

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ORCID-0000-0002-7997-2130

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

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

ORCID-0000-0001-9359-8643

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

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

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

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

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

INTRODUÇÃO

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

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

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

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

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

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

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

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

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

METODOLOGIA

Desenho do estudo

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

PUNTO TEMPORAL**	Período do estudo																	
	Inscrição	Alocação	Pós-alocação							Avaliação pós tratamento	Follow-up							
			7 dias	14 dias	1 mês	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses		6 meses							
$-t_1$	0	t_1	t_2	t_3	t_4	t_5	t_6	t_7	t_8	tx_1	tx_2	tx_3						
INSCRIÇÃO:																		
Eligibilidade	X																	
Consentimento informado	X																	
Alocação		X																
INTERVENÇÃO:																		
[EETNV ativo mais tratamento usual]			●	—	—	—	—	—	●									
[EETNV placebo mais tratamento usual]			●	—	—	—	—	—	●									
AVALIAÇÕES:																		
[interleucina 6, interleucina 10, cortisol, proteína C reativa, variabilidade da frequência cardíaca, pressão arterial]	X								X									
[evolução clínica e nível de ansiedade e depressão (HAD Scale)]	X								X	X	X							
Nível de memória e atenção										X	X	X	X	X	X	X	X	X

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

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

Participantes

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

Cálculo amostral

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

Procedimentos

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

Painel inflamatório

Técnicas do imunoensaio enzimático

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

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

Parâmetros cardiovasculares

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

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

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

Evolução da doença

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

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

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

Atenção e memória

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

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

Intervenções

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

Estimulação elétrica transcutânea do nervo vago ativa

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

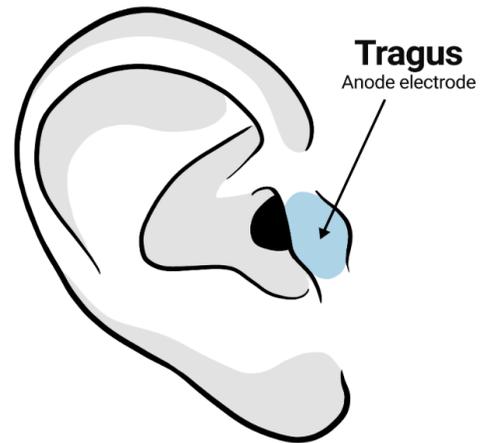


Figura 2. Área do ramo auricular do nervo vago onde será aplicada a eletroestimulação

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

Intervenção sham

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

Análise dos dados

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

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

DISCUSSÃO

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

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

CONCLUSÃO

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

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

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

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