LANSKA, 2002). Embora não tenha funcionado bem, a Corning introduziu a ideia do VNS no mundo. Meio século depois, alguns estudos em animais começaram a lançar atualizações sobre o mecanismo do VNS (AALBERS et al., 2011; BAILEY; BREMER, 1938; CHASE et al., 1967; ZABARA, 1992; ZANCHETTI; WANG; MORUZZI, 1952). Com o sucesso em estudos com animais, estudos em humanos se seguiram no início de 1990 (BEN-MENACHEM et al., 1994; DEGIORGIO et al., 2000; MORRIS et al., 2013; PENRY; DEAN, 1990; UTHMAN et al., 1993).

A VNS é um procedimento de forma invasiva que consiste numa implantação de gerador de pulsos elétricos que vai estimular as fibras desse nervo sob o tórax, no qual um fio é inserido ao redor do NV esquerdo na região do pescoço, de modo que impulsos nervosos sejam enviados e transmitidos ao cérebro (YUAN; SILBERSTEIN, 2016). Entretanto, como qualquer processo invasivo, o procedimento de implante do aparelho para a eletroestimulação pode resultar em possíveis complicações pós-cirúrgicas. As desvantagens do método invasivo de estimular o NV podem ocorrer lesões do nervo, rouquidão, infecção, dispneia. Além disso, o dispositivo apresenta uma bateria limitada, sendo necessárias novas abordagens cirúrgicas para substituição de bateria e possíveis complicações na junção do nervo com o eletrodo (KRAUS et al., 2013). Simultaneamente, também foram desenvolvidos dispositivos não

invasivos como alternativa para estimular o nervo vago, através de um aparelho de estimulação elétrica nervosa transcutânea (HOWLAND, 2014a; VENTUREYRA, 2000).

Para evitar complicações ao implante cirúrgico, os pesquisadores desenvolveram 2 tipos de estimulação não invasiva do nervo vago: a transcutânea auricular e a transcutânea cervical (BEN-MENACHEM et al., 2015). A estimulação elétrica não invasiva do nervo vago auricular foi apresentada pela primeira vez há mais de duas décadas usando eletroacupuntura (ZAMOTRINSKY et al., 1997) ou um estimulador transcutâneo em miniatura “estimulação transcutânea auricular do nervo vago” (ETANV) (VENTUREYRA, 2000). Pesquisas com intuito de investigar os efeitos da estimulação deste nervo foram realizadas inicialmente em modelos animais convulsivos, evoluindo para aplicações clínicas em humanos, sendo o seu uso aprovado pela agência de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos (Food and Drug Administration - FDA) em 1997 para o tratamento de epilepsia refratária e em 2005 para o tratamento da depressão crônica resistente ao tratamento farmacológico (AIHUA et al., 2014; GEORGE; ASTON-JONES, 2010; MORRIS et al., 2013). Existem diferentes dispositivos para a estimulação do NV. O dispositivo implantável consiste em um eletrodo, que é envolvido ao redor do NV esquerdo, e uma unidade implantável, posicionada abaixo da clavícula e contendo a bateria e o gerador de pulso (YAP et al., 2020). Já a estimulação não invasiva transcutânea auricular do nervo vago (ETANV) apresenta eficácia semelhante (FARMER et al., 2021; MURRAY et al., 2016) e com a vantagem de não apresentar reações adversas (CAPONE et al., 2015; DIETRICH et al., 2008; VAN LEUSDEN; SELLARO; COLZATO, 2015), ou efeitos colaterais mínimos como irritação da pele (Redgrave *et al.*, 2018). Sua aplicação pode ser realizada através da eletroestimulação das conchas superior ou inferior (tragus) do ouvido externo, por eletrodos de superfície conectados ao aparelho gerador de estímulos (CLANCY et al., 2014). O VNS cervical transcutâneo é outra forma de VNS não invasivo que fornece estimulação elétrica ao nervo vago cervical por via transcutânea através do pescoço. Eletrodos são colocados sobre a bainha da carótida e a estimulação é aplicada com dispositivos que ativam o nervo e o tecido subjacentes (BAPTISTA et al., 2020).

Por sua influência na atividade cardíaca, estudos utilizando a ETANV em pacientes cardiopatas têm apresentado resultados benéficos (POPOV et al., 2013; ZAMOTRINSKY; KONDRATIEV; DE JONG, 2001). Existem evidências que a estimulação do nervo vago pode ativar o sistema parassimpático e mediar linfócitos, inibindo a produção de macrófagos pró-inflamatórios (HUSTON et al., 2006; PEÑA et al., 2011), melhorando a sobrevivência em

sepsis, choque hemorrágico, lesão de isquemia-reperfusão e outras condições de excesso de citocinas (JOHNSTON; WEBSTER, 2009). Ademais, essa técnica parece promover redução do TNF- α e inflamação após endotoxinas (TORRES-ROSAS et al., 2014) e melhora a regulação e expressão de quimiocinas e citocinas, diretamente envolvidos na inibição inflamatória dentro o sistema nervoso (SERHAN; ROSA; JOUVENE, 2019).

Alguns autores propuseram que os efeitos benéficos do ETANV podem depender do aumento da atividade do nervo vago, dessa forma, medidas de variabilidade da frequência cardíaca vagalmente mediadas podem ser um aditivo de avaliação de sua eficácia (GIDRON et al., 2018; KUO et al., 2005; THAYER; LANE, 2000).

1.6 Justificativa

A COVID-19 apresentou-se como uma pandemia global e em um curto período, aumentando a curva de pacientes infectados e das taxas de mortalidade. Como consequência é observado, especialmente no Brasil, um impacto econômico e de saúde pública de grande proporção. Diante disso, cientistas e profissionais da saúde mobilizam-se em busca da redução deste 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 é necessário o aprimoramento de tratamentos que visem redução de 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.

Diante disso, acreditamos que a ETANV pode ser uma chave terapêutica promissora para evitar ou atenuar cursos graves de COVID-19. Existem vários métodos descritos para estimular o nervo vago (JOHNSTON; WEBSTER, 2009) uma vez que causa poucos efeitos colaterais e tem baixo custo.

2. HIPÓTESE

A estimulação do nervo vago de pessoas com diagnóstico de COVID-19 irá modular positivamente o controle autonômico cardíaco.

3. OBJETIVO

Avaliar o efeito da estimulação não invasiva do nervo vago na modulação autonômica cardíaca dos pacientes internados com COVID-19.

3.1 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos de 14 sessões de estimulação não invasiva do nervo vago na modulação autonômica cardíaca através do domínio da frequência (Baixa frequência (BF), Alta frequência (AF) e razão de baixa frequência com alta frequência (BF/AF) de pacientes com COVID-19.

4.METODOLOGIA

4.1. Desenho do estudo

Trata-se de um ensaio clínico, randomizado, cego (paciente), controlado por placebo, em indivíduos adultos diagnosticados com COVID-19 com até 10 dias de sintomas do início da infecção.

4.2 Sujeitos

Participaram do estudo 45 indivíduos adultos acometidos com COVID-19, de ambos os sexos, recrutados no Hospital Lydia Storopoli na Cidade de São Paulo, sendo selecionados apenas aqueles que apresentarem os critérios de elegibilidade a seguir (APÊNDICE B):

4.2.1 Critérios de elegibilidade

Critérios de inclusão:

- Diagnóstico confirmado de COVID-19 e recém internados no hospital, com início dos sintomas entre 1 e 10 dias;
- Pacientes maiores de 18 anos;
- Estar contactuante para poder entender o tratamento que será aplicado e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido - TCLE (APÊNDICE A);

Critérios de não inclusão:

- Contraindicações do uso da ETANV (implante coclear, metais no local de aplicação);

- Comorbidades como diabetes e hipertensão não controlada por medicamentos;
- Estar intubado antes de assinar o TCLE (APÊNDICE A) ou usando equipamentos de auxílio ventilatório que impeça a estimulação.

4.3 Aspectos éticos

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos local aprovou este estudo (CAAE: 46699521.5.0000.5511) em conformidade com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre esclarecido (APÊNDICE A) informado antes do início do estudo. O protocolo foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR-399t4g5). O estudo foi realizado de acordo com o Consort Statment.

4.4 Local do estudo

O estudo foi realizado no Hospital Professora Lydia Storopoli, localizado na Universidade Nove de Julho – Campus Vergueiro, localizado na Rua Vergueiro, 235/249- 2º subsolo, Liberdade - São Paulo – SP - Brasil.

4.5 Intervenções

4.5.1 Grupo experimental

A aplicação da estimulação transcutânea auricular do nervo vago ativo (a-ETANV) foi feita com o dispositivo DUALPEX 071, QUARK PRODUTOS MÉDICOS), representado pela Figura (2), com corrente variando de 25 Hz a 5 kHz, por série de ondas senoidais, com pulso de 1 ms. A intensidade foi ajustada com base na tolerância do participante para não causar dor ou contrações musculares. Os participantes continuaram a receber cuidados médicos habituais durante todo o estudo, conforme prescrito pelo médico do hospital. Além disso, os participantes do grupo experimental receberam a estimulação duas vezes ao dia podendo ser nos períodos (manhã e/ou tarde/noite) num período de 6 a 8 horas entre cada estimulação, por sete dias consecutivos, na posição de decúbito dorsal na maca do hospital, totalizando 14 sessões de estimulação, com tempo de aplicação de a-ETANV de 90 minutos de estimulação para cada sessão. Os eletrodos descartáveis de 15 mm foram posicionados no tragus (CLANCY et al., 2014) da orelha esquerda e outro na clavícula esquerda. Representado pela figura (3). Quando

o participante evoluía para intubação, era permanecido no estudo, realizando os mesmos procedimentos de colocação dos eletrodos, parâmetros e aparelho.

Figura (2) – Dispositivo Dualpex 071, Quark Produtos Médicos



Fonte: https://quarkmedical.com.br/quark2302/index.php?route=product/product&product_id=327. (2022)

Figura (3) – eletrodos e Local aplicação

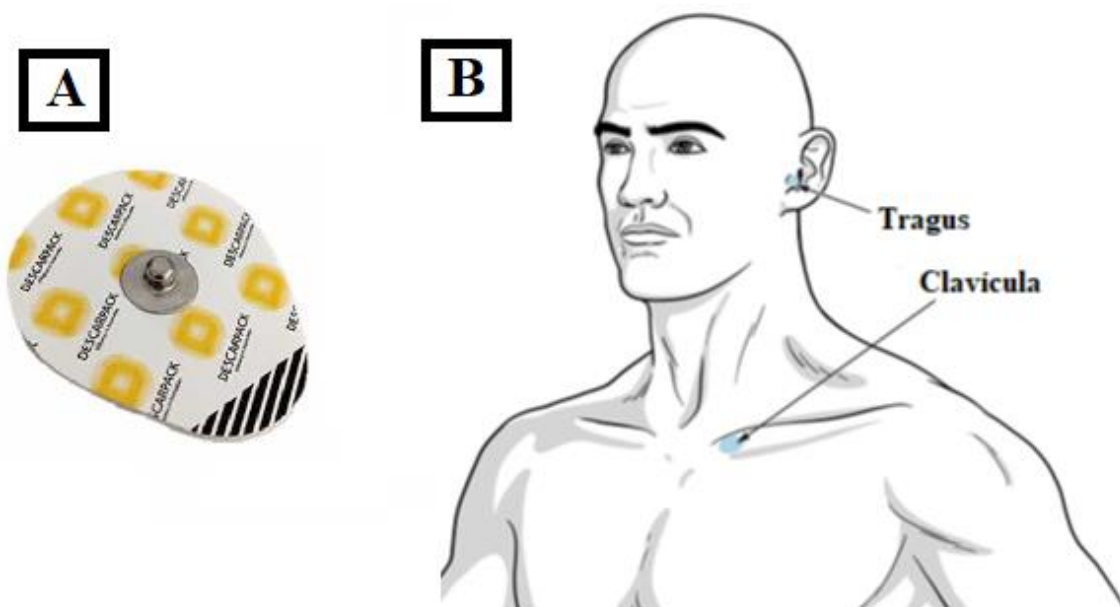


Figura (?): Eletrodo e local da aplicação. A: (eletrodo descartável) B: (Local da aplicação onde foram inseridos os eletrodos nos participantes)

4.5.2 Grupo controle

O mesmo procedimento foi repetido para estimulação transcutânea auricular do nervo vago simulado (s-ETANV), o aparelho era ligado, porém nenhum parâmetro foi inserido no aparelho e os eletrodos foram posicionados nos mesmos locais indicados da Figura (3), os participantes ficavam com o aparelho ligados durante os 90 minutos, porém sem receber a estimulação. Os participantes continuaram a receber cuidados médicos habituais durante todo o estudo, conforme prescrito pelo médico do hospital. Quando o participante evoluía para intubação, o aparelho permaneceu desligado, porém mesmo assim era feito o protocolo de colocar os eletrodos.

4.6 Medida de resultado

A avaliação inicial para caracterização dos voluntários (APÊNDICE B) foi realizada no primeiro dia contendo dados como nome, idade, data de nascimento, sexo, se foi vacinado (quantas doses), data de internação, data de início de sintomas da COVID-19, data da alta, comorbidade, uso de medicamentos contínuos, dados antropométricos como peso, altura e Índice de Massa Corpórea (IMC). Além de Frequência cardíaca (FC) e horário de coleta da VFC por 15 minutos.

4.6.1 Modulação Autonômica Cardíaca

Para a análise inicial da modulação autonômica cardíaca foi analisada por meio da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), com um monitor de frequência cardíaca (V800, Polar Electro, Finlândia). Os participantes precisavam estar contactantes com a avaliação, não podendo estar intubado. Os participantes encontravam-se em decúbito dorsal sob a maca do hospital, onde foi colocado uma cinta presa ao tórax do participante (polar H10), foi umedecida com um pouco de água, a partir daí, os intervalos RR foram registrados por 15 minutos. Em seguida foi feito a exportação dos dados e o download da análise no site (<https://flow.polar.com>) e os intervalos RR foram exportados para o programa Kubius HRV. E aqueles com pelo menos cinco minutos do sinal estacionário foram considerados válidos.

Após isso era feito o protocolo de ETANV e após 14 sessões foi analisado novamente a VFC. Como sugerido na Timeline do estudo (Figura (4)).

Os intervalos RR foram exportados para o programa Kubios HRV (Versão 2.0, Biosignal Analysis and Medical Imaging Group, Finlândia), para análise do domínio da frequência (baixa frequência – BF, alta frequência – AF e a razão de baixa e alta frequência de frequência - BF/AF). Foram consideradas como fisiologicamente significativas as frequências entre 0,04 e 0,4 Hz, sendo o componente de BF representado pelas oscilações entre 0,04 e 0,15 Hz e o componente de AF entre 0,15 e 0,4 Hz (NOVAIS et al., 2004).

Os parâmetros no domínio da frequência foram obtidos por meio de análise espectral, utilizando o método autorregressivo. A análise de todos os parâmetros seguiu as normas da (TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY., 1996)e recomendações atualizadas (PLAZA-FLORIDO et al., 2021).

Figura (4) – Timeline do estudo



Figura 3: Linha do tempo demonstrando as fases de cada procedimento do estudo. I: VFC basal (15min, indivíduo em repouso/posição supina; II: Aplicação da ETANV (experimental ou simulado), sob o tragus e clavícula esquerda por 90min; III: avaliação da VFC pós durante 15min.

4.6.2 Avaliações adicionais

O peso, altura, início dos sintomas, mortes, comorbidades e vacinação dos participantes foram coletados dos prontuários dos participantes ou era perguntado diretamente ao participante, logo em seguida foi feito a medida do Índice de Massa Corpórea (IMC) do

participante para avaliar o grau de sobrepeso e obesidade, onde era dividido o peso do participante pela sua altura elevada ao quadrado.

A pressão arterial (mmHg) braquial e a FC foram avaliadas por meio de um monitor (HEM-742, Omron Healthcare, Japão) para essas medidas, os indivíduos permaneceram por dez minutos na posição supina; foram realizadas três medidas consecutivas, com um minuto de intervalo entre elas, no braço que estava sem acesso às medicações. O valor utilizado foi a média das duas últimas medidas, conforme recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (BARROSO et al., 2021).

4.7 Análise estatística

4.7.1 Tamanho da amostra

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado por meio do Software GPOWER3, com 14 sujeitos (7 do s-ETANV e 7 do a-ETANV). Os resultados da diferença pré e pós-intervenção dos desfechos da VFC foram contemplados para análise. Considerando um poder de 80%, um erro α de 5% e um tamanho de efeito de 0,9735431, o tamanho estimado da amostra foi de 28 por grupo (14 para a-ETANV e 14 para s-ETANV).

A VFC foi analisada pela razão de BF (u.n.) e AF (u.n.) e BF/AF; a análise foi feita usando SPSS versão 22.0 para Windows. Os dados de VFC foram analisados por Equações de Estimativa Generalizada. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

4.8. Aleatorização

Os participantes foram randomizados pelo site www.randomizer.org por um pesquisador não envolvido, em dois grupos: experimental (estimulação não invasiva do nervo vago associado aos cuidados médicos habituais) ou grupo controle (estimulação sham não invasiva do nervo vago associado aos cuidados médicos habituais).

5. Resultados

Foram recrutados 84 indivíduos, dos quais 7 foram excluídos por testar negativo para COVID-19, 2 foram excluídos por estarem intubados na avaliação inicial, 8 participantes tiveram alta hospitalar, 8 participantes desistiram do estudo, 7 participantes evoluíram para o óbito antes de finalizar a estimulação e 7 foram excluídos por não ter um sinal estacionário

válido, restando 45 participantes para análise conforme descrito no fluxograma do estudo (APÊNDICE C). Os dados demográficos dos participantes são mostrados na Tabela 1:

Tabela 1 – Características descritiva da amostra de participantes diagnosticado com COVID-19 (N=45).

Variáveis	a-ETANV (N=24)	s-ETANV (N=21)
Participantes		
Gênero F/M	10/14	13/8
Idade, Média (DP)	51 (16)	56 (16)
Peso (kg), Média (DP)	83 (14)	85 (18)
Altura (m), Média (DP)	167 (7)	165 (8)
IMC (Kg/m ²), Média (DP)	30 (4)	31 (6)
PAS (mmHg), Média (DP)	124 (17)	124 (26)
PAD (mmHg), Média (DP)	77 (10)	75 (12)
FC (bpm), Média (DP)	84 (13)	80 (17)
BF (u.n), Mediana (IC 95%)	60,6 (40,5 a 62,9)	47,1 (37,7 a 61,6)
AF (u.n), Mediana (IC 95%)	39,3 (36,9 a 59,2)	52,8 (35,9 - 64,0)
Razão BF/AF, Mediana (IC 95%)	1,5 (0,56 a 5,18)	0,9 (0,33 a 5,26)
Início dos Sintomas, Média (DP)	6 (2)	6 (2)
Mortes	4	5
Comorbidades		
HA, n (%)	10 (42)	11 (52)
Diabetes mellitus, n (%)	7 (29)	5 (24)
Obesidade, n (%)	8 (33)	11 (52)
DPOC, n (%)	1 (4)	4 (19)
Fumantes, n (%)	1 (4)	0 (0)
Vacinados, n (%)	19 (79)	11 (52)
Pfizer, n (%)		
1ª dose	2 (8)	0 (0)
2ª dose	1 (4)	0 (0)

CoronaVac, n (%)		
1ª dose	10 (42)	8 (38)
2ª dose	7 (29)	8 (38)
AstraZeneca, n (%)		
1ª dose	6 (25)	3 (14)
2ª dose	4 (17)	2 (10)
Janssen, n (%)	1 (4)	1 (5)

Legenda: Valores apresentados em frequência absoluta, média, desvio padrão, mediana e intervalo de confiança de 95%. F/M (feminino/masculino), IMC (índice de massa corporal), PAS (pressão arterial sistólica), PAD (pressão arterial diastólica), FC (frequência cardíaca), bpm (batimento por minuto), HA (hipertensão arterial), DPOC (doença de obstrução pulmonar crônica), BF (Baixa frequência), AF (Alta frequência), u.n. (unidades normalizadas), Razão BF/AF (razão de baixa frequência sobre alta frequência).

No grupo a-ETANV teve mais participantes homens do que o grupo s-ETANV. A maioria dos participantes em ambos os grupos estava acima do peso. O grupo s-ETANV teve mais participantes com doença pulmonar obstrutiva crônica. O grupo a-ETANV teve mais participantes vacinados. Os grupos foram iguais na linha de base quanto à VFC.

Na Figura 5 estão representados os resultados da VFC no domínio da frequência.

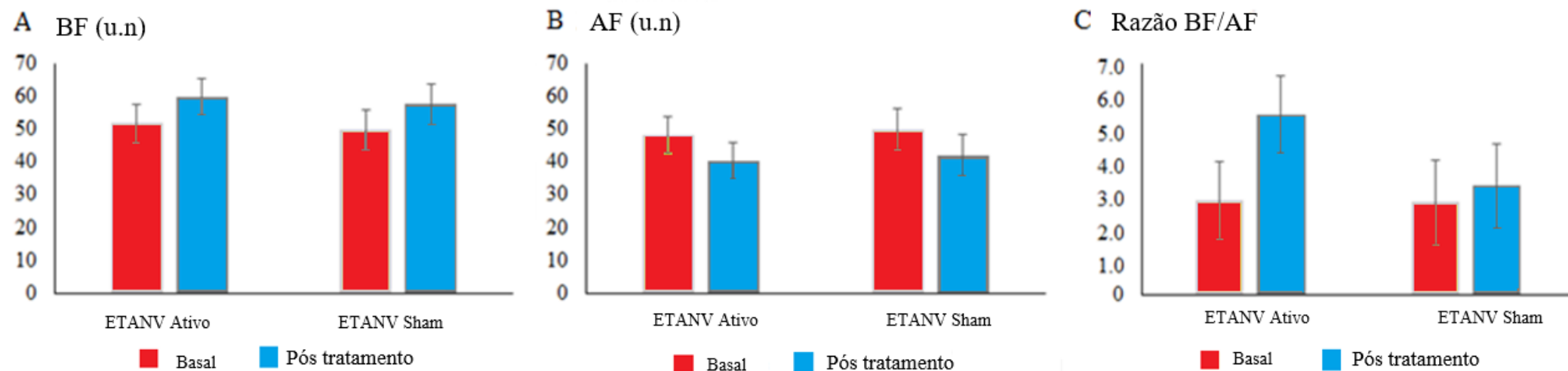


Figura 2. Gráfico da VFC (n=45) dos a-ETANV (n=24) e s-ETANV (n=21) nos momentos basal e pós seguido protocolo de ETANV.

Na figura 2 estão apresentados os resultados da banda BF (u.n.) pré-tratamento foram (95% IC 40,5 a 62,9) para a-ETANV no pré-tratamento vs. pós-tratamento (95% IC 48,4 a 70,1) e no s-ETANV, os valores foram (95% IC 37,7 a 61,6) pré-tratamento vs. pós-tratamento (95% IC 45,7 a 69,6). Não houve diferença significativa entre os grupos no pós-tratamento (IC 95% -14,4 a 18,4, $p=0.812$).

Os valores de pré-tratamento para AF (u.n.) para a-ETANV foram (95% IC 36,9 a 59,2) vs pós-tratamento (95% IC 29,1 a 51,4), e no s-ETANV no pré-tratamento foi (95 % IC 38,0 a 61,9) vs. pós-tratamento (95% IC 30,1 a 54,0) sem diferença significativa entre os grupos no pós-tratamento (95% IC -18,1 a 14,5, $p= 0.829$).

Os valores da razão de BF/AF para pré-tratamento na a-ETANV foram (95% IC 0,56 a 5,18) vs pós-tratamento (95% IC 3,15 a 7,76), e para s-ETANV no pré-tratamento da razão de BF/AF foi (95% IC 0,33 a 5,26) vs pós-tratamento (95% IC 0,83 a 5,76), sem diferença significativa entre os grupos (95% IC -1,21 a 5,54 $p=0.208$).

6. Discussão

Não foi encontrado diferenças significativas nos desfechos de AF, BF e razão BF/AF para ambos os grupos. Uma explicação para isso é que, em ambiente hospitalar, o paciente está exposto a inúmeros dispositivos, medicamentos, situações estressantes e outros fatores ambientais e emocionais que podem influenciar os parâmetros da VFC, dificultando uma análise mais precisa dessa variável.

Outro fator de confusão é a presença de ambos os sexos em nossa alocação, pois estudos prévios mostraram que o hormônio sexual feminino (estrogênio) pode influenciar a modulação cardíaca com predomínio do efeito parassimpático (SAEKI et al., 1997), tendo efeito na modulação cardíaca (MERCURO et al., 1998). Entretanto, resultados satisfatórios da ETANV no controle autonômico já foram observados, mas em indivíduos saudáveis (CLANCY et al., 2014).

O NV desempenha um papel central no sistema nervoso autônomo. Ele medeia as principais funções viscerais, como frequência cardíaca, motilidade e secreção gastrointestinal, endócrina e exócrina pancreática, produção hepática de glicose e outras funções viscerais. Além disso, mais relevante para a atual pandemia, a ativação vagal suprime as respostas imunes e inflamatórias à invasão de patógenos e dano tecidual (ADAIR et al., 2020). O

sistema nervoso simpático é ativado pelos estímulos hipóxicos e hipercápnicos que caracterizam as disfunções respiratórias, enfatizando a hipóxia intermitente crônica que aumenta a produção simpática por meio do aumento da sensibilidade do corpo carotídeo. Assim, as alterações da função respiratória induzidas pelo COVID-19 podem agravar ainda mais a hiperatividade simpática (PORZIONATO et al., 2020). O Sistema simpático também pode ser ativado por meio do aumento de produção e liberação de AngII na COVID-19, pois o receptor O receptor celular para o coronavírus da SARS-CoV e SARS-CoV-2 é o ACE2, um homólogo geralmente ligado à membrana da enzima conversora de angiotensina (KUBA et al., 2005; ZHANG et al., 2020).

O monitoramento do tônus vagal através da VFC em pacientes com COVID-19 pode ser essencial para auxiliar na identificação precoce de risco de deterioração clínica, pois pode ser usado como um marcador preditivo do curso da doença COVID-19. Isso porque pacientes com tônus vagal muito baixo no início dos sintomas podem ter alto risco de desenvolver uma resposta pró-inflamatória desregulada durante a infecção, levando à morte súbita ou à transferência para unidade de terapia intensiva (CLANCY et al., 2014; MOL et al., 2021). Na revisão sistemática de (DE CASTILHO et al., 2018) descobriram que os parâmetros de VFC medidos em registros de curto prazo foram reduzidos em pacientes sépticos que morreram em relação aos que sobreviveram. Esse achado levanta a possibilidade de que a medida da VFC possa ser uma ferramenta útil para predizer o risco de morte na sepse.

(ANNANE, 2016; ANNANE et al., 1999, 2016) relataram que a VFC prejudicada e as altas concentrações de catecolaminas circulantes e a modulação simpática prejudicada comuns em pacientes com choque séptico sugerem que o comprometimento regulatório autonômico central contribui para a insuficiência circulatória. Assim, é possível que em pacientes com COVID-19 esteja relacionada uma disfunção no tônus autonômico para síndrome de liberação de citocinas e danos em múltiplos órgãos (CHIGR; MERZOUKI; NAJIMI, 2020; GHOSH et al., 2020). A VFC é medida por métodos simples e não invasivos, necessitando de aparelhos automatizados disponíveis no mercado. Portanto, a VFC é considerada um dos métodos mais populares utilizados para avaliar a função autonômica, sendo adequado para uso em pronto-socorro, enfermaria ou unidades de terapia intensiva (TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY., 1996), onde geralmente são atendidos pacientes com COVID-19.

Embora não tenha muitos estudos clínicos relacionados a estimulação do nervo vago, COVID-19 e sistema nervoso autônomo, alguns autores indicam o uso da estimulação do nervo vago provando ser eficaz para a diversos sintomas da COVID-19 (AZABOU et al., 2021; BAPTISTA et al., 2020; CORRÊA et al., 2022; GUO et al., 2021; SEITZ et al., 2022; STAATS et al., 2020; WANG et al., 2022). A estimulação do nervo vago acaba ativando o sistema parassimpático que medeia linfócitos e macrófagos inibindo a produção pró-inflamatória (HUSTON et al., 2006; PEÑA et al., 2011; ROSAS-BALLINA et al., 2011), melhorando a sobrevida em sepse experimental, choque hemorrágico, lesão de isquemia-reperfusão e outras condições de citocina excesso (JOHNSTON; WEBSTER, 2009). Já o ETANV ativa o sistema vagal ao fornecer pulsos elétricos ao ramo auricular do nervo vago, portando considerar a ativação parassimpática via ETANV e monitorar os efeitos cardíacos é indicado (BADRAN et al., 2019; BAPTISTA et al., 2020).

Vale a pena considerar que este foi o primeiro estudo documentado até o momento que avaliou o efeito da ETANV na VFC em pessoas hospitalizadas com COVID-19.

7. Conclusão

Com base nos resultados deste estudo, a estimulação transcutânea auricular do nervo vago não interferiu na modulação autônoma cardíaca em indivíduos acometidos com COVID-19.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AALBERS, M. et al. Animal models for vagus nerve stimulation in epilepsy. **Experimental Neurology**, v. 230, n. 2, p. 167–175, ago. 2011.
- ADAIR, D. et al. Electrical stimulation of cranial nerves in cognition and disease. **Brain Stimulation**, v. 13, n. 3, p. 717–750, maio 2020.
- AIHUA, L. et al. A controlled trial of transcutaneous vagus nerve stimulation for the treatment of pharmacoresistant epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 39, p. 105–110, out. 2014.
- ANNANE, D. et al. Inappropriate Sympathetic Activation at Onset of Septic Shock. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 160, n. 2, p. 458–465, 1 ago. 1999.
- ANNANE, D. Adjunctive treatment in septic shock: What's next? **La Presse Médicale**, v. 45, n. 4, p. e105–e109, abr. 2016.
- ANNANE, D. et al. Erratum to: Design and conduct of the activated protein C and corticosteroids for human septic shock (APROCCHSS) trial. **Annals of Intensive Care**, v. 6, n. 1, p. 79, 19 dez. 2016.
- AUBERT, A. E.; SEPS, B.; BECKERS, F. Heart Rate Variability in Athletes. **Sports Medicine**, v. 33, n. 12, p. 889–919, 2003.
- AZABOU, E. et al. Vagus Nerve Stimulation: A Potential Adjunct Therapy for COVID-19. **Frontiers in Medicine**, v. 8, 7 maio 2021.
- BADRAN, B. W. et al. Laboratory Administration of Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation (taVNS): Technique, Targeting, and Considerations. **Journal of Visualized Experiments**, n. 143, 7 jan. 2019.
- BAILEY, P.; BREMER, F. A SENSORY CORTICAL REPRESENTATION OF THE VAGUS NERVE: WITH A NOTE ON THE EFFECTS OF LOW BLOOD PRESSURE ON THE CORTICAL ELECTROGRAM. **Journal of Neurophysiology**, v. 1, n. 5, p. 405–412, 1 set. 1938.
- BAPTISTA, A. F. et al. Applications of Non-invasive Neuromodulation for the Management of Disorders Related to COVID-19. **Frontiers in Neurology**, v. 11, 25 nov. 2020.
- BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516–658, 3 mar. 2021.
- BEN-MENACHEM, E. et al. Vagus Nerve Stimulation for Treatment of Partial Seizures: 1. A Controlled Study of Effect on Seizures. **Epilepsia**, v. 35, n. 3, p. 616–626, maio 1994.
- BEN-MENACHEM, E. et al. Surgically implanted and non-invasive vagus nerve stimulation: a review of efficacy, safety and tolerability. **European journal of neurology**, v. 22, n. 9, p. 1260–8, set. 2015.

- BENTO, L.; FONSECA-PINTO, R.; PÓVOA, P. Autonomic nervous system monitoring in intensive care as a prognostic tool. Systematic review. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 29, n. 4, 2017.
- BERNTSON, G. G. et al. Heart rate variability: Origins, methods, and interpretive caveats. **Psychophysiology**, v. 34, n. 6, p. 623–648, nov. 1997.
- BERTHOUD, H.-R.; NEUHUBER, W. L. Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. **Autonomic Neuroscience**, v. 85, n. 1–3, p. 1–17, dez. 2000.
- BRODDE, O.-E. et al. The β -adrenergic receptor in human lymphocytes: Subclassification by the use of a new radio-ligand, (\pm)-125iodocyanopindolol. **Life Sciences**, v. 29, n. 21, p. 2189–2198, nov. 1981.
- BROUCQSAULT-DÉDRIE, C. et al. Measurement of Heart Rate Variability to Assess Pain in Sedated Critically Ill Patients: A Prospective Observational Study. **PLOS ONE**, v. 11, n. 1, p. e0147720, 25 jan. 2016.
- BUSCHMAN, H. P. et al. Heart Rate Control Via Vagus Nerve Stimulation. **Neuromodulation: Technology at the Neural Interface**, v. 9, n. 3, p. 214–220, jul. 2006.
- CAPONE, F. et al. The effect of transcutaneous vagus nerve stimulation on cortical excitability. **Journal of Neural Transmission**, v. 122, n. 5, p. 679–685, 3 maio 2015.
- CARUANA-MONTALDO, B.; GLEESON, K.; ZWILLICH, C. W. The Control of Breathing in Clinical Practice. **Chest**, v. 117, n. 1, p. 205–225, jan. 2000.
- CATAI, A. M. et al. Effects of aerobic exercise training on heart rate variability during wakefulness and sleep and cardiorespiratory responses of young and middle-aged healthy men. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 6, p. 741–752, jun. 2002.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Covid-19**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>>. Acesso em: 26 dez. 2022.
- CHASE, M. H. et al. Afferent vagal stimulation: Neurographic correlates of induced eeg synchronization and desynchronization. **Brain Research**, v. 5, n. 2, p. 236–249, jun. 1967.
- CHAVEZ, S. et al. Coronavirus Disease (COVID-19): A primer for emergency physicians. **The American Journal of Emergency Medicine**, v. 44, p. 220–229, jun. 2021.
- CHEN, T. et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. **BMJ**, p. m1091, 26 mar. 2020.
- CHIGR, F.; MERZOUKI, M.; NAJIMI, M. Autonomic Brain Centers and Pathophysiology of COVID-19. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 11, n. 11, p. 1520–1522, 3 jun. 2020.
- CLANCY, J. A. et al. Non-invasive Vagus Nerve Stimulation in Healthy Humans Reduces Sympathetic Nerve Activity. **Brain Stimulation**, v. 7, n. 6, p. 871–877, nov. 2014.
- CLANCY, J. A.; DEUCHARS, S. A.; DEUCHARS, J. The wonders of the Wanderer. **Experimental Physiology**, v. 98, n. 1, p. 38–45, jan. 2013.

CORRÊA, F. I. et al. 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**, v. 12, n. 10, p. 1644, 19 out. 2022.

CUI, J.; LI, F.; SHI, Z.-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 3, p. 181–192, 10 mar. 2019.

DALISE, A. M. et al. Autonomic Nervous System and Cognitive Impairment in Older Patients: Evidence From Long-Term Heart Rate Variability in Real-Life Setting. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 12, 11 mar. 2020.

DE CASTILHO, F. M. et al. Heart rate variability as predictor of mortality in sepsis: A systematic review. **PLOS ONE**, v. 13, n. 9, p. e0203487, 11 set. 2018.

DE JONCKHEERE, J. et al. **Heart rate variability analysis as an index of emotion regulation processes: Interest of the Analgesia Nociception Index (ANI)**. 2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. **Anais...IEEE**, ago. 2012.

DE WIT, E. et al. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 8, p. 523–534, 27 ago. 2016.

DEGIORGIO, C. M. et al. Prospective Long-Term Study of Vagus Nerve Stimulation for the Treatment of Refractory Seizures. **Epilepsia**, v. 41, n. 9, p. 1195–1200, set. 2000.

DIETRICH, S. et al. A novel transcutaneous vagus nerve stimulation leads to brainstem and cerebral activations measured by functional MRI / Funktionelle Magnetresonanztomographie zeigt Aktivierungen des Hirnstamms und weiterer zerebraler Strukturen unter transkutaner Vagusnervstimulation. **Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering**, v. 53, n. 3, p. 104–111, 1 jan. 2008.

DYAVANAPALLI, J. et al. Parasympathetic Vagal Control of Cardiac Function. **Current Hypertension Reports**, v. 18, n. 3, p. 22, 5 mar. 2016.

FARMER, A. D. et al. International Consensus Based Review and Recommendations for Minimum Reporting Standards in Research on Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation (Version 2020). **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 14, 23 mar. 2021.

FELTEN, D. L. et al. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 135, n. 2 Suppl, p. 755s–765s, ago. 1985.

GANTA, C. K. et al. Central angiotensin II-enhanced splenic cytokine gene expression is mediated by the sympathetic nervous system. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 289, n. 4, p. H1683–H1691, out. 2005.

GEORGE, M. S.; ASTON-JONES, G. Noninvasive techniques for probing neurocircuitry and treating illness: vagus nerve stimulation (VNS), transcranial magnetic stimulation (TMS) and transcranial direct current stimulation (tDCS). **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 301–316, 19 jan. 2010.

GHIA, J. E. et al. The Vagus Nerve: A Tonic Inhibitory Influence Associated With Inflammatory Bowel Disease in a Murine Model. **Gastroenterology**, v. 131, n. 4, p. 1122–1130, out. 2006.

GHOSH, R. et al. Autonomic dysfunction heralding acute motor axonal neuropathy in COVID-19. **Journal of NeuroVirology**, v. 26, n. 6, p. 964–966, 11 dez. 2020.

GIDRON, Y. et al. The Vagus Nerve Can Predict and Possibly Modulate Non-Communicable Chronic Diseases: Introducing a Neuroimmunological Paradigm to Public Health. **Journal of Clinical Medicine**, v. 7, n. 10, p. 371, 19 out. 2018.

GIUSTINO, G. et al. Takotsubo Cardiomyopathy in COVID-19. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 76, n. 5, p. 628–629, ago. 2020.

GOLDBERGER, J. J. et al. Autonomic Nervous System Dysfunction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 73, n. 10, p. 1189–1206, mar. 2019.

GOVERSE, G.; STAKENBORG, M.; MATTEOLI, G. The intestinal cholinergic anti-inflammatory pathway. **The Journal of Physiology**, v. 594, n. 20, p. 5771–5780, 15 out. 2016.

GUO, Z.-P. et al. Use of Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation as an Adjuvant Therapy for the Depressive Symptoms of COVID-19: A Literature Review. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, 15 dez. 2021.

HEYMANN, D. L.; SHINDO, N. COVID-19: what is next for public health? **The Lancet**, v. 395, n. 10224, p. 542–545, fev. 2020.

HOLZMAN, J. B.; BRIDGETT, D. J. Heart rate variability indices as bio-markers of top-down self-regulatory mechanisms: A meta-analytic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 74, p. 233–255, mar. 2017.

HOWLAND, R. H. New Developments With Vagus Nerve Stimulation Therapy. **Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services**, v. 52, n. 3, p. 11–14, mar. 2014a.

HOWLAND, R. H. Vagus Nerve Stimulation. **Current Behavioral Neuroscience Reports**, v. 1, n. 2, p. 64–73, 7 jun. 2014b.

HUANG, C. et al. Mining the Characteristics of COVID-19 Patients in China: Analysis of Social Media Posts. **Journal of Medical Internet Research**, v. 22, n. 5, p. e19087, 17 maio 2020.

HUANG, I.; LIM, M. A.; PRANATA, R. Diabetes mellitus is associated with increased mortality and severity of disease in COVID-19 pneumonia – A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 14, n. 4, p. 395–403, jul. 2020.

HUSTON, J. M. et al. Splenectomy inactivates the cholinergic antiinflammatory pathway during lethal endotoxemia and polymicrobial sepsis. **Journal of Experimental Medicine**, v. 203, n. 7, p. 1623–1628, 10 jul. 2006.

- HYNYNEN, E. et al. The incidence of stress symptoms and heart rate variability during sleep and orthostatic test. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 5, p. 733–741, 24 maio 2011.
- JARCZOK, M. N. et al. First Evaluation of an Index of Low Vagally-Mediated Heart Rate Variability as a Marker of Health Risks in Human Adults: Proof of Concept. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 11, p. 1940, 11 nov. 2019.
- JOHNSTON, G. R.; WEBSTER, N. R. Cytokines and the immunomodulatory function of the vagus nerve. **British Journal of Anaesthesia**, v. 102, n. 4, p. 453–462, abr. 2009.
- JOUNG, J. et al. A literature review for the mechanisms of stress-induced liver injury. **Brain and Behavior**, v. 9, n. 3, p. e01235, 13 mar. 2019.
- KANIUSAS, E. et al. Non-invasive Auricular Vagus Nerve Stimulation as a Potential Treatment for Covid19-Originated Acute Respiratory Distress Syndrome. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 28 jul. 2020.
- KARAHAN, M. et al. Autonomic dysfunction detection by an automatic pupillometer as a non-invasive test in patients recovered from COVID-19. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 259, n. 9, p. 2821–2826, 27 set. 2021.
- KIM, H.-G. et al. Stress and Heart Rate Variability: A Meta-Analysis and Review of the Literature. **Psychiatry Investigation**, v. 15, n. 3, p. 235–245, 25 mar. 2018.
- KIUCHI, M. G. et al. Sympathetic Activation in Hypertensive Chronic Kidney Disease – A Stimulus for Cardiac Arrhythmias and Sudden Cardiac Death? **Frontiers in Physiology**, v. 10, 14 jan. 2020.
- KRAUS, T. et al. CNS BOLD fMRI Effects of Sham-Controlled Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation in the Left Outer Auditory Canal – A Pilot Study. **Brain Stimulation**, v. 6, n. 5, p. 798–804, set. 2013.
- KUBA, K. et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. **Nature Medicine**, v. 11, n. 8, p. 875–879, 10 ago. 2005.
- KUKLA, M. et al. COVID-19, MERS and SARS with Concomitant Liver Injury—Systematic Review of the Existing Literature. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 5, p. 1420, 11 maio 2020.
- KUO, T. B. J. et al. Regression Analysis Between Heart Rate Variability and Baroreflex-Related Vagus Nerve Activity in Rats. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 16, n. 8, p. 864–869, ago. 2005.
- LABORDE, S.; MOSLEY, E.; THAYER, J. F. Heart Rate Variability and Cardiac Vagal Tone in Psychophysiological Research – Recommendations for Experiment Planning, Data Analysis, and Data Reporting. **Frontiers in Psychology**, v. 08, 20 fev. 2017.
- LANSKA, D. J. J.L. Corning and vagal nerve stimulation for seizures in the 1880s. **Neurology**, v. 58, n. 3, p. 452–9, 12 fev. 2002.

- LEDOWSKI, T. et al. Analgesia nociception index: evaluation as a new parameter for acute postoperative pain. **British Journal of Anaesthesia**, v. 111, n. 4, p. 627–629, out. 2013.
- LEITZKE, M. et al. Autonomic balance determines the severity of COVID-19 courses. **Bioelectronic Medicine**, v. 6, n. 1, p. 22, 24 dez. 2020.
- LIU, Y.; LI, J.; FENG, Y. Critical care response to a hospital outbreak of the 2019-nCoV infection in Shenzhen, China. **Critical Care**, v. 24, n. 1, p. 56, 19 dez. 2020.
- LUK, H. K. H. et al. Molecular epidemiology, evolution and phylogeny of SARS coronavirus. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 71, p. 21–30, jul. 2019.
- MATSUSHITA, K. et al. Impact of COVID-19 on the Cardiovascular System: A Review. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 5, p. 1407, 9 maio 2020.
- MCALLEN, R. M. et al. The interface between cholinergic pathways and the immune system and its relevance to arthritis. **Arthritis Research & Therapy**, v. 17, n. 1, p. 87, 31 dez. 2015.
- MERCURO, G. et al. Estradiol-17 β reduces blood pressure and restores the normal amplitude of the circadian blood pressure rhythm in postmenopausal hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 11, n. 8, p. 909–913, ago. 1998.
- MINHAS, A. S. et al. Takotsubo Syndrome in the Setting of COVID-19. **JACC: Case Reports**, v. 2, n. 9, p. 1321–1325, jul. 2020.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **CORONAVÍRUS BRASIL**. Disponível em: <<https://covid.saude.gov.br/>>. Acesso em: 26 dez. 2022.
- MOL, M. B. A. et al. Heart-rate-variability (HRV), predicts outcomes in COVID-19. **PLOS ONE**, v. 16, n. 10, p. e0258841, 28 out. 2021.
- MORRIS, G. L. et al. Evidence-based guideline update: Vagus nerve stimulation for the treatment of epilepsy: Report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology. **Neurology**, v. 81, n. 16, p. 1453–1459, 15 out. 2013.
- MOSTARDA, C. et al. Hipertensão e modulação autonômica no idoso: papel do exercício físico. **Rev Bras Hipertens**, v. 16, n. 1, p. 55–60, 2009.
- MURRAY, A. R. et al. The strange case of the ear and the heart: The auricular vagus nerve and its influence on cardiac control. **Autonomic Neuroscience**, v. 199, p. 48–53, ago. 2016.
- NOVAIS, L. D. et al. Avaliação da variabilidade da frequência cardíaca em repouso de homens saudáveis sedentários e de hipertensos e coronariopatias em treinamento físico. **Braz. j. phys. ther.(Impr.)**, v. 8, n. 3, p. 207–213, 2004.
- OLSHANSKY, B. et al. Parasympathetic Nervous System and Heart Failure. **Circulation**, v. 118, n. 8, p. 863–871, 19 ago. 2008.
- PAN, L. et al. Clinical Characteristics of COVID-19 Patients With Digestive Symptoms in Hubei, China: A Descriptive, Cross-Sectional, Multicenter Study. **American Journal of Gastroenterology**, v. 115, n. 5, p. 766–773, 14 maio 2020.

- PASCHOAL, M. A.; PETRELLUZZI, K. F. S.; GONÇALVES, N. V. O. Estudo da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. **Revista de Ciências Médicas**, v. 11, n. 1, p. 27–37, 2002.
- PASQUALETTO, M. C. et al. Stress Cardiomyopathy in COVID-19 Disease. **European Journal of Case Reports in Internal Medicine**, n. LATEST ONLINE, 15 maio 2020.
- PEÑA, G. et al. Cholinergic Regulatory Lymphocytes Re-Establish Neuromodulation of Innate Immune Responses in Sepsis. **The Journal of Immunology**, v. 187, n. 2, p. 718–725, 15 jul. 2011.
- PENRY, J. K.; DEAN, J. C. Prevention of Intractable Partial Seizures by Intermittent Vagal Stimulation in Humans: Preliminary Results. **Epilepsia**, v. 31, n. s2, p. S40–S43, jun. 1990.
- PERLMAN, S. Another Decade, Another Coronavirus. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 8, p. 760–762, 20 fev. 2020.
- PHAN, T. Novel coronavirus: From discovery to clinical diagnostics. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 79, p. 104211, abr. 2020.
- PLAZA-FLORIDO, A. et al. 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. **Journal of Medical Systems**, v. 45, n. 1, p. 2, 25 jan. 2021.
- POPOV, S. V. et al. Drug-free correction of the tone of the autonomic nervous system in the management of cardiac arrhythmia in coronary artery disease. **INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOMEDICINE**, v. 3, n. 2, p. 74–77, 2013.
- PORZIONATO, A. et al. Sympathetic activation: a potential link between comorbidities and COVID-19. **The FEBS Journal**, v. 287, n. 17, p. 3681–3688, set. 2020.
- RAJENDRA, A. U. et al. Heart rate variability: a review. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v. 44, n. 12, p. 1031–1051, 17 dez. 2006.
- RAOULT, D. et al. Coronavirus infections: Epidemiological, clinical and immunological features and hypotheses. **Cell Stress**, v. 4, n. 4, p. 66–75, 13 abr. 2020.
- ROSAS-BALLINA, M. et al. Acetylcholine-Synthesizing T Cells Relay Neural Signals in a Vagus Nerve Circuit. **Science**, v. 334, n. 6052, p. 98–101, 7 out. 2011.
- RUAN, Q. et al. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. **Intensive Care Medicine**, v. 46, n. 5, p. 846–848, 3 maio 2020.
- SAEKI, Y. et al. Reflex control of autonomic function induced by posture change during the menstrual cycle. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 66, n. 1–2, p. 69–74, set. 1997.
- SANTOS, M. D. B. et al. Estudo da arritmia sinusal respiratória e da variabilidade da frequência cardíaca de homens jovens e de meia-idade. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo**, v. 13, n. 3, p. 15–24, 2003.

- SARDU, C. et al. Hypertension, Thrombosis, Kidney Failure, and Diabetes: Is COVID-19 an Endothelial Disease? A Comprehensive Evaluation of Clinical and Basic Evidence. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 5, p. 1417, 11 maio 2020.
- SCHILLER, A. M.; PELLEGRINO, P. R.; ZUCKER, I. H. The renal nerves in chronic heart failure: efferent and afferent mechanisms. **Frontiers in Physiology**, v. 6, 7 ago. 2015.
- SCHMITT, L. et al. Typology of “Fatigue” by Heart Rate Variability Analysis in Elite Nordic-skiers. **International Journal of Sports Medicine**, v. 36, n. 12, p. 999–1007, 7 ago. 2015.
- SEITZ, T. et al. Percutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation Reduces Inflammation in Critical Covid-19 Patients. **Frontiers in Physiology**, v. 13, 4 jul. 2022.
- SERHAN, C. N.; ROSA, X.; JOUVENE, C. Novel mediators and mechanisms in the resolution of infectious inflammation: evidence for vagus regulation. **Journal of Internal Medicine**, v. 286, n. 3, p. 240–258, 18 set. 2019.
- SHI, S. et al. Association of Cardiac Injury With Mortality in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China. **JAMA Cardiology**, v. 5, n. 7, p. 802, 1 jul. 2020.
- SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. Artmed editora ed. [s.l.: s.n.].
- SINGHAL, T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 87, n. 4, p. 281–286, 13 abr. 2020.
- STAATS, P. 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: Technology at the Neural Interface**, v. 23, n. 6, p. 784–788, ago. 2020.
- SUN, P. et al. Involvement of MAPK/NF- κ B Signaling in the Activation of the Cholinergic Anti-Inflammatory Pathway in Experimental Colitis by Chronic Vagus Nerve Stimulation. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. e69424, 2 ago. 2013.
- 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**, v. 93, n. 5, p. 1043–65, 1 mar. 1996.
- TAZA, F. et al. Takotsubo cardiomyopathy triggered by SARS-CoV-2 infection in a critically ill patient. **BMJ Case Reports**, v. 13, n. 6, p. e236561, 14 jun. 2020.
- THAYER, J. F.; LANE, R. D. A model of neurovisceral integration in emotion regulation and dysregulation. **Journal of Affective Disorders**, v. 61, n. 3, p. 201–216, dez. 2000.
- THAYER, J. F.; YAMAMOTO, S. S.; BROSSCHOT, J. F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. **International Journal of Cardiology**, v. 141, n. 2, p. 122–131, maio 2010.

TOPOL, E. J. COVID-19 can affect the heart. **Science**, v. 370, n. 6515, p. 408–409, 23 out. 2020.

TORRES-ROSAS, R. et al. Dopamine mediates vagal modulation of the immune system by electroacupuncture. **Nature Medicine**, v. 20, n. 3, p. 291–295, 23 mar. 2014.

UTHMAN, B. M. et al. Treatment of epilepsy by stimulation of the vagus nerve. **Neurology**, v. 43, n. 7, p. 1338–1338, jul. 1993.

VAN LEUSDEN, J. W. R.; SELLARO, R.; COLZATO, L. S. Transcutaneous Vagal Nerve Stimulation (tVNS): a new neuromodulation tool in healthy humans? **Frontiers in Psychology**, v. 6, 10 fev. 2015.

VANDERLEI, L. C. M. et al. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 24, n. 2, p. 205–217, jun. 2009.

VENTUREYRA, E. C. G. Transcutaneous vagus nerve stimulation for partial onset seizure therapy. **Child's Nervous System**, v. 16, n. 2, p. 101–102, 9 fev. 2000.

WANG, C. et al. A novel coronavirus outbreak of global health concern. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 470–473, fev. 2020.

WANG, H. et al. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation. **Nature**, v. 421, n. 6921, p. 384–388, 22 jan. 2003.

WANG, L. et al. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulators: a review of past, present, and future devices. **Expert Review of Medical Devices**, v. 19, n. 1, p. 43–61, 2 jan. 2022.

WEISS, S. R.; NAVAS-MARTIN, S. Coronavirus Pathogenesis and the Emerging Pathogen Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 69, n. 4, p. 635–664, dez. 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Coronavirus disease (COVID-19) pandemic**. Disponível em: <<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>>. Acesso em: 26 dez. 2022a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard**. Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Acesso em: 26 dez. 2022b.

WU, C. et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. **JAMA Internal Medicine**, v. 180, n. 7, p. 934, 1 jul. 2020.

XHYHERI, B. et al. Heart Rate Variability Today. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 55, n. 3, p. 321–331, nov. 2012.

XU, Z. et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 4, p. 420–422, abr. 2020.

YAP, J. Y. Y. et al. Critical Review of Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation: Challenges for Translation to Clinical Practice. **Frontiers in Neuroscience**, v. 14, 28 abr. 2020.

YUAN, H.; SILBERSTEIN, S. D. Vagus Nerve and Vagus Nerve Stimulation, a Comprehensive Review: Part II. **Headache: The Journal of Head and Face Pain**, v. 56, n. 2, p. 259–266, fev. 2016.

ZABARA, J. Inhibition of Experimental Seizures in Canines by Repetitive Vagal Stimulation. **Epilepsia**, v. 33, n. 6, p. 1005–1012, nov. 1992.

ZAMOTRINSKY, A. et al. Effects of electrostimulation of the vagus afferent endings in patients with coronary artery disease. **Coronary artery disease**, v. 8, n. 8–9, p. 551–7, 1997.

ZAMOTRINSKY, A. V.; KONDRATIEV, B.; DE JONG, J. W. Vagal neurostimulation in patients with coronary artery disease. **Autonomic Neuroscience**, v. 88, n. 1–2, p. 109–116, abr. 2001.

ZANCHETTI, A.; WANG, S. C.; MORUZZI, G. The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 4, n. 3, p. 357–361, ago. 1952.

ZHANG, H. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. **Intensive Care Medicine**, v. 46, n. 4, p. 586–590, 3 abr. 2020.

9. APÊNDICES

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 ao 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

AVALIAÇÃO

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-morbidades 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 Pré tratamento	Não apresento	Apresento levemente	Apresento de forma moderada	Apresento de forma acentuada	Quando começou (dias)?
Fraqueza muscular					
Fadiga					
Dificuldade para respirar/dispnéia					
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					
Diarréia					

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 150 μ s, 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

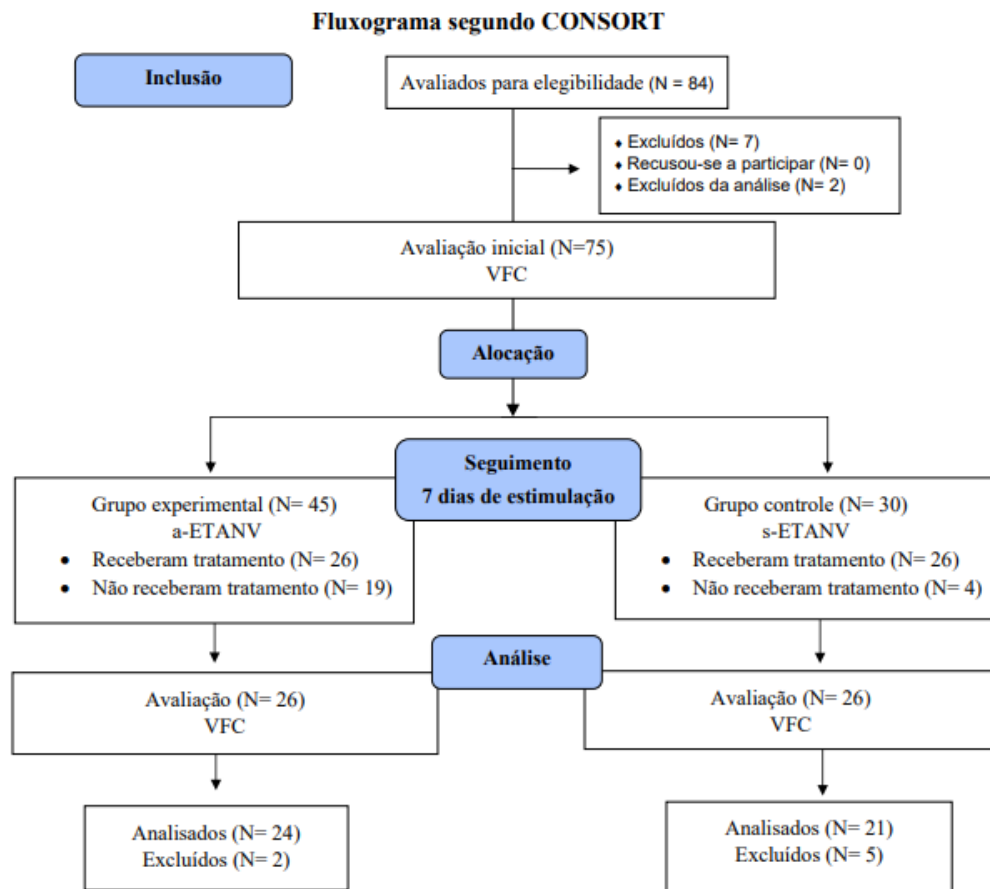
Observações sobre estado clínico:

Sintomas Pré tratamento	Não apresento	Apresento levemente	Apresento de forma moderada	Apresento de forma acentuada	Quando começou (dias)?
Fraqueza muscular					
Fadiga					
Dificuldade para respirar/dispnéia					
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					
Diarréia					

[illegible]

APÊNDICE C – Fluxograma do estudo



Legenda: Figura S 1- Fluxograma do estudo. Estimulação transcutânea auricular do nervo vago experimental (a-ETANV); Estimulação transcutânea auricular do nervo vago simulada (s-ETANV); Variabilidade da frequência cardíaca (VFC).



Article

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



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.: +55-11-973-440-380

Simple Summary: The vagus nerve is related to the inflammatory process, therefore, some studies have investigated the effects of vagus nerve stimulation for inflammatory disease, including for patients who were being treated for COVID-19. This study aimed to investigate the effects of auricular vagus nerve stimulation for hospital inpatients due to COVID-19 disease, showing that it can help fight inflammation and has been shown to reduce inpatients' symptoms of depression.

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), 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 on 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 neuro immunomodulator 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).

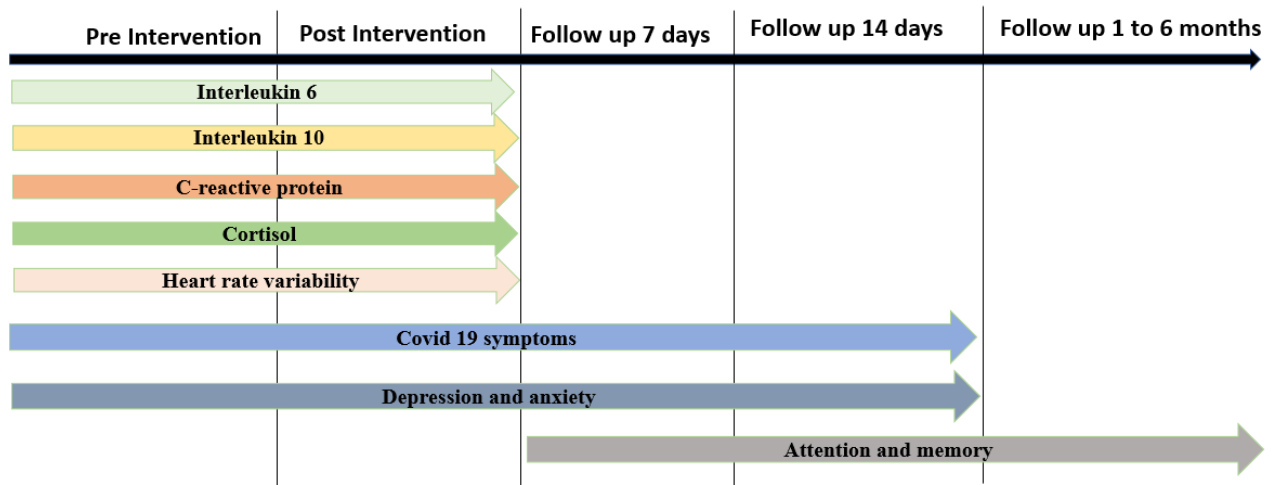


Figure 1. Timeline of Outcome Measures. Source: authors.

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.

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

Variables	a-taVNS (N=26)	s-taVNS (N=26)
Participants		
Sex, male n (%)	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, n (%)	12 (46%)	15 (58%)
Diabetes mellitus, n (%)	7 (27%)	7 (27%)
Obesity, n (%)	11 (42%)	13 (50%)
COPD, n (%)	1 (4%)	7 (27%)
Smokers, n (%)	1 (4%)	1 (4%)
Vaccinated, n (%)	21 (81%)	15 (58%)
Pfizer, n (%)		
1st dose	2 (8%)	1 (4%)
2nd dose	1 (4%)	0 (0%)
CoronaVAC, n (%)		
1st dose	12 (46%)	10 (38%)
2nd dose	9 (35%)	10 (38%)
AstraZeneca, n (%)		
1st dose	6 (23%)	3 (12%)
2nd dose	4 (15%)	2 (8%)
Janssen, n (%)	1 (4%)	1 (4%)

Legend: Values presented in absolute frequency, mean and standard deviation (SD). BMI (Body mass index), SBP (Systolic blood pressure), DPB (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)

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.

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).

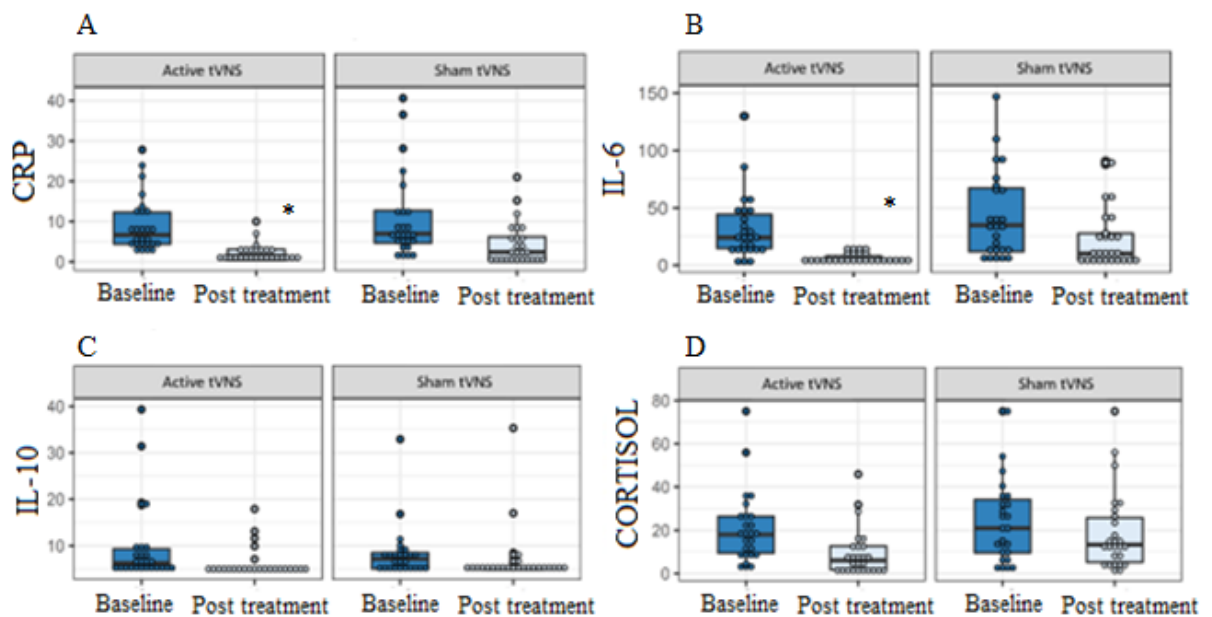


Figure 2. Effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) on CRP (C-reactive protein) levels (A), IL-6 (interleukin 6) (B), IL-10 (interleukin 10) (C), cortisol (D) at baseline and after 14 sessions of taVNS, for groups a-taVNS ($n = 26$) and s-taVNS ($n = 26$). * $p < 0.05$.

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).

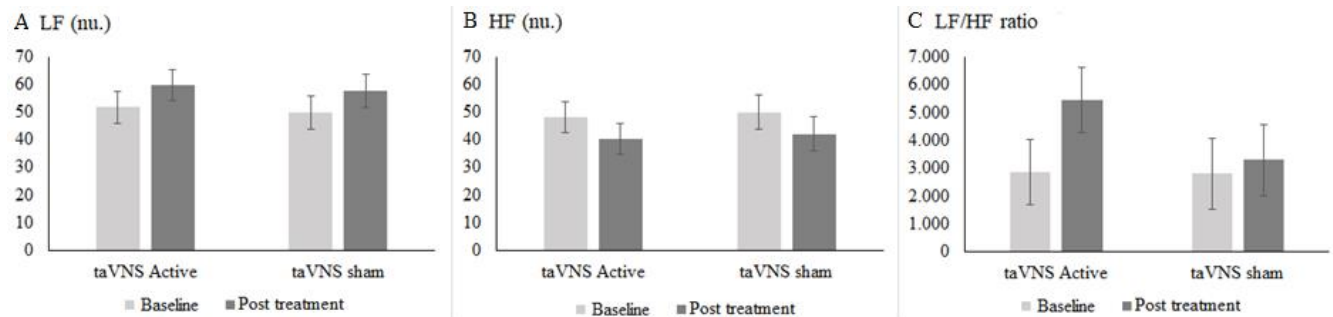


Figure 3. Effects of taVNS at baseline and after 14 sessions of taVNS on the variables LF (Low Frequency) (A); HF (High Frequency) (B); HF/LF (High Frequency and Low Frequency Ratio) (C) for the a-taVNS ($n = 24$) and s-taVNS ($n = 21$) groups. n.u (Standardized Units). Data Expressed as mean and standard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

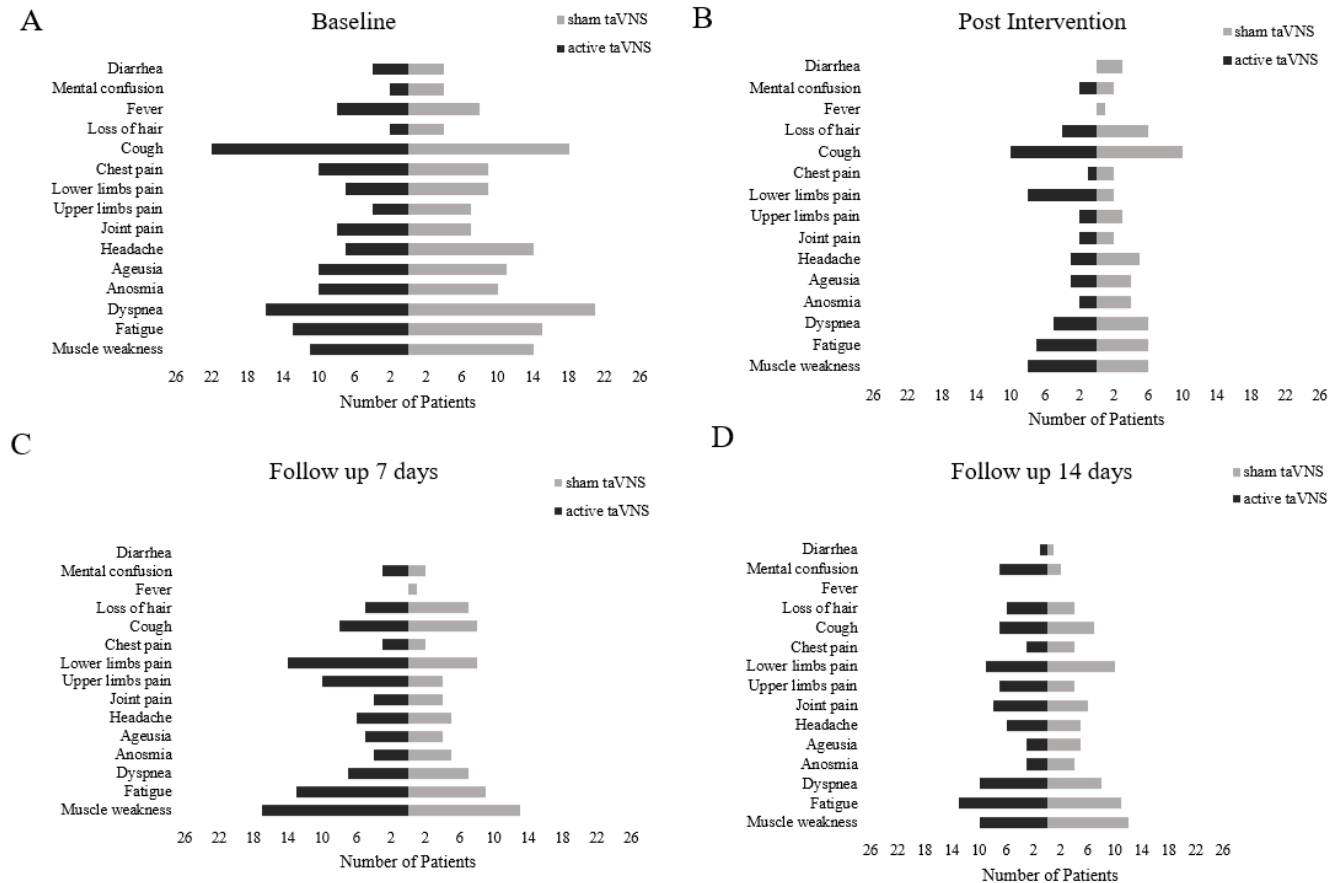


Figure 4. Clinical symptoms of the a-taVNS (N = 26) and s-taVNS (N = 26) groups pre-treatment (A); post-treatment (B); 7 days of follow-up (C); 14 days of follow-up (D). Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS).

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.

	a-taVNS (N=20)								s-taVNS (N=20)							
Outcome	7d	14d	30d	60d	90d	120d	150d	180d	7d	14d	30d	60d	90d	120d	150d	180d
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)
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)

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. Dr. Fregni has NIH grants and is a consultant for “Neurive Co”.

References

1. Huang C, Xu X, Cai Y, et al. Mining the characteristics of COVID-19 patients in china: Analysis of social media posts. *J Med Internet Res*. 2020;22(5). doi:10.2196/19087
2. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*. 2020;395(10229):1054-1062. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3
3. Kaniusas E, Szeles JC, Kampusch S, et al. Non-invasive Auricular Vagus Nerve Stimulation as a Potential Treatment for Covid19-Originated Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front Physiol*. 2020;11. doi:10.3389/fphys.2020.00890
4. Wu C, Chen X, Cai Y, 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(7):934-943. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994
5. 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(1). doi:10.1186/s13054-020-2786-x
6. Beekwilder JP, Beems T. Overview of the Clinical Applications of Vagus Nerve Stimulation. *Journal of clinical neurophysiology*. 2010;27(2):130-138. doi:10.1097/WNP.0b013e3181d64d8a
7. Sinkovec M, Trobec R, Meglic B. Cardiovascular responses to low-level transcutaneous vagus nerve stimulation. *Auton Neurosci*. 2021;236. doi:10.1016/j.autneu.2021.102851
8. Tornero C, Pastor E, Garzando M del M, et al. Non-invasive Vagus Nerve Stimulation for COVID-19: Results From a Randomized Controlled Trial (SAVIOR I). *Front Neurol*. 2022;13. doi:10.3389/fneur.2022.820864
9. 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):166-167. doi:10.1111/ner.13293
10. Zuanetti G, de Ferrari GM, Priori SG, Schwartz PJ. Protective Effect of Vagal Stimulation on Reperfusion Arrhythmias in Cats. *Circ Res*. 1987;61(3):429-435. doi:10.1161/01.res.61.3.429
11. 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*. 2014;7(6):871-877. doi:10.1016/j.brs.2014.07.031

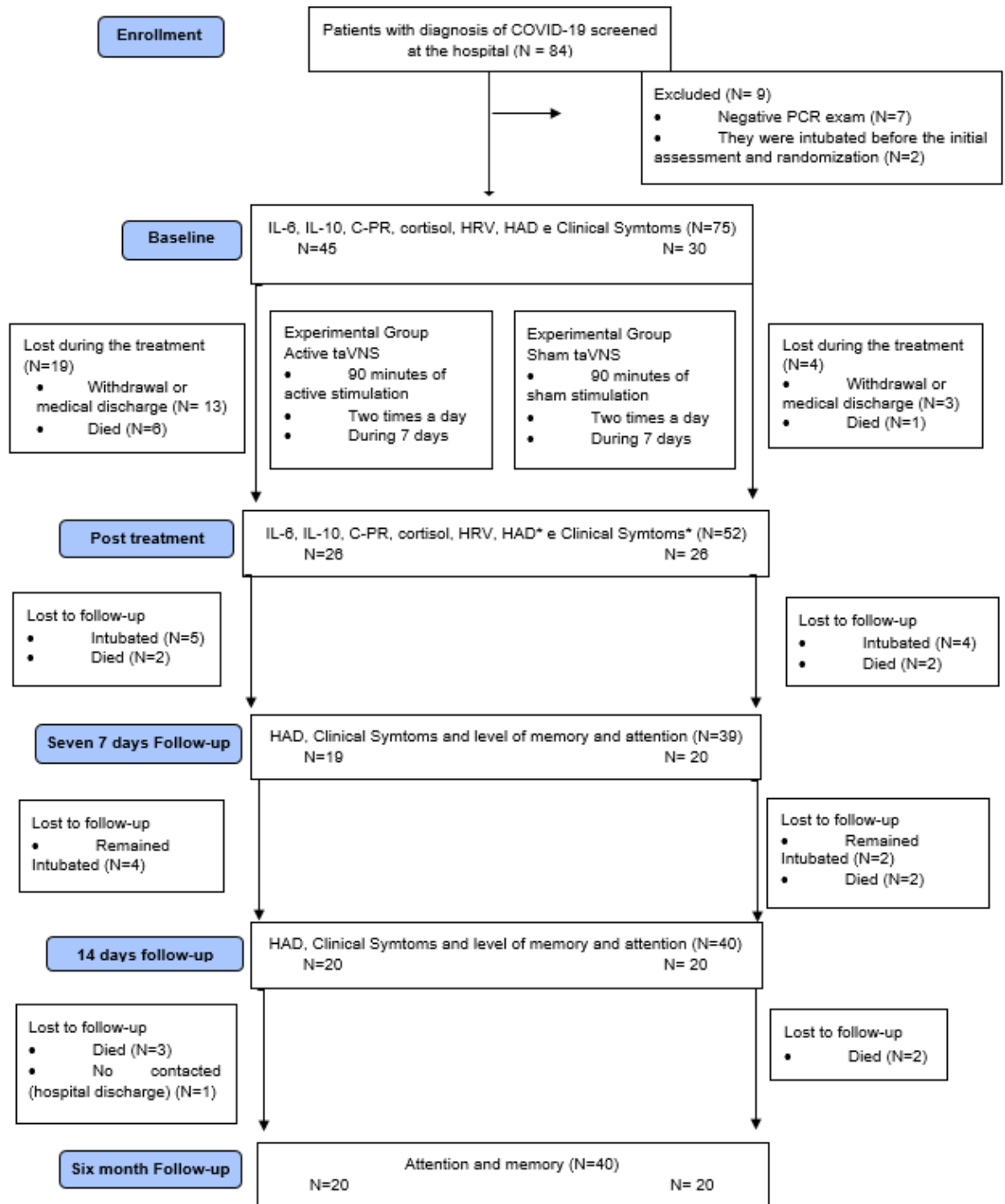
12. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation and Clinical Use. Vol 93.; 1996.
13. Plaza-Florido A, Alcantara & JMA, Amaro-Gahete FJ, Sacha J, Ortega FB. 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(1). doi:10.1007/s10916-020-01673-9
14. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, Wu Y, Zhang L, Yu Z, Fang M, Yu T, Wang Y, Pan S, Zou X, Yuan S, Shang Y. 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 May;8(5):475-481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5. Epub 2020 Feb 24. Erratum in: *Lancet Respir Med*. 2020 Apr;8(4):e26. PMID: 32105632; PMCID: PMC7102538.
15. Umakanthan S, Sahu P, Ranade AV, et al Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgraduate Medical Journal* 2020;96:753-758.
16. Botega NJ, Pondé MP, Medeiros P, Lima MG, Guerreiro CAM. Validação da escala hospitalar de ansiedade e depressão (HAD) em pacientes epiléticos ambulatoriais. *J Bras Psiquiatr*. 1998;47(6):285-289. <https://www.researchgate.net/publication/285727719>
17. Guy W. *Ecdeu Assessment Manual For Psychopharmacology Revised*, 1976. Vol 76-338.; 1976. <http://www.archive.org/details/ecdeuassessmentm1933guyw>
18. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front Immunol*. 2018;9. doi:10.3389/fimmu.2018.00754
19. Sinniger V, Pellissier S, Fauvelle F, et al. A 12-month pilot study outcomes of vagus nerve stimulation in Crohn's disease. *Neurogastroenterology and Motility*. 2020;32(10). doi:10.1111/nmo.13911
20. Koopman FA, Chavan SS, Miljko S, et al. Vagus nerve stimulation inhibits cytokine production and attenuates disease severity in Rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(29):8284-8289. doi:10.1073/pnas.1605635113
21. Tarn J, Legg S, Mitchell S, Simon B, Ng WF. The Effects of Noninvasive Vagus Nerve Stimulation on Fatigue and Immune Responses in Patients With Primary Sjögren's Syndrome. *Neuromodulation*. 2019;22(5):580-585. doi:10.1111/ner.12879
22. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002;420(6917):853-859. doi:10.1038/nature01321
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(1):122-125. doi:10.3760/cma.j.cn121430-20200421-00318
24. Tracey KJ. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(6):418-428. doi:10.1038/nri2566

25. García LF. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Front Immunol.* 2020;11:1441. Published 2020 Jun 16. Doi:10.3389/fimmu.2020.01441
26. Coomes EA, Haghighi H. Interleukin-6 in Covid-19: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol.* 2020;30(6):1-9. Doi:10.1002/rmv.2141
27. Smilowitz NR, Kunichoff D, Garshick M, et al. C-reactive protein and clinical outcomes in patients with COVID-19. *Eur Heart J.* 2021;42(23):2270-2279. doi:10.1093/eurheartj/ehaa1103
28. Jones C, Gwenin C. Cortisol level dysregulation and its prevalence—Is it nature’s alarm clock? *Physiol Rep.* 2021;8(24). doi:10.14814/phy2.14644
29. 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.* 2016;19(3):283-290. doi:10.1111/ner.12398
30. Mol MBA, Strous MTA, van Osch FHM, et al. Heart-rate-variability (HRV), predicts outcomes in COVID-19. *PLoS One.* 2021;16(10). doi:10.1371/journal.pone.0258841
31. Annane D, Blanc AS, Raphael JC, Gajdos P. Inappropriate Sympathetic Activation at Onset of Septic Shock A Spectral Analysis Approach. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160(2):458-465. doi:10.1164/ajrccm.160.2.9810073
32. Ghosh R, Roy D, Sengupta S, Benito-León J. Autonomic dysfunction heralding acute motor axonal neuropathy in COVID-19. *J Neurovirol.* 2020;26(6):964-966. doi:10.1007/s13365-020-00908-2
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). doi:10.3389/fpsy.2018.00020
34. 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):784-788. doi:10.1111/ner.13172
35. 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. *Neuromodulation.* 2020;23(6):721-731. doi:10.1111/ner.13122
36. Paterson RW, Brown RL, Benjamin L, Nortley R, Wiethoff S, Bharucha T, et al.. The emerging spectrum of COVID-19 neurology: clinical, radiological and laboratory findings. *Brain.* (2020) 8: awaa240. 10.1093/brain/awaa240
37. Kremer S, Lersy F, de Sèze J, Ferré JC, Maamar A, Carsin-Nicol B, et al.. Brain MRI findings in severe COVID-19: a retrospective observational study. *Radiology.* (2020) 297:E242–51. 10.1148/radiol.2020202222

38. Bridwell R, Long B, Gottlieb M. Neurologic complications of COVID-19. *Am J Emerg Med*. 2020 Jul;38(7):1549.e3-1549.e7. doi: 10.1016/j.ajem.2020.05.024. Epub 2020 May 16. PMID: 32425321; PMCID: PMC7229718.
39. Beurel E, Toups M, Nemeroff CB. The bidirectional relationship of depression and inflammation: double trouble. *Neuron*. (2020) 107:234–56. 10.1016/j.neuron.2020.06.002
40. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK, Lanctôt KL. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry*. 2010 Mar 1;67(5):446-57. Doi: 10.1016/j.biopsych.2009.09.033. Epub 2009 Dec 16. PMID: 20015486.
41. Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med*. 2009 Feb;71(2):171-86. doi: 10.1097/PSY.0b013e3181907c1b. Epub 2009 Feb 2. PMID: 19188531.
42. 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. *Front Psychiatry*. 2021 Dec 15;12:765106. doi: 10.3389/fpsy.2021.765106. PMID: 34975571; PMCID: PMC8714783.
43. 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;14. doi:10.3389/fnhum.2020.568051
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(1-2):1-15. doi:10.1016/j.jad.2008.02.012
45. Fang J, Rong P, Hong Y, et al. Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation Modulates Default Mode Network in Major Depressive Disorder. *Biol Psychiatry*. 2016;79(4):266-273. doi:10.1016/j.biopsych.2015.03.025
46. Nemeroff CB, Mayberg HS, Kahl SE, et al. VNS Therapy in Treatment-Resistant Depression: Clinical Evidence and Putative Neurobiological Mechanisms. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31(7):1345-1355. doi:10.1038/sj.npp.1301082
47. Guo J, Feng XL, Wang XH, van IJzendoorn MH. 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(11):3857. doi:10.3390/ijerph17113857
48. Botega NJ, Zomignani MA, Garcia Junior C, Bio MR, Pereira WAB. Morbidade psiquiátrica no hospital geral: utilização da edição revisada da “Clinical Interview Schedule ŽCIS-R.” ABP-APAL. 1994;16:5762.
49. Deitos TFH, Nascimento CAM do, Noal MHO. Depressão no hospital geral: uma revisão bibliográfica. *Jornal brasileiro de psiquiatria*. 1992;7(41):327-331.

50. Evans DL, Charney DS, Lewis L, et al. Mood Disorders in the Medically Ill: Scientific Review and Recommendations. *Biol Psychiatry*. 2005;58(3):175-189. doi:10.1016/j.biopsych.2005.05.001
51. Lai J, Ma S, Wang Y, et al. Factors Associated With Mental Health Outcomes Among Health Care Workers Exposed to Coronavirus Disease 2019. *JAMA Netw Open*. 2020;3(3):e203976. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.3976
52. Harrison NA. Brain Structures Implicated in Inflammation-Associated Depression. *urrent topics in behavioral neurosciences*. 2017;31:221-248. doi:10.1007/7854_2016_30
53. Mehta ND, Haroon E, Xu X, Woolwine BJ, Li Z, Felger JC. 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. doi:10.1016/j.bbi.2018.07.026
54. Nusslock R, Brody GH, Armstrong CC, 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(2):153-162. doi:10.1016/j.biopsych.2019.03.968

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 agente	0 (0.0)	2 (7.7)	0.14
Antiepileptics	0 (0.0)	2 (7.7)	0.14
Antiseptics	0 (0.0)	1 (3.8)	0.30

* Laxants, antifatulent, or proton pump inhibitor.

Apêndice E – ACEITE PARA PUBLICAÇÃO E ARTIGO DE PROTOCOLO

Fisioterapia e Pesquisa

31-Oct-2022

FP-2022-0074 - 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

Dear Ms. UEHARA:

Manuscrito aceito para publicação, enviar a ultima versao para este email seguindo as orientações do arquivo anexo.
Prazo, até 03/11/2022, envai com assunto do email: 2022-0074 ACEITO

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

The Effects of Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation on Inflammation, Cardiac Autonomic Modulation and Clinical Evolution of Patients with COVID-19 – Clinical trial, controlled, randomized, blind and protocol study

EETNV na inflamação na COVID-19

Laura Uehara, Me¹, João Carlos Ferrari Corrêa, Dr.¹, Paulo Leite¹; Raphael Ritti, Dr¹, Felipe Fregni, Dr.²; Fernanda Ishida Corrêa, Dra.¹

Esse estudo foi desenvolvido na Universidade Nove de Julho, no Laboratório de Neuromodulação, Funcionalidade e Análise do Movimento (LANFAM), sediado na cidade de São Paulo – SP – Brasil.

1. Programa de Doutorado e Mestrado em Ciências da Reabilitação da Universidade Nove de Julho – São Paulo-SP – Brasil
2. Spaulding Neuromodulation Center, Harvard School of Public Health. Boston, EUA.

Contribuição dos autores: FIC, FF, JCFC, RR desenharam o estudo. O manuscrito foi preparado por FIC e LU e revisado por JCFC, RR e FF. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito.

ORCID: Laura Uehara - 0000-0002-3941-859X, João Carlos Ferrari Corrêa - 0000-0002-8642-9814, Paulo Leite - 0000-0002-7997-2130, Raphael Ritti - 0000-0001-7883-6746, Felipe Fregni - 0000-0001-9359-8643, Fernanda Ishida Corrêa - 0000-0001-7321-6257

Local do estudo: Esse estudo foi realizado na Universidade Nove de Julho, campus Vergueiro, São Paulo – SP e no Hospital Professora Lydia Storopoli da Universidade Nove de Julho – São Paulo- Brasil.

Financiamento: Este trabalho contou com o apoio da Universidade Nove de Julho – Universidade Nove de Julho (UNINOVE), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Aprovação de Comitê de ética: 46699521.5.0000.5511

Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos: RBR-399t4g5

*Autor correspondente: Dra. Fernanda Ishida Côrrea.

E-mail: correafe29@gmail.com

End: Rua Vergueiro, 235/249 – Liberdade
01504-001 – São Paulo (SP), Brasil

Resumo

O objetivo desse estudo é avaliar o efeito da estimulação elétrica transcutânea do nervo vago (EETNV) na inflamação, na modulação autonômica cardíaca e na evolução clínica dos pacientes com COVID-19. Esse estudo trata-se de ensaio clínico, controlado por sham, randomizado e cego, no qual participarão 52 indivíduos hospitalizados com diagnóstico de COVID-19. Os pacientes serão randomizados para dois grupos de tratamento: grupo

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

Palavra-Chave: COVID-19, nervo vago, estimulação, inflamação

Abstract

This study aim to evaluate the effect of transcutaneous vagus nerve stimulation (taVNS) on inflammation, cardiac autonomic modulation, and clinical outcome in patients with COVID-19. **It is a** randomized, blinded, sham-controlled clinical trial, in which 52 patients admitted to hospital for COVID-19 will be randomized to receive usual medical care plus taVNS or usual medical care plus sham taVNS. The stimulation will be applied through a neuromuscular electrical stimulator (Dualpex 071 model from Quark Medical Products) on the left tragus, with alternating current, with a frequency of 30Hz, variation of 50%, and intensity between 0.5 mA and 12 mA (depending on patients' tolerance), for 90 minutes two times a day, for seven consecutive days, total 14 sessions. The outcomes will be an analysis of interleukin 6, interleukin 10, cortisol, C-reactive protein, heart rate variability which will be analyzed with low frequency (LF), high frequency (HF) and high and low frequency ratio (HF/LF), blood pressure, clinical evolution and anxiety and depression score evaluated with Hospital Anxiety and Depression Scale. A follow-up of 7 and 14 days after the end of interventions for clinical evolution, including level of anxiety and **depression, memory, and attention.** For the period of

6 months will be evaluated memory and attention from the patients.

Keyword: COVID-19, vagus nerve, inflammation, neuromodulation

Introdução

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

O aspecto clínico da COVID-19 varia amplamente, no entanto, apresenta como característica uma reação imunológica com elevados níveis de citocinas inflamatórias, como a interleucina 6 (IL-6), considerada um fator importante para o aumento da mortalidade pela COVID-19^{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 foram ineficazes^{6,7}. Assim, tratamentos alternativos têm sido investigados com intuito de minimizar essa resposta inflamatória, como a estimulação elétrica transcutânea do nervo vago.

A estimulação elétrica transcutânea do nervo vago (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. Bozaart e Botha¹¹, relataram o caso de dois pacientes com COVID-19 em estágio 3, nos quais os níveis de IL-6 estavam marcadamente elevados e nos quais a EETNV foi capaz de reduzir drasticamente os níveis sanguíneos de IL-6 em um período relativamente curto. Staats et al⁸, também relataram dois casos de pacientes com sintomas de COVID-19 que fizeram uso de

EETNV, com resultados relevantes na melhora clínica, com 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 estes pesquisadores⁸, a estimulação não invasiva pode ajudar os pacientes com envolvimento respiratório de COVID-19, por meio de dois mecanismos que seriam pela broncodilatação e ativação da VAC.

Existem evidências que a EETNV também pode diminuir 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 de 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, esse estudo tem como objetivo principal avaliar o efeito da EETNV na inflamação, e como objetivos secundários avaliar a modulação autonômica cardíaca, evolução clínica, nível de depressão e ansiedade e nível de memória e atenção dos pacientes com COVID-19.

Método

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, que estejam internados no Hospital Lydia Storopoli, localizado na Universidade Nove de Julho – Campus Vergueiro - São Paulo - SP - Brasil. Os participantes serão informados sobre o procedimento antes de assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido. Este estudo foi aprovado pelo comitê de pesquisas em humano da Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brasil (46699521.5.0000.5511) e registrado no Brazilian Clinical Trials Registry (RBR–399t4g5). O fluxograma do estudo está apresentado na figura 1.

Inserir Figura 1

Participantes

Participarão do estudo 52 indivíduos com diagnóstico confirmado de COVID-19 e que estejam internados no Hospital Professora Lydia Storopoli da Universidade Nove de Julho – São Paulo- Brasil. Os pacientes selecionados deverão ser maiores de 18 anos; apresentarem diagnóstico confirmado de COVID-19 de moderado a grave¹; com início de sintomas de um a 10 dias, estarem contactantes e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido. Poderão estar recebendo oxigênio suplementar, ventilação não invasiva, mas sem estar intubado durante avaliação inicial. Não serão incluídos os pacientes que fizerem uso de implante coclear, devido à proximidade da aplicação do estímulo.

Cálculo amostral

Para o cálculo da amostra foi considerada diferença da IL-6 pós e a pré intervenção com EETNV, realizada com 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).

Procedimentos

Os participantes do estudo serão avaliados pré e pós 7 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 www.randomizer.org, em dois grupos: experimental (EETNV ativa associada ao tratamento médico usual) ou controle (EETNV *sham* associada ao tratamento médico usual). Durante 6 meses após o término do tratamento serão acompanhados o nível de memória e atenção.

➤ Painel inflamatório

Técnicas do imunoensaio enzimático

Amostras de sangue, 15 ml, serão coletadas por profissional da enfermagem por meio de punção da veia, em tubo contendo inibidor de protease e EDTA, e este será prontamente centrifugado (3000 rpm, 15 min, 4°C). O plasma deste tubo será então transferido para tubos de microcentrífuga (1.5ml) e armazenados a -80°C. Posteriormente serão enviados para um laboratório especializado em análises clínicas que farão as análises da Interleucina-6, Interleucina-10, Proteína C Reativa e cortisol.

➤ Parâmetros cardiovasculares

Serão avaliadas a pressão arterial e variabilidade da frequência cardíaca (VFC).

A pressão arterial braquial será avaliada por meio de um monitor (HEM-742, Omron Healthcare, Japão). Para essa medida, os indivíduos permanecerão por dez minutos na posição supina. Serão realizadas três medidas consecutivas, com um minuto de intervalo, em ambos os braços e com tamanho do manguito adequado para a circunferência do braço. O valor utilizado será a média das duas últimas medidas, conforme recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia¹⁴.

A variabilidade da frequência cardíaca (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 válido para esta função (V800, Polar Electro, Finlândia). Será considerado um sinal válido aqueles com pelos menos cinco minutos de sinal estacionário.

Após a coleta, os intervalos RR serão exportados para o programa Kubios HRV (Version 2.0, Biosignal Analysis and Medical Imaging Group, Finlândia), cujas 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 0,4 Hz, sendo o componente de baixa frequência (BF) representado pelas oscilações entre 0,04 e 0,15 Hz e o componente de alta frequência (AF) entre 0,15 e 0,4 Hz (40).

➤ **Evolução da doença**

Para avaliar o quadro clínico será aplicado antes, após o término das intervenções, e após 7 e 14 dias do término das intervenções, um questionário de quadro clínico contendo perguntas sobre os sintomas da Covid-19 e intensidade destes que poderá ser nenhum (N), leve (L), moderado (M) ou acentuado (A) e uma Escala de Ansiedade e Depressão (Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD))¹⁵, que consiste em 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, tempo da doença serão obtidos por meio de análise de prontuário médicos e contato telefônico (caso o paciente esteja de alta hospitalar). O nome do paciente será mantido em sigilo.

Atenção e Memória

A qualidade da atenção e memória serão obtidas por meio de um questionário o qual contém 2 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; 7) Muito pior. Trata-se de uma versão adaptada pelos autores, da Impressão Clínica Global (Clinical Global Impression – CGI)¹⁶.

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

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 existe 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.

Inserir Figura 2

A EETNV será realizada com eletrodos adesivos de 15mm, com 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 noite, com intervalo entre estimulações de 6 a 8 horas) por sete dias consecutivos, totalizando 14 sessões de estimulação. A intensidade será mantida entre 0,5mA e 12mA de acordo com a tolerância do paciente para não causa dor ou contração muscular, apenas dentro do limiar sensorial¹⁹.

Intervenção Sham

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

Análise dos dados

Os dados do presente 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 *Shapiro Wilk*. As variáveis inflamatórias (IL-6, Il-10, cortisol e PCR), nível de ansiedade e depressão e nível de memória e atenção serão calculadas com teste t pareado.

A Variabilidade da frequência cardíaca será analisada pelas seguintes variáveis de frequência: unidade normalizadas (u.n) de BF e AF e relação BF/AF analisados pelo programa *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS versão 20.0 para Windows)*. Os dados de variabilidade da frequência cardíaca, serão analisados por Equações de Estimativas Generalizadas. Será considerado significativo o valor de $p < 0,05$ e a intenção de tratar foi considerada para análise.

Discussão

A COVID-19 apresentou-se como uma pandemia global e em um curto período aumentou a curva de pacientes infectados e das taxas de mortalidade. Como consequência é observado, especialmente no Brasil, um impacto econômico e de saúde pública de grande proporção. Diante disso, cientista, e profissionais da saúde mobilizam-se em busca de reduzir este 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, garantindo melhor qualidade de vida ao 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 e para melhora de quadros clínicos relacionados ao controle autonômico para pacientes com complicações da COVID-19, com já mostrado na literatura em outras populações e em alguns relatos de casos da literatura com pacientes com COVID-19.

Conclusão

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

Referências Bibliográficas

- BARROSO, W. K. S. et al. Brazilian guidelines of hypertension - 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516–658, 2021.
- BOEZAART, A. P.; BOTH, 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** Blackwell Publishing Inc., 1 jan. 2021.
- BOROVIKOVA, L. V et al. **Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.nature.com>.
- BOTEGA, N. J. et al. **Transtornos do humor em enfermagem de clínica médica e validação de escala de medida (HAD) de ansiedade e depressão.** [s.l: s.n.].
- GUY, W. **Rating Clinician-rated.** ECDEU: [s.n.].
- KOREN G et al. Ribavirin in the treatment of SARS: A new trick for an old drug? **JAMC**, v. 168, n. 10, p. 1289–1292, 2003.
- LAI, K. N. et al. Role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. **Journal of Pathology**, v. 199, n. 4, p. 496–508, 1 abr. 2003.
- LEE, N. et al. **A Major Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome in Hong Kong** **N Engl J Med**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.nejm.org>.
- LERMAN, I. et al. Noninvasive Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation Decreases Whole Blood Culture-Derived Cytokines and Chemokines: A Randomized, Blinded, Healthy Control Pilot Trial. **Neuromodulation**, v. 19, n. 3, p. 283–291, 1 abr. 2016.
- PAN, Y. et al. Alteration of Autonomic Nervous System Is Associated With Severity and Outcomes in Patients With COVID-19. **Frontiers in Physiology**, v. 12, 19 maio 2021.
- STAATS, P. 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**, v. 23, n. 6, p. 784–788, 1 ago. 2020.
- TRACEY, K. J. **Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway.** **Journal of Clinical Investigation**, 1 fev. 2007.
- TREVIZOL, A. P. et al. **Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation (taVNS) for Major Depressive Disorder: An Open Label Proof-of-Concept Trial.** **Brain Stimulation** Elsevier Inc., 1 maio 2016.
- ULHAQ ZS; SORAYA GV. Interleukin-6 as a potential biomarker of COVID-19 progression. **Médecine et maladies infectieuses**, v. 50, p. 382–387, 2020.
- UMAKANTHAN, S. et al. **Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19).** **Postgraduate Medical Journal** BMJ Publishing Group, 1 dez. 2020.
- 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.
- YUAN, H.; SILBERSTEIN, S. D. **Vagus Nerve and Vagus Nerve Stimulation, a Comprehensive Review: Part II. Headache** Blackwell Publishing Inc., 1 fev. 2016.

ZHANG, C. et al. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 5, 1 maio 2020.

ZHANG, Y. et al. Chronic vagus nerve stimulation improves autonomic control and attenuates systemic inflammation and heart failure progression in a canine high-rate pacing model. **Circulation: Heart Failure**, v. 2, n. 6, p. 692–699, nov. 2009.

Agradecimentos

Agradecimentos a Renan Tironi Giglio, Elizabeth Akemi Nishio, Ione Paiotti, Rafael Akira Sakugawa Becker e ao Hospital Lygia Storopoli por permitirem a execução desta pesquisa.

Figuras:



	Período do estudo																	
											Follow-up							
	Inscrição	Alocação	Pós-alocação							Avaliação pós tratamento	7 dias	14 dias	1 mês	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses	6 meses
PONTO TEMPORAL ^{xx}	-t ₁	0	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₆	t ₇	t ₈	t _{x1}	t _{x2}	tx3					
INSCRIÇÃO:																		
Eligibilidade	X																	
Consentimento informado	X																	
Alocação		X																
INTERVENÇÃO:																		
[EETNV mais tratamento usual]																		
[EETNV 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	X

Figura 1. Cronograma do SPIRIT. (EETNV): Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago; *tx*₁ – follow-up de 7 dias; *tx*₂ – follow-up de 14 dias; *tx*₃ – follow up um mês; *tx*₄ – follow up dois meses; *tx*₅ – follow up três meses; *tx*₆ – follow up quatro meses; *tx*₇ – follow up cinco meses; *tx*₈ – follow up seis meses.

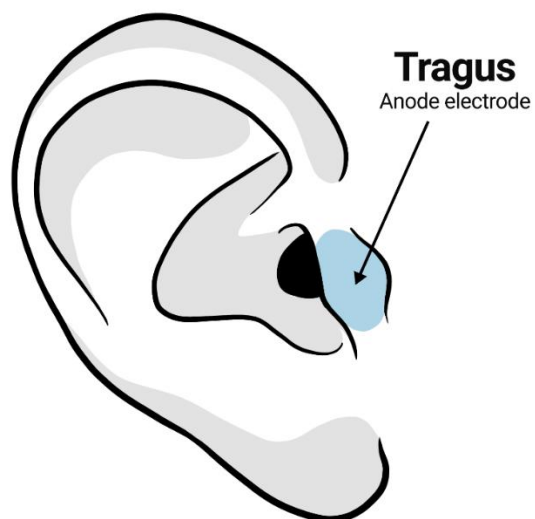
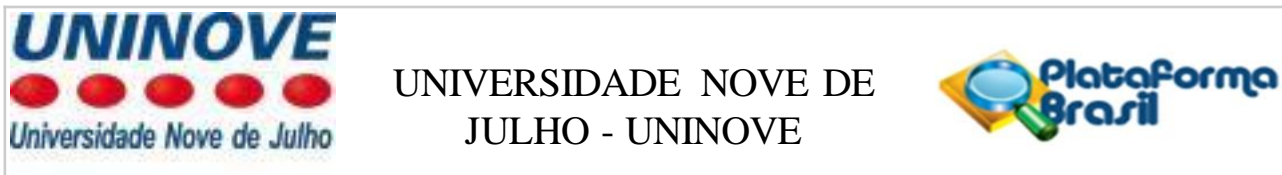


Figura 2: Área do ramo auricular do nervo vago onde será aplicada a eletroestimulação.
Fonte: reprodução pessoal.

10. Anexos ANEXO I- ACEITE DE COMITÊ DE ÉTICA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA



Título da Pesquisa: EFEITO DA ESTIMULAÇÃO DO NERVO VAGO NA INFLAMAÇÃO, MODULAÇÃO AUTONÔMICA 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 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

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

Página 03 de

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 às 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

Página 04 de

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

