



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA (PPGFIS)

A UTILIZAÇÃO DO ELETROENCEFALOGRAMA COMO BIOMARCADOR DE
CLASSIFICAÇÃO NA COVID LONGA

KELLY DE JESUS SANTANA

JOÃO PESSOA

2024

KELLY DE JESUS SANTANA

A UTILIZAÇÃO DO ELETROENCEFALOGRAMA COMO BIOMARCADOR DE
CLASSIFICAÇÃO NA COVID LONGA

Projeto de Pesquisa apresentado ao
Programa de Pós-graduação Fisioterapia
da Universidade Federal da Paraíba
como requisito parcial à Dissertação de
Mestrado.

Área de concentração: Processos de
Avaliação e Intervenção Em
Fisioterapia

Linha de pesquisa: Avaliação e
Intervenção em Fisioterapia na
Funcionalidade Humana

Orientadora: Prof.a Dr.a Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade

JOÃO PESSOA – 2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S232u Santana, Kelly de Jesus.

A utilização do eletroencefalograma como biomarcador de classificação na Covid longa / Kelly de Jesus Santana. - João Pessoa, 2024.
157 f. : il.

Orientação: Suellen Mary Marinho dos S. Andrade.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Covid Longa. 2. Fadiga. 3. Eletroencefalograma.
I. Andrade, Suellen Mary Marinho dos Santos. II. Título.

UFPB/BC

CDU 578.834(043)

	UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA	
---	--	---

ATA DE SESSÃO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Curso de Pós-Graduação	Instituição
PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA	UFPB
Ata da Sessão de Defesa de Dissertação do (a) Mestrando(a)	
KELLY DE JESUS SANTANA	
Realizada no Dia	
20/02/2024	

Às 9 horas e 30 minutos do dia 20 do mês de fevereiro do ano de 2024 realizou-se a sessão de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso de Mestrado, do(a) discente **KELLY DE JESUS SANTANA** intitulado: A UTILIZAÇÃO DO ELETROENCEFALOGRAMA COMO BIOMARCADOR DE CLASSIFICAÇÃO NA COVID LONGA. A banca examinadora foi composta pelos professores doutores **Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade** (orientadora/UFPB), **Adriana Carla Costa Ribeiro Clementino** (membro interno/UFPB) e **Daniel Machado** (membro externo/UFRN).

A sessão foi aberta pelo Presidente da banca professora **Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade** do Curso de Pós-Graduação em Fisioterapia, que assumiu a coordenação dos trabalhos e apresentou a banca examinadora. Em seguida, a candidata procedeu com a apresentação do trabalho. Após a exposição, seguiu-se o processo de arguição do mestrando. O primeiro examinador foi o (a) professora doutora **Adriana Carla Costa Ribeiro Clementino**, e logo após procederam a arguição os(as) professores doutores **Daniel Machado e Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade**. Em seguida a banca examinadora se reuniu reservadamente a fim de avaliar o desempenho do mestrando.

Diante do exposto e considerando que o mestrando, dentro do prazo regimental, cumpriu todas as exigências do Regimento Geral da UFPB, do Regulamento Geral dos Cursos de Pós-Graduação “Stricto Sensu” da UFPB e do Regulamento do programa, está apto a obter o **grau de Mestre em Fisioterapia**, a ser conferido pela Universidade Federal da Paraíba. A banca examinadora considerou **APROVADO** com as sugestões a serem efetivadas pelo discente no prazo regimental. Nada mais havendo a relatar a sessão foi encerrada às **XX:YY** horas. Eu, **Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade**, orientadora do programa de Pós-Graduação em Fisioterapia/UFPB, lavrei a presente ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos membros da banca examinadora.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

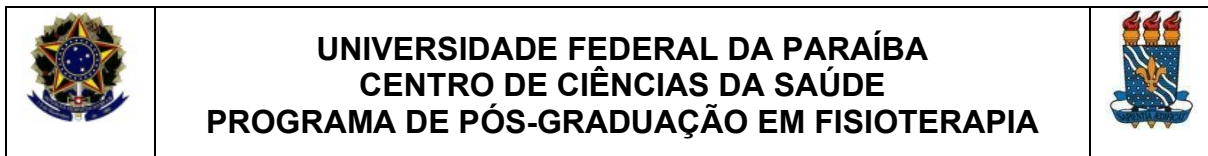


João Pessoa, 20 de fevereiro de 2024.

Profª. Dra. Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade
Orientadora (UFPB)

Profª. Dra. Adriana Carla Costa Ribeiro Clementino
Membro interno (UFPB)

Prof. Dr. Daniel Machado
Membro externo (UFRN)



FICHA DE AVALIAÇÃO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

MESTRANDO(A): **KELLY DE JESUS SANTANA**

MATRICULA: 20211027799

TÍTULO DO TRABALHO: **A UTILIZAÇÃO DO ELETROENCEFALOGRAMA COMO BIOMARCADOR DE CLASSIFICAÇÃO NA COVID LONGA**

DATA DO EXAME: 20/02/2024 HORA: 09:30 LOCAL: Google Meet (<https://meet.google.com/sbm-cthb-pct>)

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA:

MEMBROS – BANCA EXAMINADORA	INSTITUIÇÃO	ASSINATURA
Dra. Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade	UFPB	
Dra. Adriana Carla Costa Ribeiro Clementino	UFPB	
Dr. Daniel Machado	UFRN	

A banca Examinadora, em análise dos seguintes aspectos atinentes a apresentação do Trabalho Final da pesquisa de mestrado e procedida a arguição pertinente ao trabalho, teve como PARECER O SEGUINTE: A mestranda, **KELLY DE JESUS SANTANA**, foi **APROVADO** em seu trabalho final, no entanto, terá 30 dias para realizar as correções sugeridas pela banca examinadora, descritas no corpo da dissertação que foi encaminhada a mesma.

Sendo assim, considerou o Trabalho do Mestrando.

(X) Aprovado () Reprovado () Insuficiente



Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade (orientadora)

DATA: 20 de Fevereiro de 2024

RELATÓRIO FINAL DO ORIENTADOR

Eu, Prof^a. Dra. Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade, orientadora do trabalho final da **KELLY DE JESUS SANTANA**, do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia na Linha de Pesquisa "AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO EM FISIOTERAPIA NA FUNCIONALIDADE HUMANA", da Universidade Federal da Paraíba, após exame da vida acadêmica da mencionada aluna, tenho a relatar: a integralização do Curso foi feita dentro do prazo estabelecido pela Legislação vigente na UFPB.

Quanto ao desempenho acadêmico, constata-se que o mestrando cursou todos os créditos exigidos da Estrutura Curricular a que está submetido e foi aprovado no Exame de verificação da capacidade de leitura em língua inglesa.

Na apresentação da dissertação, intitulada **A UTILIZAÇÃO DO ELETROENCEFALOGRAMA COMO BIOMARCADOR DE CLASSIFICAÇÃO NA COVID LONGA**, realizada no dia 20/02/2024, às 09:30 horas, no Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, a mestranda **KELLY DE JESUS SANTANA**, obteve conceito de **APROVADO**, tendo a Banca Examinadora sido formada pelos especialistas:

MEMBROS – BANCA EXAMINADORA	INSTITUIÇÃO
Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade	UFPB
Adriana Carla Costa Ribeiro Clementino	UFPB
Daniel Machado	UFRN

Diante do exposto, considerando que o mestrando, dentro do prazo regimental, cumpriu todas as exigências do Regimento Geral da UFPB, do Regulamento Geral dos Cursos de Pós-Graduação "Stricto Sensu" da UFPB e do Regulamento do programa, está apto a obter o **grau de Mestre em Fisioterapia**, a ser conferido pela Universidade Federal da Paraíba.



Prof^a. Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade

DATA: 20/02/2024

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais e à todas pessoas que apoiaram, de alguma forma, este projeto e minha jornada acadêmica

AGRADECIMENTOS

À Deus e à espiritualidade amiga que me sustentam em fé, força, coragem e sabedoria cada dia da minha jornada.

Aos meus queridos pais, Zenilda e Jose Antonio que dedicaram as suas vidas e sacrificaram sonhos para a proporcionarem um ensino de qualidade que fizesse diferença na minha vida.

Ao meu querido Guillaume por estar ao meu lado me incentivando, me ensinando, me apoiando e celebrando cada vitória do mestrado e da vida.

Ao meu abençoado irmão, Leonardo, por me incentivar a ser um ser humano melhor da forma mais genuína possível.

Aos meus familiares, por toda compreensão, carinho e admiração.

Às minhas queridas amigas Elaine Menezes e Marina Makhoul por não me deixarem desistir do meu sonho e me incentivarem à vencer os desafios da pós-graduação.

À minha doce priminha Lolo e à todas as suas interrupções de: “Eu só vim te dar um carinho”.

Aos meus colaboradores que não mediram esforços para que esse estudo fosse realizado.

Aos amigos, que a pós-graduação me deu de presente (Rosana, Ricardo, Tayná e Gabriela) por serem, muitas vezes, meu divã e minha dose de serotonina.

À minha orientadora, Professora Dra. Suellen Andrade, e seu brilhantismo e excelência como mulher, pesquisadora e docente. Agradeço pela oportunidade, parceria, confiança e pela leveza na condução da minha jornada acadêmica.

Aos meus colegas do Laben, por toda troca e companheirismo.

Aos participantes da pesquisa, pela confiança e por acreditarem na ciência.

EPÍGRAFE

“Ousar é perder o equilíbrio momentaneamente. Não ousar, é perder à si mesmo”. (Søren Aabye Kierkegaard)

A UTILIZAÇÃO DO ELETROENCEFALOGRAMA COMO BIOMARCADOR DE CLASSIFICAÇÃO NA COVID LONGA

Resumo :

O objetivo geral deste estudo foi caracterizar o padrão da atividade cortical, através do EEG de repouso, de pacientes com Covid Longa e comprara a atividade eletroencefalográfica com os correlatos clínicos envolvidos nesta condição. Foi realizado um estudo observacional com um grupo com 19 indivíduos com Covid Longa e um grupo controle com 15 indivíduos saudáveis pareados pela idade e sexo. Os pacientes com Covid Longa foram caracterizados pelo aumento do poder espectral de teta temporal ($0.60 \mu V^2 [\pm 0.17]$ vs. $0.43 \mu V^2 [\pm 0.14]$; ES=1.1), beta frontal ($0.73 \mu V^2 [\pm 0.16]$ vs. $0.47 \mu V^2 [\pm 0.18]$; ES=1.5), alfa central ($0.74 \mu V^2 [\pm 0.64]$ vs. $0.53 \mu V^2 [\pm 0.24]$; ES=0.4) e beta temporoparietal ($0.86 \mu V^2 [\pm 0.13]$ vs. $0.55 \mu V^2 [\pm 0.18]$; ES=2.0) na condição olhos abertos quando comparados com indivíduos saudáveis pareados por sexo e idade. Além disso, a banda de frequência alfa das regiões frontal e central se correlacionaram o desfecho de fadiga. A condição olhos fechados, ao contrário, foi marcada pela redução da atividade cortical evidenciada por valore significamente alfa frontal ($0.22 \mu V^2 [\pm 0.16]$ vs. $0.64 \mu V^2 [\pm 0.23]$; ES=2.1), beta frontal ($0.32 \mu V^2 [0.19 - 0.45]$ vs. $0.48 \mu V^2 [0.36 - 0.64]$; ES=0.7), alfa central ($0.19 \mu V^2 [\pm 0.14]$ vs. $0.69 \mu V^2 [\pm 0.23]$; ES=2.6). beta temporoparietal ($0.31 \mu V^2 [0.16 - 0.38]$ vs. $0.49 \mu V^2 [0.41 - 0.69]$; ES=0.8). Alterações significativas foram observadas na dinâmica temporal dos microestados do EEG com redução da duração, ocorrência e cobertura dos microestados C e D. Portanto, os resultados da presente dissertação sugerem o potencial uso do EEG como biomarcador de classificação e monitoramento da Covid Longa.

Palavras-chaves: Covid Longa, Fadiga, Eletroencefalograma.

THE USE OF ELECTROENCEPHALOGRAM AS A CLASSIFICATION BIOMARKER IN LONG COVID

Abstract:

The overall aim of this study was to characterize the pattern of cortical activity, through resting EEG, in patients with this clinical condition and to compare electroencephalographical activity to clinical correlates. An observational study was conducted with a group of 15 individuals with Long Covid and a control group of 15 healthy individuals matched by age and sex. Patients with Long Covid were characterized by increased temporal theta spectral power ($0.60 \mu V^2 [\pm 0.17]$ vs. $0.43 \mu V^2 [\pm 0.14]$; ES=1.1), frontal beta ($0.73 \mu V^2 [\pm 0.16]$ vs. $0.47 \mu V^2 [\pm 0.18]$; ES=1.5), central alpha ($0.74 \mu V^2 [\pm 0.64]$ vs. $0.53 \mu V^2 [\pm 0.24]$; ES=0.4) e temporoparietal beta ($0.86 \mu V^2 [\pm 0.13]$ vs. $0.55 \mu V^2 [\pm 0.18]$; ES=2.0) power in the eyes-open condition when compared to healthy individuals matched by sex and age. Additionally, alpha frequency band in frontal and central regions correlated with the outcome of fatigue. The eyes-closed condition, on the contrary, was marked by reduced cortical activity evidenced by significantly lower frontal alpha ($0.22 \mu V^2 [\pm 0.16]$ vs. $0.64 \mu V^2 [\pm 0.23]$; ES=2.1), frontal beta ($0.32 \mu V^2 [0.19 - 0.45]$ vs. $0.48 \mu V^2 [0.36 - 0.64]$; ES=0.7), central alpha ($0.19 \mu V^2 [\pm 0.14]$ vs. $0.69 \mu V^2 [\pm 0.23]$; ES=2.6). temporoparietal beta ($0.31 \mu V^2 [0.16 - 0.38]$ vs. $0.49 \mu V^2 [0.41 - 0.69]$; ES=0.8)..Significant alterations were observed in the temporal dynamics of EEG microstate with reduction in duration, occurrence, and coverage of microstates C and D. Therefore, the results of this dissertation suggest the potential use of EEG as a biomarker for classification and monitoring of Long Covid.

Keywords: Long Covid, Fatigue, Electroencephalogram.

LISTA DE FIGURAS

	Sistema Internacional 10-20 de localização e aplicação de eletrodos e	
Figura 1 –	bandas de frequência do obtidas durante a aquisição dos dados eletroencefalográficos.....	26
Figura 2 –	Conjunto dos quatro microestados arquétipos e suas topografias.....	31
	Análise do poder espectral das bandas de frequência teta, alfa e beta	
Figura 3 –	nas regiões frontal, central, temporal e temporoparietal nas condições olhos abertos e olhos fechados.....	45
Figura 4 –	Modelos de topografias como resultado do processo de segmentação individual e do grupo.....	46
	Gráficos de comparação das medianas da duração, ocorrência e	
Figura 5 –	cobertura dos microestados A, B, C e D para as condições olhos abertos olhos fechados.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Características sociodemográficas e clínicas dos participantes.....	43
Tabela 2 –	Correlações do poder espectral na condição de olhos abertos com dados/desfechos clínicos de fadiga	48
Tabela 3 –	Correlações dos microestados, dos pacientes com CL, com desfechos clínicos de fadiga nas condições olhos abertos e olhos fechados.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

18F-FDG	[18F]fluorodeoxyglucose
ACE2	enzima conversora de angiotensina 2
Ag	Prata
AgCl	Cloreto de Prata
AVC	acidente vascular cerebral
CFS	síndrome da fadiga crônica
CL	Covid Longa
DP	desvio padrão
DPOC	doença pulmonar obstrutiva crônica
EEG	eletroencefalograma
EEG-MS	microestados
EPSP	potenciais pós-sináptico excitatório
GC	grupo controle
GFP	potência de campo global
HAM	escala para Ansiedade de Hamilton
IL6	interleucina 6
IPSP	e pós-sináptico inibitório
MFIS	Escala Modificada de Impacto da Fadiga Brasileira
ms	milisegundos
n	número de participantes
OA	olhos abertos
OACL	grupo covid longa condição olhos fechados
OAGC	grupo controle condição olhos fechados
OF	olhos fechados
OFCL	grupo covid longa condição olhos abertos
OFGC	grupo controle condição olhos abertos
OMS	Organização Mundial da Saúde
PASC	Post-acute sequelae of Sars-CoV-2 infection
r	coeficiente de correlação de postos de Pearson
rho	coeficiente de correlação de postos de Spearman
RM	ressonância magnética
SARS	síndrome respiratória aguda grave
SARS-CoV2	Síndrome Respiratória Aguda Grave 2
SNC	sistema nervoso central
TC	tomografia computadorizada
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
TEP	tomografia por emissão de positrons
WHOQOL	World Health Organization Quality of Life

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 JUSTIFICATIVA.....	16
3 OBJETIVOS.....	17
OBJETIVO GERAL.....	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
4 HIPÓTESES.....	18
5 REVISÃO DA LITERATURA	19
6 MÉTODO.....	36
Participantes.....	36
Desfecho Primário.....	36
Desfecho Secundário.....	38
ANÁLISE DOS DADOS.....	41
7 RESULTADOS	42
8 DISCUSSÃO.....	51
REFERÊNCIAS	58
APÊNDICES	66
ANEXOS.....	68

1 INTRODUÇÃO

A nova doença coronavírus (COVID-19) é uma doença infecciosa causada pelo vírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV2). Seu quadro clínico varia desde formas assintomáticas, afecção das vias respiratórias superiores (com ou sem febre), até pneumonia com necessidade de hospitalização (CORTINOVIS; PERICO; REMUZZI, 2021).

Investigações recentes têm relatado que a COVID-19 não se trata de uma doença limitada temporalmente. De fato, os pacientes infectados pela SARS-CoV2 frequentemente apresentam persistência dos sintomas ou desenvolvem novos sintomas entre três semanas até seis meses após o início da infecção (CARES-MARAMBIO, 2021; MUNBLIT, 2021). Esta condição é conhecida como Covid Longa (PASC – do inglês *Post-acute sequelae of Sars-CoV-2 infection*), e é caracterizada pelo acometimento de diversos sistemas: respiratório, cardiovascular, músculo-esquelético, tegumentar, gastrointestinal, endócrino e neurológico (WHO, 2023).

De acordo com uma revisão sistemática com metanálise composta por estudos que incluíam pacientes com Covid Longa, mais de 55 efeitos, sintomas, sinais e parâmetros laboratoriais podem ser identificados nesta população (LOPEZ-LEON et al., 2021). De acordo com os autores, a maioria dos sintomas são semelhantes à sintomatologia desenvolvida durante a fase aguda da COVID-19, sendo a fadiga (58%), cefaléia (44%), distúrbios atencionais (27%), alopecia (25%) e dispnéia (24%) os cinco sintomas mais comuns (LOPEZ-LEON et al., 2021). No entanto, a compreensão dos mecanismos adjacentes a cada sintoma e a interação entre eles necessita de investigações mais robustas (LOPEZ-LEON et al., 2021).

Cerca de 58% dos pacientes acometidos pela Covid Longa têm um empobrecimento da qualidade de vida. Os sintomas persistentes ou recorrentes podem afetar várias áreas da vida cotidiana como a capacidade de realizar atividades diárias e laborais, exercitar-se, cuidar da família ou socializar. Isso pode levar maior dependência de terceiros e sensação de perda de autonomia. Além disso, sintomas como ansiedade, depressão, estresse e irritabilidade são comuns, afetando o bem-estar emocional e a saúde mental desses pacientes. É notório que esta condição apresenta-se como um desafio para os pacientes, às equipes de assistência e gestão em saúde (MALIK et al., 2022).

Diante deste cenário, é fundamental que as pessoas com Covid Longa recebam apoio médico e multidisciplinar para gerenciar seus sintomas, melhorar a qualidade de vida e lidar com os desafios físicos e emocionais que enfrentam. Nesta perspectiva, se baseando na neurofisiopatologia da SARS-Cov 2 e nos seus sintomas, diversas medidas terapêuticas vêm sendo investigadas na tentativa de minimizar o impacto desta condição sobre aspectos estruturais, funcionais e na participação destes pacientes nos diversos contextos (ANDRADE et al., 2023; FUGAZZARO et al., 2022; SANTANA et al., 2023).

Já está bem estabelecido na literatura que as manifestões tardias na COVID-19 não são limitadas ao sistema respiratório. Estudos em neuroimagem têm demonstrado que a persistência dos sintomas da COVID-19 pode vir acompanhada de modificações cerebrais estruturais e funcionais importantes (DOUAUD et al., 2022; RUDROFF; WORKMAN; PONTO, 2021; SILVA et al., 2021). Lesões corticais e subcorticais, anormalidades na perfusão e do metabolismo cerebral são frequentemente encontradas nesta população (HUANG et al., 2022; KREMER et al., 2020; LAMBRECQ et al., 2021; NIGUET et al., 2021; RUDROFF; WORKMAN; PONTO, 2021). Além disso, alterações da microestrutura cerebral também podem ser observadas nos indivíduos sem manifestações neurológicas específicas ou lesões evidentes ao exame de ressonância magnética, após três meses da fase aguda da doença (MAHAJAN; MASON, 2021).

A Covid Longa tem uma apresentação clínica altamente variável e sintomas incapacitantes, mesmo na ausência de dados de imagem associados (NIGUET et al., 2021). Esse paradoxo clínico-radiológico tem motivado investigações com atenção particular às redes neurais de estado de repouso. Nesta perspectiva, o eletroencefalograma (EEG) têm sido utilizado como instrumento de investigação eletrofisiológica interessante permitindo a análise de redes neurais com alta resolução temporal, de baixo custo e acessível (GÉLISSE et al., 2020). Esta ferramenta de avaliação possui alta resolução temporal quando comparada à outros exames de neuroimagem como a ressonância magnética (RM) e a tomografia computadorizada (TC) (CECCHETTI et al., 2022). Dos estudos que registraram o EEG em pacientes com COVID-19, alguns mostraram alterações nas suas redes neurais, principalmente das redes frontais, além da presença de descargas periódicas e falta de reatividade. Esses achados podem determinar desfechos clínicos desfavoráveis (ex. encefalopatia ligada à COVID-19) ou não de pacientes críticos (ANTONY; HANEEF, 2020; GÉLISSE et al., 2020; NIGUET et al., 2021; PETRESCU; TAUSSIG; BOUILLERET, 2020; ROBERTO et al., 2020).

Importante ressaltar que, diversas análises do sinal do EEG têm sido evocadas para quantificar e evidenciar diferentes características da atividade oscilatória cortical e as funções que elas desempenham. Uma abordagem analítica comum é a consideração do sinal eletroencefalográfico como um sistema que pode ser descrito em termos de seu estado e da sua dinâmica (KHANNA et al., 2015). A análise dos microestados do EEG (EEG-MS) tem essa proposta. Durante o repouso, o EEG exibe flutuações topográficas, entre as quais períodos metaestáveis de algumas dezenas de milissegundos (80–120 ms) podem ser detectados quando uma abordagem de agrupamento topográfico é usada. (KHANNA et al., 2015; MICHEL; KOENIG, 2018).

Apesar do número crescente de investigações com pacientes com COVID-19, as evidências sobre o uso do EEG em pacientes com Covid Longa ainda permanecem escassas. No entanto, graças as similitudes das suas características com outras condições clínicas, equivalências clínicas podem ser hipotetizadas na tentativa de compreender os mecanismos adjacentes aos sintomas envolvidos nesta condição clínica (WONG; WEITZER, 2021). Nesta lógica, a análise de EEG-MS com pacientes com que têm a fadiga como principal sintoma têm sido explorada, evidenciando estes pacientes podem apresentar as durações dos microestados A e B alteradas, com significativo poder preditivo da severidade de sintomas depressivos e da fadiga cognitiva (GSCHWIND et al., 2016). Considerando seu baixo custo, o uso de microestados de EEG para examinar as redes neurais em repouso apresenta-se como um avanço importante na capacidade de usar essas informações como marcadores biológicos em um ambiente clínico.

2 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Caracterizar o padrão da atividade cortical, por meio do EEG de repouso, de pacientes com Covid Longa através da comparação com controles saudáveis

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar as possíveis correlações entre o poder espectral das bandas de frequência de interesse (teta, alfa e beta) das regiões temporal, central, frontal e frontotemporal com a fadiga pós COVID-19 nas condições olhos abertos e olhos fechados.
- Identificar flutuações temporais topográficas do EEG em repouso de pacientes com Covid Longa , por meio da análise de microestados, através da comparação com controles saudáveis
- Analisar as correlações entre os parâmetros dos microestados e a fadiga presente na Covid Longa.

3 JUSTIFICATIVA

A Covid Longa representa um desafio clínico significativo, uma vez que os pacientes podem apresentar sintomas diversos com impacto na funcionalidade e qualidade de vida. A compreensão dos mecanismos subjacentes a esses sintomas é essencial para orientar intervenções terapêuticas e de reabilitação adequadas. No entanto, até o momento, as informações sobre esses mecanismos mantêm-se limitadas.

As atuais evidências disponíveis sobre os mecanismos implícitos que regem os sintomas da Covid Longa se repousam em estudos de neuroimagem (ex. ressonância magnética funcional, tomografia computadorizada e tomografia por emissão de pósitrons) evidenciando modificações estruturais. Esses achados sugerem que essas alterações estruturais sejam refletidas, igualmente, à nível sináptico. No entanto, os onerosos custos aliados à necessidade de recursos especializados de diagnósticos tradicionais, de profissionais capacitados e o restrito acesso dos clínicos e da população à este tipo de tecnologia limitam a realização de investigações. Nesse contexto, o EEG surge como uma ferramenta diagnóstica interessante, de baixo custo, de fácil aplicação, capaz de identificar padrões fisiológicos específicos, com um importante poder de classificação e predição a longo prazo. Nesta perspectiva, nota-se uma premência da identificação de padrões específicos correlacionados com a incapacidade e os sintomas persistentes da COVID-19, através de estudos observacionais robustos e rigorosos com análise de microestados de EEG. Embora existam investigações sobre alterações eletroencefalográficas em pacientes com Covid Longa, as atuais evidências disponíveis são preliminares e não abrangem, aspectos clínicos e correlatos importantes, tais como fadiga, ansiedade, depressão e qualidade de vida.

Na tentativa de responder à estas questões clínicas, o tema central desta dissertação será a utilização do EEG como neurobiomarcador de classificação em pacientes com Covid Longa. Neste cenário, a robustez desenvolvida neste estudo trará como prerrogativa o auxílio na tomada de decisão clínica no manejo de pacientes com Covid Longa.

4 HIPÓTESES

Considerando os achados de estudos prévios em indivíduos com condições clínicas similares à COVID-19, que relataram alterações eletroencefalográficas caracterizadas pela redução do poder espectral das bandas de frequência alfa e beta, além do aumento da densidade da corrente na banda de frequência delta (BALDINI et al., 2022; FOONG et al., 2020; ZINN et al., 2018), espera-se observar :

- Redução do poder espectral nas bandas de frequência alfa, e beta nas regiões frontal e central entre os indivíduos com Covid Longa e controles saudáveis (BALDINI et al., 2022);
- Redução da duração, ocorrência e cobertura relacionadas aos microestados C e D no grupo Covid Longa quando com os controles saudáveis (BALDINI et al., 2022);
- Presença de correlação positiva entre o microestado D e o escore da fadiga (GSCHWIND et al., 2016).

Essas observações evidenciarão assim o potencial uso do EEG como biomarcador auxiliando a prática clínica.

5 REVISÃO DA LITERATURA

SARS-CoV2 –

Ao longo do mês de dezembro de 2019 na cidade de Wuhan (Província de Hubei), autoridades de saúde chinesas identificaram um aglomerado de casos de pneumonia de etiologia desconhecida. Após diversos diagnósticos como: nova zoonose ou síndrome respiratória aguda grave (SARS), serem evocados, um novo coronavírus, SARS-CoV-2 ou COVID-19 (anteriormente 2019-nCoV) foi identificado. Este é causado pelo novo beta-coronavírus que compartilha 79% da sequência genética com o SARS-CoV, vírus que causou um grande surto nos anos 2002 e 2003 (WALSH et al., 2020).

No final de 2019, os primeiros relatos de casos de Wuhan, cidade da província de Hubei (na China) foram confirmados e casos começaram a ser relatados em todos os continentes. Globalmente, até o final de 2022 mais de 600 milhões de casos confirmados de COVID-19 foram detectados e cerca de 6,5 milhões de mortes foram relatadas. Os dados epidemiológicos são subestimados, pois aqueles registrados frequentemente referem-se às infecções agudas com necessidade de hospitalização. Pesquisas americanas e européias de soroprevalência sugerem que a taxa de exposição prévia ao SARS-CoV-2, refletida pela soropositividade, excede a incidência de casos relatados em aproximadamente 10 vezes ou mais (MCINTOSH, 2023).

Para a maioria dos vírus respiratórios, as células epiteliais do trato respiratório são as primeiras células a serem atingidas. Além disso, as infecções são limitadas e o vírus é eliminado pelo sistema imune. Em indivíduos mais vulneráveis, o vírus pode atingir as vias respiratórias inferiores causando doenças mais graves, como bronquite, pneumonia, exacerbação de asma ou doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (DESFORGES et al., 2019). No entanto, outros vírus como a SARS e MERS-CoV e a SARS-COV2 apresentam agentes etiológicos com ações para além do trato respiratório (ex. miocardite, diarreia, meningite, etc) atingindo até mesmo o sistema nervoso central (SNC) . Esses achados parecem estar associados à entrada do vírus via hematogênica ou a neuronal retrógrada (WALSH et al., 2020). Investigações em neurofisiologia têm demonstrado que a invasão celular ocorre pela ligação da proteína spike, presente no vírus da SARS-COV2, aos receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), que é responsável pela mediação neuroinflamatória, pela neurodegeneração e pela neurotoxicidade do SNC. Além disso, a invasão celular pode ocorrer por endocitose mediada por receptores de membrana ou pela fusão de microvesículas. Após a entrada do vírus inicia-se uma resposta imune levando à produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF alfa, interleucinas, catecolaminas e estimulação beta-adrenérgica) via sistema nervoso simpático e uma resposta

anti-inflamatórias (via sistema nervoso parassimpático). Importante ressaltar que, a infecção pela SARS-COV2 é caracterizada pela reação exacerbada do sistema imune com uma inflamação sistêmica que aumenta a concentração de radicais livres. Como consequência, podemos observar sofrimento respiratório e falência de múltiplos órgãos (BAPTISTA et al., 2020; ROBERTO et al., 2020). Os sintomas clínicos associados à infecção pela SARS-CoV-2 são diversos em sua tipologia e severidade. Alguns pacientes podem ser assintomáticos ou apresentar sintomatologia grave como a síndrome da insuficiência respiratória aguda, disfunções na coagulação ou até mesmo morte.

No que tange as sequelas pós-infecção, os indivíduos que foram infectados pela doença, em especial aqueles que desenvolveram a forma grave, apresentam frequentes repercussões após a alta hospitalar. Persistência de alterações tanto da condição física (ex. dor, fadiga) (ROBERTO et al., 2020; RUDROFF et al., 2020) quanto complicações neurológicas são comumente observadas na fase tardia da doença (CORTINOVIS; PERICO; REMUZZI, 2021; HAMPSHIRE et al., 2021; JAYWANT et al., 2021; ROBERTO et al., 2020).

Covid Longa

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) , cerca de 10-20% das pessoas que foram infectadas pelo vírus da SARS-CoV-2 podem desenvolver sintomas que podem ser diagnosticados como Covid Longa ou Síndrome pós-COVID ou, ainda, as Sequelas pós-infecção aguda por SARS-CoV-2 (WHO, 2023). Esta, é definida como uma gama de sinais e sintomas que não podem ser explicados por outros diagnósticos que duram mais de 12 semanas após a fase inicial da COVID-19 (PERRIN et al., 2020; VENKATESAN, 2021). Essas alterações são mais frequentes (80%) nos pacientes que tiveram a forma grave da doença, mas pacientes que tiveram quadro infeccioso leve sem a necessidade de hospitalização também podem apresentar os mesmos sintomas (10-35%), o que torna essa condição um desafio para os pacientes, bem como quanto às equipes de saúde e gestão. (MALIK et al., 2022; TOWNSEND et al., 2021).

Um estudo coorte, desenvolvido por SUBRANIAN et al. (2022), acompanhou 384,137 pacientes, infectados com SARS-COV-2, durante 12 meses identificando diversos fatores clínicos e sociodemográficos associados à incidência da Covid Longa. Os autores sugerem que mulheres, pessoas acima de 30 anos, fumantes, indivíduos com condição socio-econômica desfavorável, pessoas com histórico de DPOC, com fibromialgia, esclerose múltipla e/ou

depressão possuem maior risco para desenvolvimento da Covid Longa. Além disso, a presença de cinco ou mais sintomas na fase aguda da doença é associada com maior risco para a persistência dos sintomas na fase tardia (SUBRAMANIAN et al., 2022).

Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos nesta condição ainda não estão bem estabelecidos sendo uma área atual de investigação. Acredita-se que sua patogênese seja multifatorial, envolvendo mecanismos de disfunção do sistema nervoso, dano endotelial, tromboembolismo e a persistência de processos inflamatórios. (MALTEZOU; PAVLI; TSAKRIS, 2021a; PERUMAL et al., 2023; VAN KESSEL et al., 2022). Perumal et al. (2023) sugerem que a compreensão da patogênese e a evolução da Covid Longa deva seguir uma abordagem dinâmica, modular e em nível de sistemas, interceptando conexões multinodais entre a infecção aguda por SARS-CoV-2 e seus fenótipos clínicos através da incorporação dos fatores de risco envolvidos. Nesta perspectiva, os pacientes podem apresentar fenótipos distintos e facilmente identificáveis ou fenótipos sobrepostos/multissistêmicos, com evolução dos fenótipos clínicos ao longo do tempo (PERUMAL et al., 2023).

Ainda sobre a fisiopatologia da Covid Longa, pacientes infectados pelo SARS-CoV2 podem apresentar a persistência de antígenos virais, RNA viral e presença do vírus inteiro no cérebro, seios da face, glândulas adrenais, rins, intestino, gânglios linfáticos, baço, pulmões e coração. Como consequência, pode-se observar a prolongação ou desenvolvimento de sintomas através de: efeitos citopáticos virais diretos; inflamação regional; aumento da resposta imune causando um estado elevado e prolongado de inflamação (PERUMAL et al., 2023). Neste sentido, a associação entre os sintomas da Covid Longa e a presença de marcadores inflamatórios como citocinas, particularmente as interleucinas 4, 6, 8 (IL-4; IL-6; IL-8) e TNF alfa vêm sendo demonstrada, indicando que estes podem penetrar a barreira hematoencefálica gerando uma neuroinflamação do SNC (MALTEZOU; PAVLI; TSAKRIS, 2021b; VAN KESSEL et al., 2022).

Acredita-se que a COVID-19 seja uma doença associada à uma inflamação sistêmica que pode comprometer o sistema hematoencefálico barreira e desencadear uma resposta neuroinflamatória maciça, manifestada por astrogliose reativa e ativação microglial. Esta hipótese é sustentada pela ação do sistema nervoso simpático promover respostas pró-inflamatórias, via liberação de catecolaminas e estimulação beta-adrenérgica. A persistência da reação glial inflamatória, com ou sem uma resposta autoimune direcionada ao SNC, poderia contribuir para os efeitos gerais do SNC com sintomas como fadiga, dores de cabeça e prejuízos

cognitivos (ex. perda de memória, falta de concentração e névoa cerebral) (DING et al., 2004; “Perumal et al. - 2023 - Long COVID a review and proposed visualization of.pdf”, [s.d.]).

A ampla diversidade dos sintomas envolvidos na Covid Longa têm sido bem documentados (LOPEZ-LEON et al., 2021). A severidade dos déficits parecem estar relacionados à gravidade dos sintomas na fase inicial da doença (HAMPSHIRE et al., 2021; JAYWANT et al., 2021). A fadiga é o sintoma mais comum (17-52%) seguido pela dispnéia (37%), dor torácica (16%), tosse (14%), além de dor de cabeça, distúrbios do sono. Sintomas neuropsiquiátricos (ex. dor de cabeça, alterações do sono, déficits de atenção e memória, ansiedade e depressão) também são relatados por esses pacientes (CARES-MARAMBIO et al., 2021; LOPEZ-LEON et al., 2021; MALIK et al., 2022).

Fadiga pós-Covid

O termo fadiga pode ser utilizado para definir uma sensação subjetiva de cansaço mental ou físico causado por um esforço (mental ou físico), atividade sustentada, privação de sono ou por alguma condição de saúde. Outro uso do termo “fadiga” refere-se à incapacidade de realizar tarefas física ou mentais devido ao esgotamento dos recursos mentais ou físicos. A fadiga, pode ainda, ser empregada para expressar uma angústia resultante da exposição prolongada a um conjunto aversivo de circunstâncias (MICHIE; WEST; HARVEY, 2020; PHILLIPS, 2015).

A fadiga é o sintoma mais frequente (17-52%) entre as sequelas persistentes da Covid Longa (DOMINGO et al., 2021; SCHOU et al., 2021; TOWNSEND et al., 2021). Apesar do consenso na literatura sobre a alta prevalência, a sua conceitualização assim como os mecanismos fisiopatológicos subjacentes permanecem inconclusivos. No entanto, a fadiga pós-Covid apresenta similaridades com outras condições clínicas como a esclerose múltipla e a síndrome da fadiga crônica (CFS, do inglês *chronic fatigue syndrome*) ou encefalomielite (WONG; WEITZER, 2021) permitindo fazer conjecturas clínicas. A revisão sistemática conduzida por Wong e Weitzer indica um elevado grau de similaridades entre a fadiga pós Covid e a fadiga encontrada na CFS no que tange os sintomas (fadiga, redução das atividades de vida diária e mal estar pós esforço) e o manejo das mesmas (WONG; WEITZER, 2021). A CFS é uma condição clínica caracterizada por uma sensação de cansaço persistente e não justificada e seus sintomas incluem: cansaço grave e incapacitante, dor músculo-esquelética, alteração do sono, dor de cabeça e déficits atencional e mnésico. O termo encefalomielite (do inglês – “*myalgic encephalomyelitis*” (ME), também é frequentemente usado para designar a mesma condição (TANAKA; ISHII; WATANABE, 2013). Ainda não está bem estabelecido

se os pacientes com Covid Longa apresentam maior predisposição à desenvolverem CFS devido a limitação dos estudos com PASC em relação à duração da doença.

De acordo com Rudroff et al., a fadiga relacionada a Covid Longa é caracterizada como “uma redução da performance física e/ou mental” (RUDROFF et al., 2020). Alguns estudos indicam que esta condição pode ser o resultado de diversos fatores incluindo modificações nos aspectos centrais, periféricos (ex. fraqueza da musculatura respiratória, descondicionamento) e/ou psicológicos devido à infecção pelo SARS-COV-2 (ALHUMAYN et al., 2022; RUDROFF et al., 2020). Os aspectos centrais parecem ser associados ao fator neuroinvasivo da COVID-19 que podem desencadear alterações nos: níveis de neurotransmissores (ex. dopamina, serotonina); na excitabilidade neuronal intrínseca; podendo gerar processos inflamatórios, desmielinização, entre outros. Ela também pode ocorrer em decorrência dos fatores periféricos envolvidos na infecção devido à sua capacidade de infectar os mais diversos tecidos como os músculos esqueléticos. Este acometimento ocorre devido à sua vulnerabilidade ao vírus via ACE2. Observa-se que, a invasão viral pulmonar ativa diversos leucócitos que liberaram uma cascata de citocinas como a IL-6 que favorecem a perda do equilíbrio homeostático muscular favorecendo à perda de massa e consequentemente a fadiga. Além disso, esta pode ser influenciada pelos fatores psicológicos. De fato, muitas pessoas que se queixam de fadiga estão inseridas em ambientes onde o estresse, a ansiedade, a depressão e o medo se fazem presentes em permanência (RUDROFF et al., 2020).

Este contexto evidencia que esta condição faz referência à uma sensação de cansaço, exaustão ou falta de energia, que pode ser física, cognitiva ou emocional, com intensidade e duração variáveis, afetando negativamente a sensação de bem-estar e qualidade de vida do indivíduo; o que elucida a necessidade de cuidados específicos (ALHUMAYN et al., 2022; HERRERA et al., 2021). Esses achados podem ser confirmados por mudanças anatomo-funcionais. Estudos preliminares têm demonstrado que pacientes com fadiga, pós infecção pelo SARS-CoV2, apresentam anormalidades na excitabilidade neurofisiológica cortical (ORTELLI et al., 2021, 2022).

Alterações corticais associadas à Covid Longa

Alterações estruturais e funcionais são observadas nesta população nos meses que sucedem a fase aguda da doença (BISPO et al., 2022; KREMER et al., 2020; LAMBRECQ et al., 2021; NIGUET et al., 2021; RUDROFF et al., 2020). Um estudo longitudinal observou

mudanças microestruturais na substância branca em pacientes com 97 dias de pós-infecção por COVID-19. Em comparação com o grupo controle, os indivíduos infectados pela Covid apresentavam redução da densidade de fibras de tratos de regiões de associação, projeção, comissurais, mas nenhuma mudança significativa na substância cinzenta (espessura cortical ou volumes subcorticais e límbicos) (BISPO et al., 2022). Os pesquisadores encontraram, ainda, correlação entre as mudanças micro-estruturais cerebrais com a severidade da fadiga e testes de memória visual em uma amostra predominantemente não hospitalizada. Esses achados fornecem evidências para possíveis substratos cerebrais subjacentes aos sintomas causados pelo SARS-CoV-2 durante a recuperação de médio a longo prazo.

Outros instrumentos de avaliação têm sido sugeridos na tentativa de compreender as mudanças cerebrais fisiopatológicas em pacientes em fase tardia da COVID-19. Fontana et al. (2020) propõe a utilização da tomografia por emissão de positrons (TEP) (FONTANA et al., 2020). Através do rastreamento de radiomarcadores, como o [18F]fluorodeoxyglucose (^{18}F -FDG), a TEP é capaz de identificar regiões cerebrais afetadas, presença de células específicas e mudanças metabólicas cerebrais. Pacientes com sintomas e queixas funcionais persistentes demonstram hipometabolismo contínuo de ^{18}F -FDG-PET em diversas regiões do cérebro, principalmente em áreas fronto-centro-parietais associadas com alterações: cognitivas, de sono e vigília, de olfato e memória (RUDROFF; WORKMAN; PONTO, 2021). No entanto, esses achados divergem entre os estudos. O estudo de Benedetti et al. (2021) identificou uma associação entre a severidade de sintomas psicopatológicos como a ansiedade e a depressão com modificações do volume da substância cinzenta nas regiões do cortex cingular anterior e nas áreas BA, 24 e 32 de Broadmann e da Insula. Os autores sugerem ainda, que a conectividade em repouso de regiões fronto-parietais estariam associadas com a presença de marcadores inflamatórios e das alterações mencionadas anteriormente (BENEDETTI et al., 2021). Esses achados são confirmados por outros estudos que observaram a presença de lesões cerebrovasculares, anormalidades na perfusão cerebral, lesões citotóxicas e da substância branca em regiões frontotemporais (KREMER et al., 2020; NIGUET et al., 2021; RUDROFF; WORKMAN; PONTO, 2021) e gânglios da base (LAMBRECQ et al., 2021).

As evidências supracitadas não corroboram com os achados de Cecchetti et al.. Estes, não identificaram nenhuma diferença estatisticamente significativa em relação ao volume cerebral total, ou da massa branca ou cinzenta ao comparar indivíduos com Covid Longa com sujeitos saudáveis (CECCHETTI et al., 2022). Mesmo diante da preservação “estrutural”, estes pacientes podem apresentar alterações da atividade cerebral (NIGUET et al., 2021). Ao avaliar

90 pacientes com sintomas tardios da Covid-19, Furlanis e et al. (2023) observou que 65% dos pacientes apresentava anormalidades do EEG caracterizadas pela desaceleração da atividade elétrica cerebral, mesmo diante da ausência de anormalidades ao exame de ressonância magnética (FURLANIS et al., 2023). Na tentativa de identificar estes déficits, o EEG têm sido utilizado como ferramenta de investigação.

Mudanças eletrofisiológicas associadas à Covid Longa

Diante da divergência dos achados em neuroimagem, diversas investigações têm direcionado sua atenção à análise eletrofisiológica de pacientes que foram infectados pela COVID-19. Neste sentido, o EEG parece ser uma ferramenta vantajosa com alta sensibilidade, excelente resolução temporal, segura e eficaz comparada à outros exames de neuroimagem como a RM e a TC (GÉLISSE et al., 2020). Sua utilização se estende do diagnóstico ao prognóstico e a sua eficácia vêm sendo reportada no manejo de diversas condições clínicas (CECCHETTI et al., 2022; COSTA et al., 2023; DAUWELS et al., 2010; FINNERTY, [s.d.]).

O sinal eletroencefalográfico reflete o somatório da atividade síncrona de milhares ou milhões de neurônios que têm orientação espacial semelhante. Mais especificamente, a atividade das ondas captadas no EEG é causada pelo fluxo de corrente resultante das mudanças lentas no potencial de membrana neuronal que são ocasionadas pelos potenciais pós-sináptico excitatório (EPSP) e pós-sináptico inibitório (IPSP) durante o potencial de ação (GOMES, 2015). No EEG convencional, o registro é obtido colocando eletrodos (geralmente de cloreto de prata) no couro cabeludo (preparado com uma leve abrasão para reduzir a impedância criada pela pele) com um gel ou pasta condutora. A assembleia geral da Federação Internacional de Neurofisiologia Clínica recomenda o uso do Sistema Internacional 10–20 para realização de EEG, que utiliza intervalos padronizados de 10% ou 20% para o posicionamento dos eletrodos (**Figura 1A**). Os sinais são medidos usando um amplificador diferencial para ampliar a diferença entre as voltagens em dois eletrodos. Muitas vezes esse sinal não tem origem cerebral podendo advir de outros tecidos biológicos ou não biológicos. Esses sinais são chamados de artefatos e devem ser considerados e excluídos da interpretação dos dados. Atividade do EEG demonstra oscilações expressas em força/potência em bandas de frequências (delta, teta, alfa, beta e gama) (**Figura 2B**) de uma rede de neurônios (FEYISSA; TATUM, 2019; MACDONALD, 2015; MAYO Covid LongaINIC COLLEGE OF MEDICINE, ROCHESTER, MINNESOTA et al., 2016).

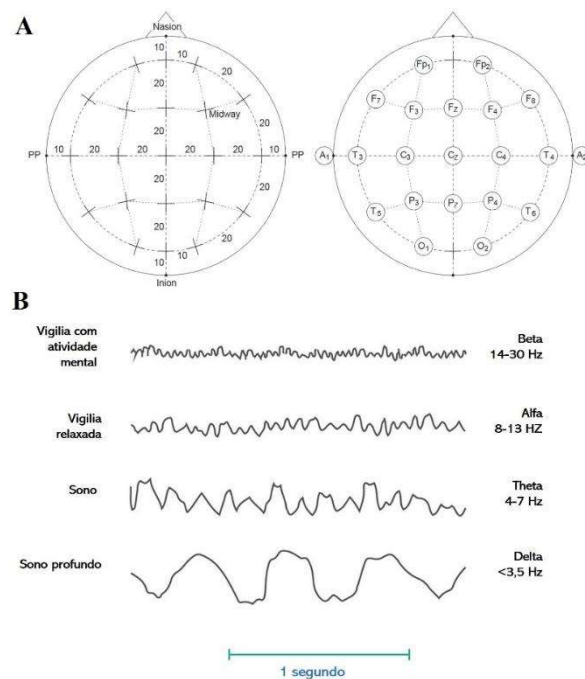


Figura 1A. Sistema Internacional 10-20 de localização e aplicação de eletrodos. **B.** Bandas de frequência do obtidas durante a aquisição dos dados eletroencefalográficos

Fonte: Adaptado de Feyissa e Tatum (2019)

Importante enfatizar, que nem todas as bandas de frequências desempenham a mesma função. Por exemplo, oscilações delta podem ser normais durante um sono, mas ser um marcador patológico na condição de vigília. Assim, sendo a análise das bandas de frequências e seus correlatos clínicos devem considerar a condição na qual o indivíduos está submetido e a localização cortical de interesse (FREEMAN; QUIROGA, 2013).

Ritmo delta (<3.5 Hz) :

Ritmo característico dos estágios de sono profundo. Dependendo da sua morfologia, localização e ritmicidade, oscilações de delta podem ser consideradas normais (ex. sono de ondas lentas) ou patológicos (ex. tumores cerebrais) (FEYISSA; TATUM, 2019; MAYO CLINIC COLLEGE OF MEDICINE, ROCHESTER, MINNESOTA et al., 2016).

Ritmo teta (4-7.5 Hz) :

Banda de frequência tipicamente presente durante o sono profundo. Na condição de vigília, a elevada atividade de teta é considerada anormal e prejuízos cerebrais como epilepsia devem ser considerados (FEYISSA; TATUM, 2019; MAYO CLINIC COLLEGE OF MEDICINE, ROCHESTER, MINNESOTA et al., 2016).

Banda de frequência alfa (8-13 Hz) :

Banda de frequência geralmente presente na região occipital, também conhecido como ritmo posterior dominante, quando o indivíduo está de olhos fechados na condição de vigília relaxada e ausência de atividade mental. ritmo alfa é reativo, atenuando-se em amplitude e frequência, sendo geralmente abolido na condição olhos abertos. Observa-se uma redução da amplitude de alfa anteriormente onde predomina a atividade beta de baixa voltagem (FEYISSA; TATUM, 2019; MAYO CLINIC COLLEGE OF MEDICINE, ROCHESTER, MINNESOTA et al., 2016).

Ritmo beta (14-30 Hz) :

Ritmo não reativo caracterizado pela sua baixa amplitude. Presente na condição de vigília, podendo persistir ou aumentar no estágio de sonolência, e diminuir no sono profundo. Apresenta distribuição fronto-centro-temporal, sendo associada à funções do córtex sensório-motor. Este ritmo pode ser evidenciado, em amplitude, sob condições que envolvem cálculo mental ou expectativa. Além disso, o uso de drogas como benzodiazepínicos, também pode gerar o aumento da amplitude de ritmo beta (FEYISSA; TATUM, 2019; MAYO CLINIC COLLEGE OF MEDICINE, ROCHESTER, MINNESOTA et al., 2016).

No que concerne à COVID-19, estudos precedentes indicam que pacientes em fase aguda da COVID-19 apresentam elevado índice de anormalidades nos achados eletroencefalográficos (ANTONY; HANEEF, 2020; CHOUGAR et al., 2020), sendo que a severidade destas alterações parece estar associada à saturação de oxigênio na admissão hospitalar (ANTONY; HANEEF, 2020; CECCHETTI et al., 2022); à condição neurológica prévia e à necessidade de ventilação mecânica durante a internação (PETRESCU; TAUSSIG; BOUILLERET, 2020). A maioria das alterações são de ordem focal, se concentram na região frontal (ANTONY; HANEEF, 2020; CANHAM et al., 2020; NIGUET et al., 2021) e são caracterizadas pela presença de ondas delta rítmicas periódicas (difusas ou locais) (NIGUET et al., 2021). Acredita-se que esta predileção localizacional esteja relacionada com o mecanismo neuroinvasivo da COVID-19 que ascende o SNC invadindo preferencialmente o bulbo olfativo e regiões orbito-frontais pela facilitação do receptor ACE-2 (ANTONY; HANEEF, 2020).

Alguns estudos sugerem que o SARS-Cov2 predisporia o desenvolvimento de uma encefalopatia difusa. Esta afirmação seria embasada pela presença de anormalidades eletroencefalográficas (GÉLISSE et al., 2020; PETRESCU; TAUSSIG; BOUILLERET, 2020) como: lentificação difusa no baseline, presença de descargas periódicas e de descargas epilépticoformes, convulsões e estados epilépticos (ANTONY; HANEEF, 2020). Antony e

Haneef (2020) sugerem que esses achados evidenciam não só a inespecificidade da encefalopatia como a existência de uma irritabilidade cortical. Outros estudos corroboram com esses achados (CANHAM et al., 2020; PETRESCU; TAUSSIG; BOUILLERET, 2020) porém, diferentes interpretações são encontradas para tal. Enquanto alguns autores associam estas anormalidades à presença de uma encefalite difusa causada pela COVID-19 (ANTONY; HANEEF, 2020) outros pesquisadores defendem que eles estejam associados ao padrão predominante em pacientes comatosos, ou aos efeitos de hipóxia, sepsis, convulsões prévias ou desajustes metabólicos (CANHAM et al., 2020; NIGUET et al., 2021). Estas divergências podem estar associadas às condições clínicas sob as quais os pacientes são avaliados. De fato, fatores como nível de consciência, existência de doenças neurológicas prévias, administração de sedativos podem influenciar na interpretação dos dados neurofisiológicos.

Os atuais dados eletroencefalográficos de pacientes com Covid Longa são limitados e oriundos principalmente de estudos com pacientes em fase aguda, dificultando a compreensão dos mecanismos subjacentes à fase tardia da doença. Um estudo reportou a presença de comprometimento no desempenho executivo, redução na qualidade de vida física e sintomas de transtorno de estresse pós-traumático 12 meses após a alta hospitalar em pessoas previamente admitidas no hospital por infecção por COVID-19. De acordo com os achados, os pacientes com Covid Longa seriam caracterizados por modificação dos geradores corticais de fusos do sono em comparação com o grupo de controle. Essas observações tem importante relevância, considerando que esses gerador são considerados como importantes biomarcadores cognitivos (RUBEGA et al., 2022). De fato, as evidências, disponíveis na literatura, sugerem que esses pacientes com Covid Longa, em especial aqueles que apresentam déficits cognitivos, apresentam: aumento na densidade de corrente na banda de frequência delta nas regiões frontal e centro-parietal bilateralmente; redução dos índices de conectividade entre as regiões frontal e parieto-occipital esquerda, frontal e centro-temporal direita e entre as regiões frontal direita e centro-temporal esquerda. Uma análise exploratória longitudinal, observou que a densidade da fonte para a banda delta era significativamente superior no grupo Covid Longa nas regiões frontal direita e esquerda, e centro-temporal direita e esquerda após dois meses de alta hospitalar quando comparados com sujeitos saudáveis (CECCHETTI et al., 2022).

Na tentativa de superar esta lacuna do conhecimento e graças às semelhanças de características da Covid Longa com outras condições clínicas (ex. CFS, esclerose múltipla) correspondências eletrofisiológicas podem ser conjecturadas (WONG; WEITZER, 2021;

WOSTYN, 2021). Em investigações com pacientes com CFS, Zinn e et al. (2019) observaram : redução do poder espectral da banda alfa na região parietal bilateralmente e no lobo temporal posterior quando os pacientes foram comparados com indivíduos saudáveis. Além disso, os autores identificaram hipoativação global do sistema nervoso central, caracterizada pelo aumento da densidade de corrente na banda de frequência delta e redução da banda de frequência beta em áreas cerebrais frontais. Estes achados foram associados com medidas de fadiga auto-relatada (ZINN et al., 2018; ZINN; ZINN; JASON, 2016).

Observações semelhantes são encontradas em estudos eletrofisiológicos com pacientes com esclerose múltipla e em investigações que comparam esta população com indivíduos saudáveis. Ao comparar a atividade cortical de dois fenótipos da esclerose múltipla com indivíduos saudáveis, Babiloni e et al. (2016) observaram uma redução generalizada da densidade de potência alfa, elevadas amplitudes no espectro de potência de delta nas regiões frontais e redução das bandas de frequências de frequência mais elevadas (beta) nas regiões temporo-parietais. Nenhuma correlação foi encontrada entre os instrumentos clínicos de avaliação da fadiga e os achados eletrofisiológicos (BABILONI et al., 2016) contradizendo os achados de Buyukturkoglu e et al. (2016) que testemunharam correlação positiva entre os níveis de fadiga e conectividade funcional em repouso. (BUYUKTURKOGLU et al., 2017).

Apesar das divergências nos achados acima, os dados supracitados ilustram a vasta utilização do EEG como ferramenta de diagnóstico. Embora ele apresente algumas limitações, como a dificuldade em interpretar as informações espaciais e a variação individual na atividade cerebral, ele se apresenta como um potencial biomarcador de diagnóstico e de predição do prognóstico terapêutico em diversas condições clínicas, como acidente vascular cerebral (AVC), epilepsia, traumatismo craniano e esclerose múltipla (CHEN; MING, [s.d.]; FOONG et al., 2020; LEOCANI et al., 2001). Por exemplo, o EEG tem sido usado para prever o risco de convulsões e a probabilidade de recuperação funcional de pacientes com AVC após a terapia trombolítica (AJČEVIĆ et al., 2021)

Embora o EEG seja amplamente usado, até o momento, os dados na literatura sobre sua utilização no estudo dos sintomas prolongados da Covid-19 e informações sobre os correlatos neurofisiológicos envolvidos na doença permanecem limitadas. É importante ressaltar, que esta é uma condição multifacetada e desafiadora devido à complexidade e diversidade de seus efeitos a médio e longo prazo, o que pode sobrecarregar o sistema de saúde em todos os seus níveis de atenção. Assim sendo, considerar os aspectos individuais e pessoais do paciente através da identificação e do estabelecimento de marcadores neurofisiológicos confiáveis e

econômicos é uma estratégia imperiosa com repercussões importantes considerando as perspectivas clínicas, psicossociais e políticas de proteção à saúde.

O EEG é a representação em 2D do volume de condução (realidade 3D). Presente na distribuição específica de campos elétricos no córtex cerebral, o EEG é resultado da atividade síncrona de uma população de grandes neurônios piramidais verticalmente orientados. (MACDONALD, 2015). Alterações na distribuição do potencial da superfície do couro cabeludo podem ser registradas e usadas para avaliar a dinâmica espacial e temporal da atividade eletrofisiológica cerebral através de uma análise complementar do sinal eletroencefalográfico conhecida como análise de EEG-MS.

EEG Microestados e análise da dinâmica cerebral

O EEG é um potente método de avaliação neurofisiológica com alta resolução temporal. Diversas abordagens analíticas têm sido propostas para quantificar e evidenciar diferentes características da atividade oscilatória cortical assim como os papéis funcionais que elas desempenham (ESPOSITO; BORTOLETTO; MINIUSSI, 2020; ZINN et al., 2018). O desvio ou oscilação da voltagem tem relação com a ativação de uma rede neural que esta sendo ativada naquele momento (COLON; HOMMES; DE WEERD, 1981; MANTINI et al., 2007). E, a análise de microestados permite a identificação desses padrões através da análise do sinal eletroencefalográfico.

A atividade cerebral global pode ser descrita pela potência de campo global (GFP), que é a raiz da média das diferenças de potencial ao quadrado em todos os eletrodos K (ou seja, $V_i(t)$) da média dos potenciais instantâneos entre os eletrodos (ou seja, $V_{mean}(t)$). (Lehmann e Skrandies, 1980)

$$GFP = \sqrt{\left(\sum_i^K (V_i(t) - V_{mean}(t))^2 \right) / K}$$

O GFP representa a força do campo elétrico sobre o cérebro a cada instante e, portanto, é frequentemente usado para medir a resposta global do cérebro a um evento ou para caracterizar as rápidas mudanças na atividade cerebral. Os máximos locais da curva GFP representam os momentos de intensidade de campo mais forte e a maior relação sinal-ruído

topográfica. Na análise de microestado, as topografias do campo elétrico nos máximos locais da curva GFP são consideradas estados discretos do EEG, e a evolução do sinal é considerada como uma série desses estados.

O conceito de microestados no EEG foi introduzido pela primeira vez pelo pesquisador suíço Werner K. H. Schmidt em 1937. Em seu trabalho, ele observou que o EEG apresenta períodos de atividade elétrica cerebral organizada, que ele chamou de "paroxismos de onda curta". Esses paroxismos foram posteriormente reconhecidos como os primeiros relatos dos EEG-MS.

Microestados (EEG-MS) são topografias de potenciais elétricos registrados em uma matriz multicanal, que permanecem estáveis por 80-120 ms, período que antecede a transição rápida para uma topografia diferente. Os mapas topográficos não se transformam gradualmente um no outro ou se sobrepõem no tempo. Um único mapa permanece dominante antes de fazer a transição abrupta para outra topografia (LEHMANN; OZAKI; PAL, 1987). Apesar dos estudos iniciais de microestados se repousarem sobre a banda de frequência alfa, atualmente a maioria dos estudos são baseados em larguras de banda maiores, como 2-20 Hz ou 1-40 Hz (KOENIG et al., 2002; VAN DE VILLE; BRITZ; MICHEL, 2010).

Embora exista a possibilidade de identificação de um grande número de mapas, geralmente 70% da variância topográfica total pode ser representada por apenas quatro microestados arquetípicos rotulados em “A”, “B”, “C” e “D”, que se correlacionam com a ativação síncrona de redes neurais distintas (LEHMANN; PASCUAL-MARQUI; MICHEL, 2009). Esses quatro mapas têm, respectivamente, as seguintes topografias: frontal direita esquerda-posterior, frontal-esquerda direita-posterior, frontal-occipital mediana e frontal mediana (**Figura 2**) (KHANNA et al., 2015). Dados de neuroimagem funcional e EEG em repouso, com indivíduos saudáveis, evidenciam uma correspondência entre os quatro microestados e a predominância da ativação de redes neurais em cada um deles (BRITZ; VAN DE VILLE; MICHEL, 2010; MANTINI et al., 2007).

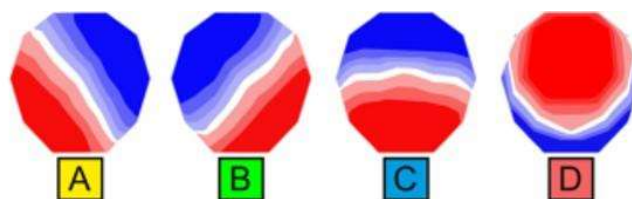


Figura 2. Conjunto dos quatro microestados arquétipos e suas topografias. Mapa A : topografia frontal direita esquerda-posterior; Mapa B : topografia frontal-esquerda direita-posterior; Mapa C : topografia frontal-occipital mediana; Mapa D : topografia frontal mediana.

Fonte: Adaptado de Khanna et al. (2015)

Descobertas recentes identificaram os EEG-MS como correlatos eletrofisiológicos de redes de estado de repouso de ressonância magnética funcional (BRITZ; VAN DE VILLE; MICHEL, 2010) evidenciando a presença de uma rica e complexa função neural endógena que não é evocada por estímulo ou tarefa. Esses achados sugerem, ainda, que este estado de repouso ou tarefa negativa seria caracterizado pela correlação temporal da atividade neuronal em áreas distintas, denominada “conectividade funcional” (AERTSEN et al., 1989). Regiões cerebrais que exibem conectividade funcional parecem estar organizadas em redes discretas associadas a funções distintas; entre elas está uma série das chamadas redes de estado de repouso. Essas, representam regiões espacialmente separadas que apresentam flutuações espontâneas síncronas de sinal, ou seja, mesma frequência de funcionamento, porém ativas no estado de repouso. Tais flutuações espontâneas são de baixa frequência no intervalo de flutuações funcionais comuns, entre 0,01 e 0,1 Hz (FRISTON et al., 1993).

Na tentativa de avaliar a relação entre a rápida flutuação dos microestados e a lenta oscilação presente no estado de repouso definido pela ressonância magnética funcional, Britz et al. (2010) analisaram a atividade cortical de indivíduos saudáveis durante no estado de repouso. A convolução do curso temporal dos mapas com a resposta hemodinâmica funcional permitiu a criação de um modelo linear que revelou a distribuição de quatro redes neurais distintas. (BRITZ; VAN DE VILLE; MICHEL, 2010).

Nesta perspectiva o microestado A foi correlacionado com a ativação de áreas temporais (regiões associadas ao processamento fonológico ou rede auditiva). O microestado B foi correlacionado com áreas visuais extra-estriadas bilateralmente. Já para o microestado C, houve correlação com o córtex cingulado anterior dorsal e com o córtex frontal inferior bilateralmente, assim como a Insula anterior direita. Finalmente, o microestado D foi correlacionado com áreas dorsais e ventrais dos córtices frontal e parietal. A comparação entre os microestados e os 15 componentes definidos pela análise tradicional de componentes independentes (ICA) da ressonância magnética funcional revela que cada mapa se correlaciona preferencialmente com uma rede distinta, atribuída da seguinte forma na literatura de neuroimagem : rede auditiva (microestado A), rede visual (microestado B), rede de saliência

(microestado C), rede de atenção (microestado D). (BRITZ; VAN DE VILLE; MICHEL, 2010; MICHEL; KOENIG, 2018).

A ressonância magnética funcional é o método convencionalmente utilizado na avaliação da conectividade funcional e na identificação das redes cerebrais de repouso, sendo baseado no contraste BOLD (GREICIUS et al., 2003, 2009). Apesar de todas as suas vantagens, a ressonância apresenta limitações. A começar pela necessidade de um equipamento oneroso o que reduz o acesso ao exame. Além disso, o fato do dispositivo ser de grandes dimensões e intimidante, pode ser desconfortável para alguns participantes. Ademais, sua resolução temporal é limitada, o que significa que ele não seja capaz de capturar mudanças rápidas na atividade cerebral. Operando em uma escala de segundos, a ressonância magnética torna-se inadequada para estudar processos neurais que ocorrem em milissegundos. Embora a ressonância magnética funcional tenha uma resolução espacial razoável, ela não é capaz de detectar a atividade cerebral em escala de neurônios individuais. Isso pode limitar a precisão na localização de regiões específicas do cérebro envolvidas em funções complexas. Observa-se, ainda, uma falta de especificidade do sinal, que reflete mudanças no fluxo sanguíneo cerebral, não da atividade neuronal direta. Essa relação não é linear, e outras variáveis, como o metabolismo cerebral, podem afetar a aquisição e interpretação do sinal. A complexidade da análise dos dados também é considerada como uma limitação, pois requer expertise em estatística e neurociência. Além disso, erros na análise podem levar a interpretações incorretas dos resultados (HUETTEL; SONG; MCCARTHY, 2004; LOGOTHETIS, 2008).

É importante destacar que, apesar dessas limitações, a ressonância magnética funcional continua sendo uma ferramenta relevante. No entanto, suas limitações devem ser consideradas bem como a reflexão sobre o uso de outras ferramentas mais vantajosas. Nesta perspectiva, a utilização de um método quantitativo não invasivo, de baixo custo, como o EEG-MS, que permite o estudo da funcionalidade cerebral se torna de grande relevância científica e clínica. A série temporal dos microestados tem uma sintaxe rica em informações. Parâmetros como : duração média, frequência, cobertura, forma topográfica, amplitude, variância explicada global e probabilidades de transição apresentam de potencial relevância neurofisiológica e serão explanados à seguir :

- *Duração média ou tempo de vida:* tempo médio que um determinado microestado permanece estável sempre que aparece.

- *Frequência de ocorrência* : número médio de vezes por segundo que o microestado se torna dominante durante o período de registro.
- *Cobertura* : fração do tempo total de gravação em que o microestado é dominante.
- *Forma topográfica* : refere-se aos quatro mapas de microestado (A, B, C e D) frequentemente comparada entre grupos e estados comportamentais.
- *Amplitude* : GFP médio durante a dominância do microestado.
- *Variância global explicada* : porcentagem da variância total explicada por um determinado microestado.
- *Probabilidades de transição* : consideração de que as chances de um microestado mudar para qualquer outro não são aleatórias, e a sequência de transições entre os microestados é potencialmente significativa.

Esses aspectos podem fornecer informações importantes sobre o estado e as mudanças corticais capazes de gerar microestados em diferentes estados cognitivos e emocionais, em indivíduos saudáveis e em diferentes condições clínicas (KHANNA et al., 2015; LEHMANN; OZAKI; PAL, 1987). A exemplo desta premissa, é possível observar um aumento da ocorrência e da cobertura do microestado B na comparação entre as condições olhos fechados e olhos abertos em indivíduos saudáveis. Outro exemplo, é o aumento da ocorrência do microestado C durante a atividade de imagética ou meditação e a redução tanto da sua ocorrência quanto das suas cobertura e duração durante uma tarefa cognitiva. A presença da tarefa cognitiva, ao contrário do microestado C, implica na observação de um aumento da ocorrência e duração do microestado D. Essas observações, provavelmente salientam a existência da predominância de operações cognitivas distintas em cada microestado. Neste sentido, o microestado C poderia refletir na atenção interna guiada, o pensamento auto-referencial ou a recuperação da memória episódica, ao passo que o microestado D estaria associado à mudança de foco ou atenção reflexiva (LEHMANN; PASCUAL-MARQUI; MICHEL, 2009; ZANESCO et al., 2019).

Alterações consistentes dos parâmetros dos EEG-MS têm sido encontradas em diferentes condições clínicas (BALDINI et al., 2022; COSTA et al., 2023; KINDLER et al., 2011). Um estudo com EEG-MS demonstrou que pacientes com doença de Parkinson apresentam redução da duração do microestado C quando comparados com controles saudáveis. Os autores observaram ainda, que a cobertura dos microestados B, C e D apresentaram correlações de forte magnitude com desfechos não motores como desempenho

cognitivo, qualidade de vida e dose diária equivalente de levodopa (COSTA et al., 2023). Em outro estudo, Baldini et al. (2023) avaliaram a dinâmica temporal das redes neurais de repouso em pacientes com esclerose múltipla sem alterações cognitivas comparando com sujeitos saudáveis na tentativa de identificar microestados específicos em cada população. Os quatro microestados canônicos foram encontrados nos dois grupos. No grupo com pacientes com esclerose múltipla observou-se um dualismo entre um padrão sensorial aumentado e um padrão cognitivo reduzido. Os pesquisadores observaram, ainda, que os pacientes com fadiga apresentavam as características temporais de dois dos quatro microestados canônicos alteradas. Além disso, os dados dos microestados foram preditivos de parâmetros clínicos dos pacientes, como duração e remissão da doença, bem como os escores neuropsicológicos de depressão autoavaliada e fadiga cognitiva (BALDINI et al., 2022). Em outra perspectiva, Wang e et al. (2022), ao avaliarem pacientes que sofreram AVC submetidos à reabilitação, observaram correlação entre a duração do microestado A com o escore de membros inferiores da escala Fugl-Meyer, sendo que esta correlação foi significativamente influenciada pela idade (WANG et al., 2022). Esses achados evidenciam a relevância da utilização dos EEG-MS não só pelo seu potencial diagnóstico como auxilia na individualização do tratamento.

6 MÉTODO

A presente dissertação trata-se de um estudo piloto, de caráter exploratório, observacional, transversal, descritivo e comparativo, envolvendo pacientes com Covid Longa comparados a um grupo de participantes saudáveis (grupo controle - GC). Seu desenvolvimento foi baseado na iniciativa STROBE (Padrões Consolidados para Relatar Estudos Observacionais. A investigação foi conduzida de acordo com a Declaração de Helsinki e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Estadual de Saúde, vinculada ao Governo do Estado da Paraíba (número do parecer: 4.486.792;CAAE: 40994720.6.0000.5186). Todos os participantes selecionados participaram de forma voluntária e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Anexo I).

A seleção dos participantes e coleta dos dados teve início entre a metade da terceira onda epidemiológica (janeiro de 2022) e fim em outubro de 2023.

Participantes:

A amostra foi composta por 15 pacientes com idade, entre 29-74 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico de COVID-19 confirmado pelo exame PCR (reação em cadeia da polimerase) para SARS-COV-2 ou teste antígeno. O grupo controle foi composto por 15 indivíduos saudáveis que foram pareados por idade e sexo com o grupo controle.

Critérios de Inclusão:

- 3 à 12 meses de diagnóstico;
- presença de fadiga associada à infecção pela COVID-19 confirmada pela Escala Modificada de Impacto da Fadiga Brasileira (MFIS-BR) (FISK et al., 1994)

Critérios de Exclusão :

- presença de depressão severa (escore superior à 30 no Inventário de Depressão de Beck) (SHAHID et al., 2011);
- histórico de etilismo ou outra dependência química;
- presença de doenças neurológicas prévias (ex. traumatismo craniano, acidente vascular cerebral, epilepsia, etc)

A comparação dos achados eletrofisiológicos e clínicos foi realizada com 15 participantes saudáveis, sem históricos de fadiga pós-COVID-19 ou de doenças neurológicas ou psiquiátricas, pareados pela idade e pelo sexo.

Medidas de rastreio

Os participantes foram submetidos a uma avaliação inicial de rastreio, realizada em um único dia, composta pelos dados sociodemográficos (ex. sexo, idade) e clínicos sobre as fases aguda (ex. necessidade de internação e/ou suporte de oxigênio) e crônica da COVID-19 (ex. tempo de diagnóstico; tipo de esquema vacinal no momento da avaliação). Além disso, os dados sobre os sintomas de ansiedade, depressão e qualidade de vida foram, igualmente, coletados. A ansiedade foi quantificada através da escala para Ansiedade de Hamilton (HAM) que é composta de 14 perguntas, com um escore para cada uma delas que varia de 0 a 4, (total de 0-56 pontos). Escore maiores refletem maior grau de ansiedade do paciente. Ela permite tanto a quantificação da intensidade da experiência ansiosa, como a avaliação das respostas aos tratamentos propostos (MAIER et al., 1988). Os sintomas de depressão foram avaliados pelo Inventário de Beck. Este instrumento trata-se de um questionário de autorrelato para avaliar a gravidade dos sintomas de depressão em adultos e adolescentes. Ele é composto por 21 perguntas acompanhadas por quatro declarações de sintomas, classificadas por intensidade. A pontuação total reflete a gravidade da depressão, variando de 0 a 63 (SHAHID et al., 2011). E finalmente, a qualidade de vida foi mensurada da versão em português abreviada da escala *World Health Organization Quality of Life* (WHOQOL), composta por 26 questões que buscam avaliar: a qualidade de vida de modo geral, a satisfação com a própria saúde; além da satisfação nos domínios físico, psicológico, das relações sociais e meio ambiente. Este instrumento que é utilizado tanto para populações saudáveis como para populações acometidas por agravos e doenças crônicas (THE WHOQOL GROUP, 1998)

Desfecho Primário

A análise do poder espectral foi considerada como desfecho primário. O poder espectral (mV^2) foi calculada para as seguintes bandas de frequência : teta (4–8 Hz), alfa (8–13 Hz), beta (13,5–30 Hz). Os eletrodos situados nas regiões frontal (Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8), temporal (T3, T4, T5, T6), central (C3, C4, Cz), and parieto-occipital (P3, P4, P7, P8, O1, O2) foram considerados. Utilizando como referência investigações precedentes, as regiões frontal, central, temporal e temporoparietal foram consideradas como regiões de interesse à serem investigadas devido sua relação com os níveis de fadiga em diversas condições clínicas (BUYUKTURKOGLU et al., 2017; KOPÁŇSKA et al., 2021; LEOCANI et al., 2001).

Coleta e análise dos dados eletrofisiológicos em repouso

Aquisição e registro do EEG

A atividade elétrica cortical foi mensurada através do aparelho de EEG Emotiv EPOC Flex. Este, trata-se de um dispositivo multicanal, de alta resolução, sem fio, composto de 32 eletrodos ativos de Ag/AgCl, que foram posicionados no escalpo de acordo com o Sistema Internacional 10-20, tendo os canais TP9 e TP10 como eletrodos de referência. A fixação dos eletrodos ocorreu por meio de uma touca ajustável e de gel eletrocondutor a fim de otimizar o contato com o couro cabeludo. Foi utilizada uma taxa de amostragem de 1024 Hz e a impedância foi mantida abaixo de 25k Ω durante o registro. Considerando que a população estudada frequentemente apresenta sintomas de fadiga, a coleta teve duração de 4 minutos ao total nas condições olhos abertos (dois minutos) e olhos fechados (dois minutos), em ambiente com controle sonoro e luminoso, com o participante sentado com os pés apoiados. Todos os participantes foram orientados à se abster de substâncias psicoativas ou com cafeína por pelo menos quatro horas antes da coleta.

Processamento e análise dos dados do EEG quantitativo

O registro e o armazenamento dos dados foram realizados com o EmotivPro Analyzer (versão 1.8.1), que possui pré-processamento de dados de EEG embutido, incluindo um filtro passa-alta de 0,2 Hz e um filtro passa-baixa de 45 Hz, digitalização a 1.024 Hz e filtragem usando um filtro sinc digital de quinta ordem e downsampling para 128 Hz. Este pré-processamento consiste nas seguintes etapas : aplicação dos filtros passa-alta e passa-baixa; remoção de artefatos biológicos e não biológicos e segmentação em segmentos de tamanho igual a 10 segundos sem sobreposição; Transformada Rápida de Fourier (máxima resolução, saída do sinal em decibéis ($10 \cdot \log_{10}$; potência espectral por Hertz) e janela de Hanning.

A extração do processamento geral de EEG off-line, a identificação e limpeza de outliers foram realizado usando o EmotivPro Analyzer e o Python, respectivamente.

Desfechos Secundários

Os desfechos secundários foram compostos pelo nível de fadiga e pela análise dos EEG-MS.

Fadiga :

A fadiga foi avaliada através da Escala Modificada de Impacto da Fadiga Brasileira (MFIS-BR) (FISK et al., 1994). Desenvolvida por Fisk e et al., esta escala é baseada em entrevistas com pacientes com esclerose múltipla sobre o impacto da fadiga em suas vidas (FISK et al., 1994). Ela é composta por 21 itens, estratificados em três domínios: domínio físico (10 itens), domínio cognitivo (9 itens), e domínio psicossocial (2 itens) (PAVAN et al., 2007). O participante deve pontuar cada item de 0-4 (0=jamais e 4= quase sempre) tendo como base as últimas 4 semanas. O escore total varia de 0 a 84, sendo que as subescalas física, cognitiva e psicossocial variam, respectivamente entre : 0-36; 0-40 e 0-8.

Microestados do EEG

O processamento dos dados do EEG foi realizado no software EmotivPro Analyzer (versão 1.8.1) de acordo com as seguintes etapas e parâmetros: (1) redução da taxa de amostragem para 256 Hz; (2) filtragem com passa alta de 2 Hz e passa baixa 20 Hz; (3) inspeção e exclusão manual dos artefatos; (4) correção de movimento ocular utilizando a análise de componentes independentes; (5) segmentação em trechos de dois segundos de duração com sobreposição de 10% (KINDLER et al., 2011; KOENIG et al., 2002; MICHEL; KOENIG, 2018; MILZ et al., 2016).

A análise dos EEG-MS foi realizada através do software EmotivPro Analyzer (KOENIG et al., 2002). Os dados foram submetidos aos seguintes processamentos: (1) determinação da potência global (*global field power*, GFP); (2) clusterização utilizando k-médias dos mapas topográficos dos picos do GFP; (3) determinação do número ótimo de mapas topográficos utilizando um critério pré-determinado dos quatro mapas “clássicos” (A, B, C e D); (4) aplicação dos mapas topográficos definidos ao sinal do EEG por meio de correlação espacial; (5) classificação do dado contínuo do EEG de acordo com o mapa topográfico com o qual determinado trecho apresenta maior correlação. Para cada um dos quatro mapas topográficos foram calculados e extraídos os seguintes parâmetros: variância global explicada, cobertura (percentual do tempo total de registro em que o microestado é dominante), a ocorrência (número médio de vezes por segundo que o microestado se torna dominante durante

o período de registro), e a duração (tempo médio que um microestado permanece estável em milissegundos). Esses dados foram utilizados como medidas de desfecho para as análises.

Análise Estatística:

Todas as análises foram realizadas com o GraphPad Prism software versão 8.0 para Mac (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). A aceitação de H1 e refutação de H0 foi considerada quando considerado $p < 0,05$, sugerindo significância estatística. Esta foi determinada após a aplicação da correção pelo método de Bonferroni.

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade quanto à distribuição dos dados. Foi utilizada estatística descritiva para a descrição das características clínicas e sociodemográficas, sendo apresentadas em frequências e porcentagens para variáveis categóricas e em médias e desvios-padrão foram calculados para as variáveis contínuas. A comparação das características entre grupos foi executada usando o teste Chi-quadrado para as variáveis categóricas e teste t independente para as variáveis contínuas.

A utilização dos testes paramétricos foi condicionada a distribuição normal dos dados. A comparação do poder espectral entre grupos foi realizada utilizando a média dos eletrodos que compõe cada região. Nesta perspectiva na condição olhos abertos, a comparação do poder espectral entre grupos foi realizada através de Mann-Whitney para as bandas de frequência teta e alfa, respectivamente, nas regiões temporal e central, ao passo que o teste t independente foi aplicado para análise das bandas de frequência alfa e beta das regiões frontal e temporo-parietal. Já na condição olhos fechados, foi utilizado o teste de Mann-Whitney apenas na comparação entre grupos do poder espectral da banda de frequência teta e alfa, respectivamente das regiões temporal e central.

A comparação entre grupos para o escore total e os subdomínios da fadiga foi realizada através do teste t independente.

A análise da correlação entre as características do EEG e o escore total e seus subdomínios da MFIS dos pacientes com CL, foi conduzida pela análise de correlação de Pearson ou de Spearman à depender da normalidade dos dados.

O tamanho de efeito foi calculado como a divisão da diferença das médias entre grupos pela raiz quadrada de ΔSD^2 (diferença do desvio padrão entre grupos ao quadrado), sendo a média obtida ao realizar o teste de Mann Whitney ou test t a depender da normalidade do dados. O tamanho da amostra do estudo. O tamanho de efeito (ES) foi interpretado como sendo pequeno se d for de 0,20 – 0,49, médio se for de 0,50 – 0,79 e grande se for de 0.80 – 1.19 e muito grande se for superior a 1.20 (ELLIS, P.D., 2009).

Uma análise preliminar de correlação foi realizada entre os parâmetros de cada microestados na tentativa de minimizar as múltiplas comparações. Nesta perspectiva, observou-se uma correlação significativa de moderada à forte entre os parâmetros dos microestados sendo optado por utilizar a ocorrência dos microestados A, B, C e D; e a duração do microestado D na análise correlação com os desfechos clínicos de fadiga em ambas as condições .

7 RESULTADOS

A amostra do presente estudo foi composta pelo grupo Covid Longa e pelo grupo controle. Quinze participantes (dois homens e 13 mulheres) com idade média de 41.87 ± 8.98 anos, compuseram o grupo Covid Longa. O grupo controle foi composto, igualmente, por 15 indivíduos e com idade média de 46.53 ± 15.43 anos, sendo pareados com o grupo Covid Longa em sexo e idade. As características clínicas e sociodemográficas dos participantes são apresentadas na Tabela 1.

No que se refere às características clínicas, o grupo Covid Longa apresentou prejuízos clínicos significativamente superiores quando comparado ao grupo controle. Neste sentido, os pacientes com Covid Longa foram caracterizados pela presença de fadiga; ansiedade moderada, depressão leve e um empobrecimento da qualidade de vida. No momento da avaliação os pacientes tinham 71 (45-273) dias de tempo de doença, 86.7% estavam vacinados com pelo menos uma dose da vacina contra COVID-19 e 93.33% não necessitaram de internação na fase aguda da doença.

Tabela 1. Características sociodemográficas e clínicas dos participantes.

	Grupo		<i>p</i> -valor
	Covid Longa (n=15)	Controle (n=15)	
Características Sociodemográficas	Media [DP]	Media [DP] Mediana [IC]	
Idade ^a , a.	41,87 [8,98]	46,53 [15,43]	0,32
Mulheres ^b , No. [%]	13 [86,67]	13 [86,67]	0,99
Características Clínicas			
MFIS Total	58,53 [11,02]	25,67 [13,73]	0,0001*
MFIS Cognitivo	27,93 [5,77]	9,73 [6,89]	0,0001*
MFIS Físico	24,80 [6,41]	6,00 [2,00 – 17,00]	0,0001*
MFIS Psicossocial	5,80 [1,70]	3,00 [1,00-10,00]	0,336
HAM	25,20 [9,01]	10,13 [7,47]	0,0001*
Inventário de Beck	18,27 [7,04]	9,26 [6,31]	0,0010*
WhoQoL-Bref	79,67 [6,55]	90,80 [10,15]	0,0016*

* Estatisticamente significante

a = anos; DP = desvio padrão; No. Ou n = número de participantes; MFIS = Escala de Fadiga Modificada; HAM = Escala de Ansiedade de Hamilton; WhoQoL = versão abreviada da escala *World Health Organization Quality of Life*.

Análise do poder espectral

A análise do poder espectral dos grupos Covid Longa e controle nas condições olhos abertos e fechados está representada na **Figura 3** e resumida no **Apendice 1**. Na condição olhos abertos, os pacientes com Covid Longa foram caracterizados por um poder espectral significativamente superior em todas as regiões avaliadas quando comparados ao grupo controle. Para região temporal a banda de frequência teta apresentou valores maiores que o grupo controle ($0.60 \mu V^2 [\pm 0.17]$ vs. $0.43 \mu V^2 [\pm 0.14]$; ES=1.1). Diferenças superiormente significativas também foram observadas na região frontal para a banda de beta ($0.73 \mu V^2 [\pm 0.16]$ vs. $0.47 \mu V^2 [\pm 0.18]$; ES=1.5) e central para a banda de frequência alfa ($0.74 \mu V^2 [\pm 0.64]$ vs. $0.53 \mu V^2 [\pm 0.24]$; ES=0.4) e temporo-parietal para a banda de frequência beta ($0.86 \mu V^2 [\pm 0.13]$ vs. $0.55 \mu V^2 [\pm 0.18]$; ES=2.0). Resultados distintos foram observados na condição olhos fechados. Nesta condição o grupo controle apresentou valores significativamente superiores foram evidenciados quando comparados ao grupo Covid Longa em todas as regiões e bandas de frequência avaliadas exceto para banda de frequência teta na região temporal. Na região frontal para a banda alfa ($0.22 \mu V^2 [\pm 0.16]$ vs. $0.64 \mu V^2 [\pm 0.23]$; ES=2.1) e para a banda beta ($0.32 \mu V^2 [0.19 - 0.45]$ vs. $0.48 \mu V^2 [0.36 - 0.64]$; ES=0.7). Similarmente, na região central observamos para a banda de frequência alfa ($0.19 \mu V^2 [\pm 0.14]$ vs. $0.69 \mu V^2 [\pm 0.23]$; ES=2.6). E, para a banda de frequência beta da região temporo-parietal ($0.31 \mu V^2 [0.16 - 0.38]$ vs. $0.49 \mu V^2 [0.41 - 0.69]$; ES=0.8).

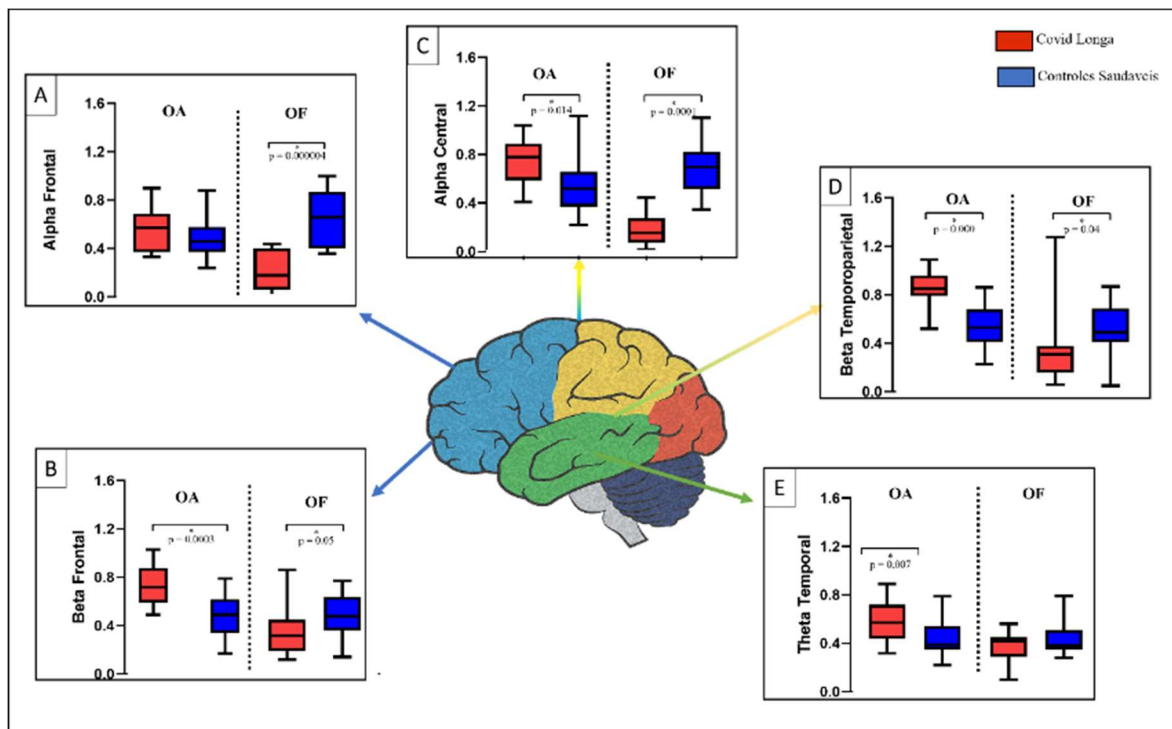


Figura 3. Análise do poder espectral das regiões frontal (A e B), central (C), temporo-parietal (D) e temporal (E) para as bandas de frequência alfa; beta e teta, nas condições olhos abertos e olhos fechados entre os grupos de pacientes com Covid Longa e controles saudáveis. Os valores de p referem à análise de comparação entre grupos (correção de Bonferroni para múltiplas comparações) Covid Longa e o grupo controle. OA = olhos abertos; OF = olhos fechados.

Análise dos microestados

As topografias dos microestados dos grupos Covid Longa e controle na condição de olhos abertos e fechados estão representadas na **Figura 4**. Na condição olhos abertos, a variância global explicada do EEG-MS dos pacientes com Covid Longa significativamente superior que a dos indivíduos controles ($37.26\% \pm 4.26$ vs. 31.52 ± 2.86 ; $p=0,0002$). Porém, a significância não foi observada na condição de olhos fechados ($34.34\% \pm 4.34$ vs. $35.64\% \pm 5.70$; $p=0.49$).

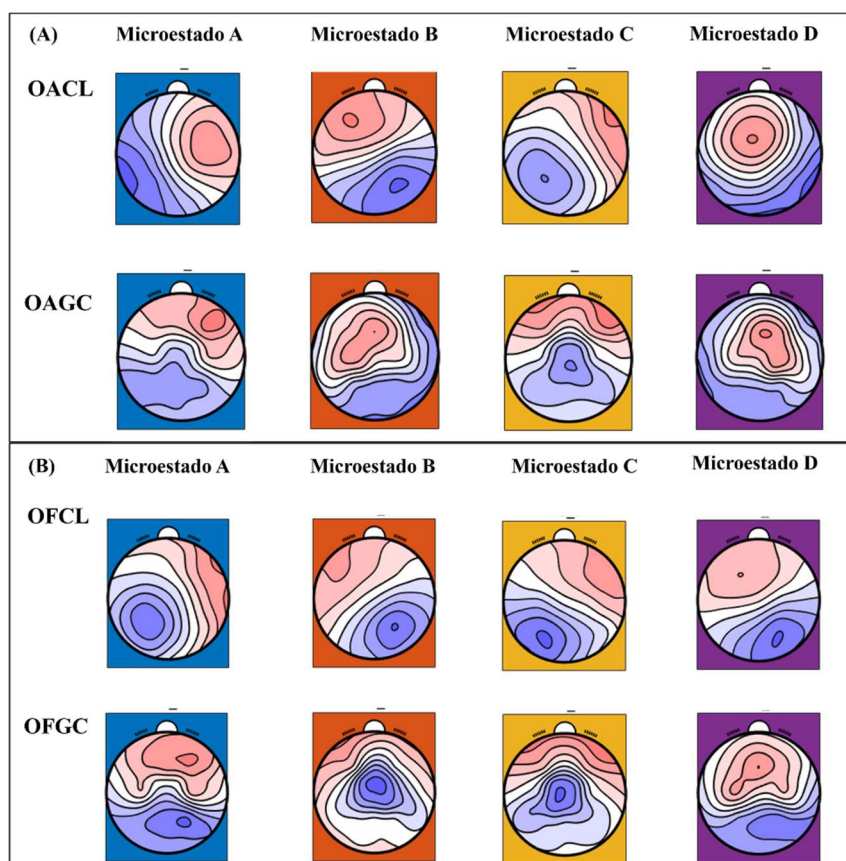


Figura 4. Modelos de topografias como resultado do processo de segmentação individual e do grupo. OA = condição olhos abertos; OF = condição olhos fechados; CL = Grupo covid longa; GC = Grupo Controle.

A **Figura 5** sumariza os parâmetros dos quatro microestados canônicos (análise detalhada no **Apendice 2**). Na condição olhos fechados, observamos diferenças significativas entre os grupos. No que tange ao microestado C, o grupo com Covid Longa apresentou a duração (36.53 ms [$32.79 - 40.34$] vs. 44.15 [$42.44 - 50.48$]; $ES=1.4$); ocorrência C (3.71 [± 1.08] vs. 5.37 [± 1.18]; $ES = 1.8$) e cobertura C (13.18% [± 3.44] vs. 24.42% [± 4.67]; $ES = 2.7$) significativamente inferiores quando comparados com o grupo controle. Similarmente, para

o microestado D, a duração (37.55 ms [34.60 – 40.98] vs. 43.94 [40.85 – 48-75]; ES = 1.1), a ocorrência (4.47 [±1.25] vs. 6.21 [±1.17]; ES = 1.2), e a cobertura (16.64% [±4.56] vs. 27.27% [±4.09]; ES = 2.5) dos indivíduos Covid Longa foram significativamente inferiores quando comparadas aos parâmetros dos controles saudáveis. Nenhuma diferença significativa foi observada na condição olhos abertos.

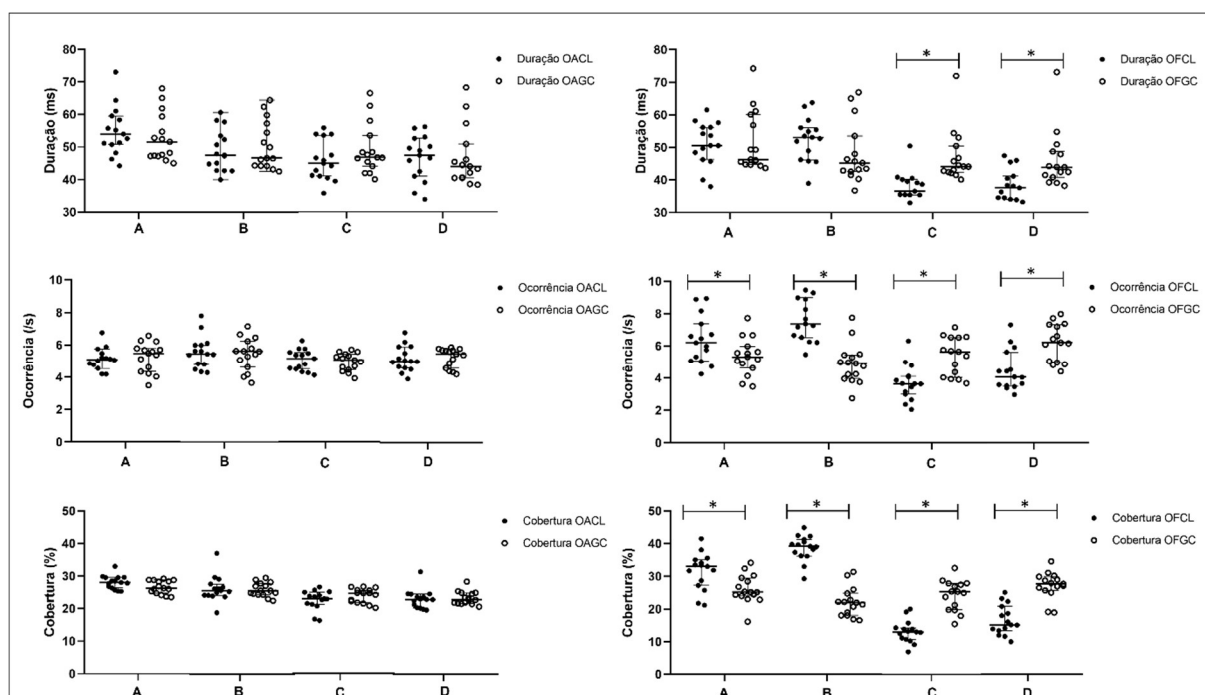


Figura 5. Gráficos de comparação das medianas da duração, ocorrência e cobertura dos microestados A, B, C e D para as condições olhos abertos olhos fechados. OACovid Longa = grupo Covid Longa na condição olhos abertos; OAGC = grupo controle na condição olhos abertos; OFCovid Longa = grupo Covid Longa na condição olhos fechados; OFGC = grupo controle na condição olhos fechados.

Correlações Clínicas

Os detalhes das correlações do poder espectral na condição olhos abertos com os dados da fadiga são sumarizados na **Tabela 2**. Na condição olhos abertos, para a região frontal, houve uma correlação negativa entre a banda de frequência alfa e o domínio cognitivo da MFIS ($r = -.53$). Também foi evidenciado, para a região central, que a banda de frequência alfa se correlacionou negativamente com o escore total da MFIS ($r = -.53$) e com o seu domínio cognitivo ($r = -.73$). Na região temporal, observou-se correlação negativa da banda de frequência teta com o domínio cognitivo da MFIS ($r = -.53$). Finalmente, na região temporoparietal a banda de frequência beta se correlacionou negativamente com o domínio psicossocial da MFIS ($r = -.62$).

Tabela 2. Correlações do poder espectral na condição de olhos abertos com dados/desfechos clínicos de fadiga

		CL (n = 15)				GC (n = 15)			
		MFIS r (p)	MFIS Cognitivo r (p)	MFIS Físico r (p)	MFIS Psicossocial r (p)	MFIS r (p)	MFIS Cognitivo r (p)	MFIS Físico r (p)	MFIS Psicossocial r (p)
<i>Banda de frequência /Região</i>									
Teta Temporal	OA	-0,451 ^a [0,09]	-0,534^a [0,02]*	-0,237 ^a [0,39]	-0,213 ^a [0,45]	0,455 ^a [0,30]	0,617 ^a [0,14]	0,342 ^b [0,45]	0,680 ^b [0,09]
	OF	0,299 ^a [0,28]	0,122 ^a [0,66]	0,274 ^a [0,32]	0,489 ^a [0,06]	0,294 ^b [0,29]	0,117 ^b [0,68]	-0,095 ^b [0,74]	0,518^b [0,05]*
Alfa Frontal	OA	-0,383 ^a [0,16]	-0,534^a [0,04]*	-0,143 ^a [0,61]	-0,128 ^a [0,65]	-0,038 ^a [0,93]	0,016 ^a [0,97]	-0,076 ^b [0,87]	-0,104 ^b [0,82]
	OF	0,603^a [0,02]*	0,340 ^a [0,22]	0,600^a [0,02]*	0,490 ^a [0,64]	0,045 ^a [0,87]	-0,049 ^a [0,86]	-0,001 ^a [0,99]	0,154 ^a [0,58]
Alfa Central	OA	-0,531^a [0,04]*	-0,764^a [0,001]*	-0,225 ^a [0,42]	-0,007 ^a [0,98]	-0,096 ^a [0,83]	-0,031 ^a [0,95]	-0,132 ^b [0,78]	-0,020 ^b [0,66]
	OF	0,519^a [0,05]*	0,175 ^a [0,53]	0,592^a [0,02]*	0,539 ^a [0,04]	-0,087 ^a [0,76]	-0,192 ^a [0,49]	-0,215 ^a [0,44]	0,317 ^a [0,25]
Beta Frontal	OA	-0,225 ^a [0,42]	-0,275 ^a [0,32]	-0,019 ^a [0,95]	-0,455 ^a [0,89]	0,587 ^a [0,17]	0,536 ^a [0,21]	0,637 ^b [0,12]	0,459 ^b [0,30]
	OF	-0,06 ^b [0,82]	-0,054 ^b [0,84]	-0,166 ^b [0,55]	-0,06 ^b [0,83]	0,183 ^a [0,51]	0,387 ^a [0,15]	0,385 ^a [0,16]	-0,556^a [0,03]*
Beta Temporoparietal	OA	-0,449 ^a [0,93]	-0,276 ^a [0,32]	-0,358 ^a [0,19]	-0,625^a [0,01]*	0,173 ^a [0,71]	0,131 ^a [0,78]	0,234 ^b [0,61]	0,067 ^b [0,89]
	OF	0,118 ^b [0,67]	0,202 ^b [0,47]	0,002 ^b [0,99]	-0,017 ^b [0,95]	0,050 ^a [0,86]	0,298 ^a [0,28]	0,281 ^a [0,31]	-0,606^a [0,02]*

^a Correlação de Pearson

^b Correlação de Spearman

* Estatisticamente significativa n= número de participantes; MFIS = Escala de Fadiga Modificada; r = coeficiente de correlação de postos de Pearson; CL= Grupo Covid Longa; GC = Grupo controle; OA = condição olhos abertos; OF = condição olhos fechados.

A condição olhos fechados foi caracterizada por achados diferenciados. Foram observadas correlações significativas, no grupo Covid Longa, apenas para as regiões frontal e central somente para a banda de frequência alfa . Alfa frontal se correlacionou positivamente com o escore total da MFIS ($r = .60$) e com o domínio físico ($r = .60$). Correlações positivas significantes também foram observadas na região central entre a banda de frequência alfa e o escore total da MFIS ($r = .52$) e seus domínios físico ($r = .59$) e psicossocial ($r = .54$). Nenhuma correlação foi observada entre bandas de frequência de interesse e a escala de fadiga utilizada para o grupo controle na condição olhos fechados.

No que tange aos microestados, nenhuma correlação foi observada no grupo Covid Longa na condição olhos abertos ou olhos fechados. (**Tabela 3**)

Tabela 3. Correlações dos microestados, dos pacientes com Covid Longa, com desfechos clínicos de fadiga nas condições olhos abertos e olhos fechados.

	OA				OF			
	MFIS r (p)	MFIS Cognitivo r (p)	MFIS Físico r (p)	MFIS Psicossocial r (p)	MFIS r (p)	MFIS Cognitivo r (p)	MFIS Físico r (p)	MFIS Psicossocial r (p)
Duração (ms)								
D	0,08 [0,78]	0,17 [0,55]	-0,04 [0,88]	0,08 [0,78]	0,00 [0,99]	0,14 [0,61]	-0,11 [0,69]	-0,03 [0,91]
Ocorrência (/s)								
A	0,27 [0,32]	-0,02 [0,93]	0,43 [0,11]	0,24 [0,39]	-0,05 [0,86]	-0,08 [0,78]	0,19 [0,49]	-0,14 [0,62]
B	-0,00 [0,99]	-0,02 [0,95]	- 0,00 [0,99]	0,04 [0,88]	-0,26 [0,35]	-0,32 [0,24]	-0,05 [0,86]	-0,40[0,0,14]
C	0,06 [0,82]	-0,03 [0,90]	0,04 [0,89]	-0,38 [0,16]	0,43 [0,11]	0,27 [0,33]	0,40 [0,14]	0,33 [0,23]
D	0,33 [0,23]	0,04 [0,89]	0,48 [0,07]	0,19 [0,49]	-0,09 [0,75]	-0,11 [0,69]	-0,07 [0,81]	0,06 [0,84]
OA = condição olhos abertos; OF = condição olhos fechados;MFIS = Escala de Fadiga Modificada; r = coeficiente de correlação de postos de Pearson								

8 DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi caracterizar o padrão da atividade cortical, através do EEG de repouso, de pacientes com Covid Longa. Além disso, investigamos as flutuações temporais topográficas através da análise de microestados do EEG e as possíveis correlações clínicas entre os aspectos clínicos específicos da Covid Longa e o poder espectral e os EEG-MS. Nossos dados sugerem que os pacientes com Covid Longa são caracterizados por um maior poder espectral das bandas de frequência teta, alfa e beta nas regiões temporal, central, frontal e temporoparietal na condição olhos abertos quando comparados com indivíduos saudáveis pareados por sexo e idade. Vale ressaltar que, esses achados se invertem na condição olhos fechados, onde o grupo controle apresenta valores significativamente superiores para as bandas de frequência e regiões supracitadas.

Até o presente momento, este é o primeiro estudo que investiga a atividade cortical de pacientes com Covid Longa nas condições olhos abertos e olhos fechados, especificamente aqueles que desenvolveram fadiga na fase tardia da doença. Esses pacientes apresentam redução do poder espectral de bandas de baixas e altas frequências das regiões frontal, central, temporal e parietal quando comparadas com a população saudável evidenciada na condição olhos fechados. A complexidade das sequelas neurológicas associadas à COVID-19 tem sido evidenciada por meio de alterações nas frequências cerebrais medidas pelo EEG, revelando um impacto prolongado nesta população. A hipoativação da região frontal, observada pela diferença significativa da potência média das bandas de frequência alfa e beta na condição olhos fechados, pode estar associada ao mecanismo neuroinvasivo da COVID-19, que ascende o SNC pelo bulbo olfativo alterando a excitabilidade cortical e gerando prejuízos à nível sináptico (ANTONY; HANEEF, 2020). Neste sentido, nossos achados sugerem que pacientes com Covid Longa apresentam um prejuízo nos mecanismos de sincronização alfa, que em condições normais parece ter um papel importante na manutenção do mecanismo inibitório ativo e adaptativo durante a supressão perceptiva das informações visuais (IPPOLITO et al., 2022). Nossos achados corroboram com estudos em neuroimagem que demonstram que esta população apresenta um hipometabolismo na região frontal (GRACH et al., 2022; RUDROFF; WORKMAN; PONTO, 2021). Clinicamente, as modificações eletroencefalográficas podem refletir alterações cognitivas e psiquiátricas como ansiedade e depressão e fadiga (BENEDETTI et al., 2021; CECCHETTI et al., 2022). Uma revisão sistemática conduzida por Heitmann et al. (2023) indica que pacientes com fadiga apresentam redução do poder espectral de alfa quando comparados com controles saudáveis (HEITMANN et al., 2023).

Adicionalmente, a supressão da dominância da banda de frequência alfa imposta pela condição olhos abertos, modificou o padrão de ativação cortical onde a região frontal passa a ser caracterizada por uma hiperatividade evidenciada pela diferença significativa da banda de frequência beta entre os grupos. Embora não exista um consenso na literatura a respeito da dinâmica das oscilações beta em pacientes com fadiga (HEITMANN et al., 2023), nossos dados podem sugerir a compensação do sistema cognitivo, através do aumento do esforço atencional, caracterizado por uma fadiga mental para compensar a redução da vigilância durante a coleta (SCHWARZ; SCHMITZ, 2023; STOLL et al., 2016). Nossas observações contrapõem, parcialmente, achados prévios com pacientes com CFS que observaram uma tendência global de aumento das bandas de baixa frequência (delta, teta e alfa) e uma redução das bandas de alta frequência (beta) (SILVA-PASSADOURO et al., 2023).

Os pacientes com Covid Longa também apresentaram alterações centrais e temporoparietais significativas, em ambas as condições, quando comparados com os controles saudáveis sugerindo que fadiga pós-COVID possa ser decorrente de modificações funcionais desta região, corroborando com achados prévios (BABILONI et al., 2016; ZINN et al., 2018). Apesar da maioria das evidências em Covid Longa se repousarem nas modificações estruturais e funcionais de regiões frontais, dados prévios oriundos de condições clínicas semelhantes demonstram o envolvimento dos córtices motor primário e sensorio-motor nos sintomas da fadiga. Ao avaliar 12 pacientes que apresentavam fadiga, síndrome disexecutiva e alterações psiquiátricas na fase crônica da COVID, Ortelli et al. (2021) observaram alterações significativas no córtex motor primário. Os pesquisadores sugerem que essas modificações sejam, possivelmente, mediadas por alterações na neurotransmissão GABAérgica (ORTELLI et al., 2021). Observações similares foram reveladas pelos achados de Liepert et al. (2005) que indicam que pacientes com fadiga apresentam uma tendência à apresentarem uma desinibição intracortical em especial de áreas sensorio motoras, caracterizada pela permanência da atividade cortical mesmo após a finalização do movimento (LIEPERT et al., [s.d.]). Assim como os achados de Babiloni et al. (2016), observamos uma redução significativa da banda frequência beta na região temporoparietal (BABILONI et al., 2016; LIEPERT et al., [s.d.]).

As observações supracitadas elucidam tanto a utilização do EEG como biomarcador de classificação de pacientes com Covid Longa quanto a necessidade de uma abordagem multidisciplinar especializada no manejo dos aspectos físicos, considerando igualmente deficiências ocultas como fadiga, ansiedade e depressão. A capacidade de capturar as relações causais entre a função cerebral e o comportamento em indivíduos com distúrbios neurológicos

ou lesões tem implicações clínicas importantes para o desenvolvimento de novos biomarcadores de recuperação e resposta a intervenções terapêuticas (BORICH et al., 2015).

Quanto às correlações clínicas com as bandas de frequência, identificamos correlação positiva entre a banda de frequência alfa das regiões frontal e central o escore total da MFIS. Funcionalmente, estes achados podem sugerir um mecanismo inibitório relacionado a redução do estado de alerta e controle funcional associado aos efeitos da Covid Longa. Uma revisão sistemática com meta-análise avaliou o poder espectral do EEG como um potencial biomarcador de fadiga mental relacionada a tarefas em participantes saudáveis (TRAN et al., 2020). Nos 21 estudos incluídos, os autores encontraram uma correlação robusta entre a fadiga mental e aumentos na atividade das bandas teta e alfa, com tamanhos de efeito grandes e moderados a grandes, respectivamente. Este efeito foi mais pronunciado nas regiões cerebrais frontal, central e posterior (TRAN et al., 2020). O presente estudo complementa e amplia essas descobertas, sugerindo uma mudança na atividade cerebral em pacientes que sofrem de fadiga associada a efeitos prolongados da covid. Em particular, é interessante notar que as correlações positivas encontradas foram também observadas no constructo de fadiga física, o que pode ser um ponto importante a ser considerado no manejo e acompanhamento clínico desses pacientes.

Dentre as vantagens da utilização do EEG, destaca-se a possibilidade de aplicar diversos tipos de paradigmas experimentais e análises. Nesta perspectiva, a análise dos microestados aparece como uma alternativa de baixo custo de adequada especificidade permitindo investigar o funcionamento e reorganização de grandes redes neurais em diversas condições clínicas (BALDINI et al., 2022; KINDLER et al., 2011; WANG et al., 2022). O ineditismo do presente estudo exploratório se repousa, igualmente, na utilização dos microestados na caracterização da Covid Longa. Nesta perspectiva, foram observados valores significativamente menores da duração, ocorrência e cobertura dos microestados C e D nos indivíduos com Covid Longa quando comparados aos controles saudáveis. Esses achados podem ser justificados, parcialmente, pelo caráter inflamatório da doença. Estudos recentes têm evidenciado a persistência de marcadores inflamatórios após a fase aguda da COVID-19 (MALTEZOU; PAVLI; TSAKRIS, 2021; VAN KESSEL et al., 2022). Acredita-se que esses possam mediar a neuroinflamação do SNC com a indução de reação glial inflamatória, contribuindo com o desenvolvimento de sintomas como fadiga, cefaléia e prejuízos cognitivos (PERUMAL et al., 2023). Investigações prévias demonstram uma relação robusta entre os processos inflamatórios, modificações neurofisiológicas, alterações na conectividade funcional (WALKER et al., 2020). Evidências atuais elucidam que a presença de fatores pró-inflamatórios como a interleucina 2,

TNF-alfa e a elevação da concentração de proteína C reativa têm sido associadas à anormalidades dos microestados A, B e D em outras populações clínicas (ZHAO et al., 2022). Utilizando dados de ressonância magnética funcional e do EEG, Bréchet et al. (2019) observaram significativa associação entre níveis inflamatórios elevados e redução da conectividade de redes relacionadas ao microestado C (Default Mode Network – DMN) (BRÉCHET et al., 2019). Essas evidências sugerem que os fatores pró-inflamatórios, que são comumente presentes na Covid Longa, podem estar associados a anormalidades na DMN. Adicionalmente, a significativa redução da duração, ocorrência e cobertura do microestado D pode estar explicada pela presença de distúrbios cognitivos, como ansiedade e depressão associados à Covid Longa, presentes nos pacientes arrolados em nosso estudo, uma vez que este microestado está associado a regiões dos córtices frontal, cíngulo anterior e parietal, o giro angular e a insula que compõem a rede Dorsal Attention Network (DAN) (GOGOLLA, 2017; MICHEL; KOENIG, 2018; ROLLS, 2019). Nos achados corroboram com as observações de uma revisão sistemática com metanálise que objetivou avaliar as evidências sobre dinâmica temporal de pacientes com distúrbios do humor e ansiedade. Esta, evidenciou que a alteração na dinâmica do microestado D, especialmente a redução da sua ocorrência, está associada à severidade de sintomas depressivos (CHIVU et al., 2024). Diante deste cenário e considerando que modificações nas estruturas implícitas nos microestados C e D podem repercutir com prejuízos comportamentais (KANG et al., 2021; LEECH; SHARP, 2014; MORI; TAKEUCHI; IZUMI, 2018), aspectos mnésicos, atencionais e emocionais devem ser considerados na elaboração do plano de tratamento assegurando desfechos clínicos e funcionais favoráveis. Um estudo coorte com pacientes com déficits cognitivos demonstra que aqueles que apresentavam maior severidade da deficiência recebiam menor dose de terapia, além de serem menos encaminhados à terapia ocupacional e consequentemente apresentam piores desfechos reabilitacionais (DUTZI et al., 2021).

Está bem estabelecido na literatura que a presença dos quatro microestados canônicos explica de 65-84% da variância global do registro (KHANNA et al., 2015; MICHEL; KOENIG, 2018). Ela reflete a qualidade dos resultados após o agrupamento e seu valor varia entre 0 e 1: quanto maior o valor, melhor a qualidade da análise. Os mapas correspondentes ao maior GEV são identificados como os microestados finais. (MURRAY; BRUNET; MICHEL, 2008). Alguns estudos têm demonstrado a necessidade em selecionar mais do que quatro microestados na tentativa de atingir níveis satisfatórios da variância global (BALDINI et al., 2022; ZANESCO et al., 2019). Em nossos achados, não observou-se diferenças significativas em

relação a variância global explicada e os valores encontrados para ambos os grupos foram inferiores ao que está estabelecido na literatura. Essa divergência pode ser explicada pela alta variabilidade entre os indivíduos que não pode ser atenuada devido ao tamanho da amostra. Zanesco et al. (2019) sugerem que a variabilidade inter e intra-individual (ex. idade, sexo, personalidade, estado emocional ou cognitivo) são consideradas como ruído individual e podem impactar consideravelmente a análise de microestados (ZANESCO et al., 2019).

Embora tenhamos projetado um estudo com importante controle metodológico, algumas limitações devem ser apontadas. Primeiro, a realização da avaliação eletroencefalográfica ter sido realizada em momento único, o que pode ter impossibilitado evidenciar possíveis alterações neurofisiológicas associadas a Covid Longa. Adicionalmente, o tamanho da amostra pode ter limitado o poder estatístico. Além disso, destacamos a necessidade de estudos futuros com a inclusão de medidas comportamentais, neurofisiológicas e de neuroimagem que evidenciem a contribuição de fatores como a variabilidade interindividual que possa estar associado ao processamento cortical e a persistência de fatores pró-inflamatórios oriundos da COVID-19.

Diante do exposto, o presente estudo exploratório apresenta importantes contribuições ao conhecimento dos aspectos neurofisiológicos de pacientes com Covid Longa por explicitar as modificações eletrofisiológicas presentes nesta população e o potencial do EEG e suas análises como biomarcadores de classificação. A Covid Longa é uma condição complexa que tem desafiado as equipes de assistência e gestão em saúde devida a elevada variabilidade da sua apresentação clínica. Este cenário demonstra a necessidade da individualização do tratamento na tentativa de garantir desfechos clínicos, funcionais mais satisfatórios e melhor qualidade de vida à esses pacientes. Acreditamos que, embora de natureza preliminar, nossas observações possam embasar explorações futuras e auxiliar na elaboração da abordagem centrada no paciente. Investigações futuras, devem ser realizadas, com uma amostra mais representativa, para confirmar ou refutar nossos achados, confrontando com os aspectos cognitivos e emocionais através de escalas validadas e padronizadas.

9 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que os pacientes com Covid Longa se caracterizam por alterações eletroencefalográficas nas bandas de frequência teta, alfa e beta, sugerindo que esses pacientes apresentam uma hipoativação das regiões regiões frontal, central e temporo-parietal na condição olhos abertos e uma hiperativação das regiões frontal, central, temporal e temporo-

parietal na condição olhos fechados. As oscilações alfa das regiões frontal e central parecem estar associadas com níveis de fadiga mais elevados. Com o presente estudo, demonstramos, ainda o potencial uso do EEG como biomarcador de classificação na identificação das alterações das flutuações topográficas, notavelmente de mapas dos microestados associados à redes de controle cognitivo e emocional. Esses achados contribuem no aprofundamento do conhecimento sobre a fisiopatologia da fadiga presente na Covid Longa e pode auxiliar na tomada de decisão clínica através da individualização da abordagem terapêutica.

DECLARAÇÃO DE INTERESSE

Os autores declaram não ter interesses conflitantes.

FINANCIAMENTO

Esta pesquisa não recebeu nenhuma bolsa específica de agências de fomento nos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

REFERÊNCIAS

- AERTSEN, A. M. et al. Dynamics of neuronal firing correlation: modulation of “effective connectivity”. **Journal of Neurophysiology**, v. 61, n. 5, p. 900–917, 1 maio 1989.
- AJČEVIĆ, M. et al. Hyper-acute EEG alterations predict functional and morphological outcomes in thrombolysis-treated ischemic stroke: a wireless EEG study. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v. 59, n. 1, p. 121–129, jan. 2021.
- ALHUMAYN, A. et al. A systematic review of the systematic review of post COVID-19 syndrome. **The Journal of Medicine, Law & Public Health**, v. 2, n. 1, p. 64–69, 1 jan. 2022.
- ANDRADE, S. et al. HD-tDCS in acute and long-term COVID-19. **Brain Stimulation**, v. 16, n. 1, p. 191–192, jan. 2023.
- ANTONY, A. R.; HANEEF, Z. Systematic review of EEG findings in 617 patients diagnosed with COVID-19. **Seizure**, v. 83, p. 234–241, dez. 2020.
- BABILONI, C. et al. Cortical sources of resting state electroencephalographic rhythms differ in relapsing–remitting and secondary progressive multiple sclerosis. **Clinical Neurophysiology**, v. 127, n. 1, p. 581–590, jan. 2016.
- BALDINI, S. et al. Microstates in multiple sclerosis: an electrophysiological signature of altered large-scale networks functioning? **Brain Communications**, v. 5, n. 1, p. feac255, 29 dez. 2022.
- BAPTISTA, A. F. et al. Applications of Non-invasive Neuromodulation for the Management of Disorders Related to COVID-19. **Frontiers in Neurology**, v. 11, p. 573718, 25 nov. 2020.
- BENEDETTI, F. et al. Brain correlates of depression, post-traumatic distress, and inflammatory biomarkers in COVID-19 survivors: A multimodal magnetic resonance imaging study. **Brain, Behavior, & Immunity - Health**, v. 18, p. 100387, dez. 2021.
- BISPO, D. D. DE C. et al. Brain microstructural changes and fatigue after COVID-19. **Frontiers in Neurology**, v. 13, p. 1029302, 10 nov. 2022.
- BORICH, M. R. et al. Applications of Electroencephalography to Characterize Brain Activity: Perspectives in Stroke. **Journal of Neurologic Physical Therapy**, v. 39, n. 1, p. 43–51, jan. 2015.
- BRÉCHET, L. et al. Capturing the spatiotemporal dynamics of self-generated, task-initiated thoughts with EEG and fMRI. **NeuroImage**, v. 194, p. 82–92, jul. 2019.
- BRITZ, J.; VAN DE VILLE, D.; MICHEL, C. M. BOLD correlates of EEG topography reveal rapid resting-state network dynamics. **NeuroImage**, v. 52, n. 4, p. 1162–1170, out. 2010.
- BUYUKTURKOGLU, K. et al. Simple index of functional connectivity at rest in Multiple Sclerosis fatigue. **Clinical Neurophysiology**, v. 128, n. 5, p. 807–813, maio 2017.
- CANHAM, L. J. W. et al. Electroencephalographic (EEG) features of encephalopathy in the setting of Covid-19: A case series. **Clinical Neurophysiology Practice**, v. 5, p. 199–205, 2020.
- CARES-MARAMBIO, K. et al. Prevalence of potential respiratory symptoms in survivors of hospital admission after coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. **Chronic Respiratory Disease**, v. 18, p. 147997312110022, 1 jan. 2021.

CECCHETTI, G. et al. Cognitive, EEG, and MRI features of COVID-19 survivors: a 10-month study. **Journal of Neurology**, v. 269, n. 7, p. 3400–3412, jul. 2022.

CHASCO, E. E. et al. Brain Fog and Fatigue following COVID-19 Infection: An Exploratory Study of Patient Experiences of Long COVID. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 23, p. 15499, 23 nov. 2022.

CHEN, L.; MING, D. Resting-state electroencephalogram microstate to evaluate post-stroke rehabilitation and associate with clinical scales. **Frontiers in Neuroscience**, [s.d.].

CHIVU, A. et al. EEG Microstates in Mood and Anxiety Disorders: A Meta-analysis. **Brain Topography**, 24 ago. 2023.

CHOUGAR, L. et al. Retrospective Observational Study of Brain MRI Findings in Patients with Acute SARS-CoV-2 Infection and Neurologic Manifestations. **Radiology**, v. 297, n. 3, p. E313–E323, dez. 2020.

COLON, E.; HOMMES, O. R.; DE WEERD, J. P. C. Relation between EEG and disability scores in multiple sclerosis. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, v. 83, n. 3, p. 163–IN3, jan. 1981.

CORTINOVIS, M.; PERICO, N.; REMUZZI, G. Long-term follow-up of recovered patients with COVID-19. **The Lancet**, v. 397, n. 10270, p. 173–175, jan. 2021.

COSTA, T. D. D. C. et al. Are the EEG microstates correlated with motor and non-motor parameters in patients with Parkinson's disease? **Neurophysiologic Clinique**, v. 53, n. 1, p. 102839, fev. 2023.

DAUWELS, J. et al. A comparative study of synchrony measures for the early diagnosis of Alzheimer's disease based on EEG. **NeuroImage**, v. 49, n. 1, p. 668–693, jan. 2010.

DESFORGES, M. et al. Human Coronaviruses and Other Respiratory Viruses: Underestimated Opportunistic Pathogens of the Central Nervous System? **Viruses**, v. 12, n. 1, p. 14, 20 dez. 2019.

DOMINGO, F. R. et al. **Prevalence of long-term effects in individuals diagnosed with COVID-19: an updated living systematic review**. [s.l.] Epidemiology, 6 jun. 2021. Disponível em: <<http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.06.03.21258317>>. Acesso em: 24 out. 2022.

DOUAUD, G. et al. SARS-CoV-2 is associated with changes in brain structure in UK Biobank. p. 55, [s.d.].

DUTZI, I. et al. Influence of Cognitive Impairment on Rehabilitation Received and Its Mediating Effect on Functional Recovery. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 84, n. 2, p. 745–756, 9 nov. 2021.

ESPOSITO, R.; BORTOLETTO, M.; MINIUSSI, C. Integrating TMS, EEG, and MRI as an Approach for Studying Brain Connectivity. **The Neuroscientist**, v. 26, n. 5–6, p. 471–486, out. 2020.

FEYISSA, A. M.; TATUM, W. O. Adult EEG. Em: **Handbook of Clinical Neurology**. [s.l.] Elsevier, 2019. v. 160p. 103–124.

FINNERTY, E. K. UNDERSTANDING THE EFFECTS OF NONINVASIVE BRAIN STIMULATION ON DUAL-TASK EEG PATTERNS IN OLDER ADULTS. p. 19, [s.d.].

FISK, J. D. et al. Measuring the Functional Impact of Fatigue: Initial Validation of the Fatigue Impact Scale. **Clinical Infectious Diseases**, v. 18, n. Supplement_1, p. S79–S83, 1 jan. 1994.

FONTANA, I. C. et al. PET Imaging as a Tool for Assessing COVID-19 Brain Changes. **Trends in Neurosciences**, v. 43, n. 12, p. 935–938, dez. 2020.

- FOONG, R. et al. Assessment of the Efficacy of EEG-Based MI-BCI With Visual Feedback and EEG Correlates of Mental Fatigue for Upper-Limb Stroke Rehabilitation. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 67, n. 3, p. 786–795, mar. 2020.
- FREEMAN, W. J.; QUIROGA, R. Q. **Imaging Brain Function With EEG**. New York, NY: Springer New York, 2013.
- FRISTON, K. J. et al. Functional Connectivity: The Principal-Component Analysis of Large (PET) Data Sets. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 13, n. 1, p. 5–14, jan. 1993.
- FUGAZZARO, S. et al. Rehabilitation Interventions for Post-Acute COVID-19 Syndrome: A Systematic Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 9, p. 5185, 24 abr. 2022.
- FURLANIS, G. et al. Cognitive deficit in post-acute COVID-19: an opportunity for EEG evaluation? **Neurological Sciences**, v. 44, n. 5, p. 1491–1498, maio 2023.
- GÉLISSE, P. et al. How to carry out and interpret EEG recordings in COVID-19 patients in ICU? **Clinical Neurophysiology**, v. 131, n. 8, p. 2023–2031, ago. 2020.
- GOGOLLA, N. The insular cortex. **Current Biology**, v. 27, n. 12, p. R580–R586, jun. 2017.
- GOMES, M. **Bases fisiológicas do eletroencefalograma**. Rev Bras Neurol, , 2015.
- GRACH, S. L. et al. Post-COVID-19 syndrome: persistent neuroimaging changes and symptoms 9 months after initial infection. **BMJ Case Reports**, v. 15, n. 4, p. e248448, abr. 2022.
- GREICIUS, M. D. et al. Functional connectivity in the resting brain: A network analysis of the default mode hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 1, p. 253–258, 7 jan. 2003.
- GREICIUS, M. D. et al. Resting-State Functional Connectivity Reflects Structural Connectivity in the Default Mode Network. **Cerebral Cortex**, v. 19, n. 1, p. 72–78, 1 jan. 2009.
- GSCHWIND, M. et al. Fluctuations of spontaneous EEG topographies predict disease state in relapsing-remitting multiple sclerosis. **NeuroImage: Clinical**, v. 12, p. 466–477, fev. 2016.
- HAMPSHIRE, A. et al. Cognitive deficits in people who have recovered from COVID-19. **EClinicalMedicine**, p. 101044, jul. 2021.
- HEITMANN, H. et al. Resting-state EEG and MEG biomarkers of pathological fatigue – A transdiagnostic systematic review. **NeuroImage: Clinical**, v. 39, p. 103500, 2023.
- HERRERA, J. E. et al. MULTIDISCIPLINARY collaborative consensus guidance statement on the assessment and treatment of fatigue in POSTACUTE sequelae of SARS-CoV -2 infection (PASC) patients. **PM&R**, v. 13, n. 9, p. 1027–1043, set. 2021.
- HUANG, Y. et al. Brain Imaging Changes in Patients Recovered From COVID-19: A Narrative Review. **Frontiers in Neuroscience**, v. 16, p. 855868, 22 abr. 2022.
- HUETTEL, S. A.; SONG, A. W.; MCCARTHY, G. **Functional magnetic resonance imaging**. Sunderland, Mass: Sinauer Associates, 2004.
- IPPOLITO, G. et al. The Role of Alpha Oscillations among the Main Neuropsychiatric Disorders in the Adult and Developing Human Brain: Evidence from the Last 10 Years of Research. **Biomedicines**, v. 10, n. 12, p. 3189, 8 dez. 2022.

- JAYWANT, A. et al. Frequency and profile of objective cognitive deficits in hospitalized patients recovering from COVID-19. **Neuropsychopharmacology**, 15 fev. 2021.
- KANG, D. W. et al. Distinctive Association of the Functional Connectivity of the Posterior Cingulate Cortex on Memory Performances in Early and Late Amnesic Mild Cognitive Impairment Patients. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 13, p. 696735, 1 jul. 2021.
- KHANNA, A. et al. Microstates in resting-state EEG: Current status and future directions. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 49, p. 105–113, fev. 2015.
- KINDLER, J. et al. Resting-state EEG in schizophrenia: Auditory verbal hallucinations are related to shortening of specific microstates. **Clinical Neurophysiology**, v. 122, n. 6, p. 1179–1182, jun. 2011.
- KOENIG, T. et al. Millisecond by millisecond, year by year: normative EEG microstates and developmental stages. **NeuroImage**, v. 16, n. 1, p. 41–48, maio 2002.
- KOPAŃSKA, M. et al. Changes in EEG Recordings in COVID-19 Patients as a Basis for More Accurate QEEG Diagnostics and EEG Neurofeedback Therapy: A Systematic Review. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 6, p. 1300, 22 mar. 2021.
- KREMER, S. et al. Brain MRI Findings in Severe COVID-19: A Retrospective Observational Study. **Radiology**, v. 297, n. 2, p. E242–E251, nov. 2020.
- LAKE, M. A. What we know so far: COVID-19 current clinical knowledge and research. **Clinical Medicine**, v. 20, n. 2, p. 124–127, mar. 2020.
- LAMBRECQ, V. et al. Association of Clinical, Biological, and Brain Magnetic Resonance Imaging Findings With Electroencephalographic Findings for Patients With COVID-19. **JAMA Network Open**, v. 4, n. 3, p. e211489, 15 mar. 2021.
- LEECH, R.; SHARP, D. J. The role of the posterior cingulate cortex in cognition and disease. **Brain**, v. 137, n. 1, p. 12–32, jan. 2014.
- LEHMANN, D.; OZAKI, H.; PAL, I. EEG alpha map series: brain micro-states by space-oriented adaptive segmentation. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 67, n. 3, p. 271–288, set. 1987.
- LEHMANN, D.; PASCUAL-MARQUI, R.; MICHEL, C. EEG microstates. **Scholarpedia**, v. 4, n. 3, p. 7632, 2009.
- LEI, L. et al. EEG microstates as markers of major depressive disorder and predictors of response to SSRIs therapy. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 116, p. 110514, jun. 2022.
- LEOCANI, L. et al. Fatigue in Multiple Sclerosis Is Associated with Abnormal Cortical Activation to Voluntary Movement—EEG Evidence. **NeuroImage**, v. 13, n. 6, p. 1186–1192, jun. 2001.
- LIEPERT, J. et al. Motor cortex excitability and fatigue in multiple sclerosis: a transcranial magnetic stimulation study. **Multiple Sclerosis**, p. 6, [s.d.].
- LINNHOFF, S. et al. The therapeutic potential of non-invasive brain stimulation for the treatment of Long-COVID-related cognitive fatigue. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 935614, 9 jan. 2023.
- LOGOTHETIS, N. K. What we can do and what we cannot do with fMRI. **Nature**, v. 453, n. 7197, p. 869–878, jun. 2008.

LOPEZ-LEON, S. et al. **More Than 50 Long-Term Effects of COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis**. [s.l.] In Review, 1 mar. 2021. Disponível em: <<https://www.researchsquare.com/article/rs-266574/v1>>. Acesso em: 23 mar. 2022.

MACDONALD, D. B. Electroencephalography: Basic Principles and Applications. Em: **International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 353–363.

MAHAJAN, A.; MASON, G. F. A sobering addition to the literature on COVID-19 and the brain. **Journal of Clinical Investigation**, v. 131, n. 8, p. e148376, 15 abr. 2021.

MAIER, W. et al. The Hamilton Anxiety Scale: reliability, validity and sensitivity to change in anxiety and depressive disorders. **Journal of Affective Disorders**, v. 14, n. 1, p. 61–68, jan. 1988.

MALIK, P. et al. Post-acute COVID-19 syndrome (PCS) and health-related quality of life (HRQoL)—A systematic review and meta-analysis. **Journal of Medical Virology**, v. 94, n. 1, p. 253–262, jan. 2022.

MALTEZOU, H. C.; PAVLI, A.; TSAKRIS, A. Post-COVID Syndrome: An Insight on Its Pathogenesis. **Vaccines**, v. 9, n. 5, p. 497, 12 maio 2021a.

MALTEZOU, H. C.; PAVLI, A.; TSAKRIS, A. Post-COVID Syndrome: An Insight on Its Pathogenesis. **Vaccines**, v. 9, n. 5, p. 497, 12 maio 2021b.

MANTINI, D. et al. Electrophysiological signatures of resting state networks in the human brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 32, p. 13170–13175, 7 ago. 2007.

MAYO Covid Longa INIC COLLEGE OF MEDICINE, ROCHESTER, MINNESOTA et al. **Electroencephalography (EEG): An Introductory Text and Atlas of Normal and Abnormal Findings in Adults, Children, and Infants**. [s.l.] American Epilepsy Society, 2016.

MCINTOSH, K. COVID-19: Epidemiology, virology, and prevention. 28 ago. 2023.

MICHEL, C. M.; KOENIG, T. EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal networks: A review. **NeuroImage**, v. 180, p. 577–593, out. 2018.

MICHIE, S.; WEST, R.; HARVEY, N. The concept of “fatigue” in tackling covid-19. **BMJ**, p. m4171, 2 nov. 2020.

MILZ, P. et al. The functional significance of EEG microstates—Associations with modalities of thinking. **NeuroImage**, v. 125, p. 643–656, jan. 2016.

MORI, T.; TAKEUCHI, N.; IZUMI, S.-I. Prefrontal cortex activation during a dual task in patients with stroke. **Gait & Posture**, v. 59, p. 193–198, jan. 2018.

MURRAY, M. M.; BRUNET, D.; MICHEL, C. M. Topographic ERP Analyses: A Step-by-Step Tutorial Review. **Brain Topography**, v. 20, n. 4, p. 249–264, jun. 2008.

NIGUET, J.-P. et al. Neurophysiological findings and their prognostic value in critical COVID-19 patients: An observational study. **Clinical Neurophysiology**, v. 132, n. 5, p. 1009–1017, maio 2021.

ORTELLI, P. et al. Neuropsychological and neurophysiological correlates of fatigue in post-acute patients with neurological manifestations of COVID-19: Insights into a challenging symptom. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 420, p. 117271, jan. 2021.

- ORTELLI, P. et al. Altered motor cortex physiology and dysexecutive syndrome in patients with fatigue and cognitive difficulties after mild COVID-19. **European Journal of Neurology**, v. 29, n. 6, p. 1652–1662, jun. 2022.
- PAVAN, K. et al. Esclerose múltipla: adaptação transcultural e validação da escala modificada de impacto de fadiga. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 65, n. 3a, p. 669–673, set. 2007.
- PERRIN, R. et al. Into the looking glass: Post-viral syndrome post COVID-19. **Medical Hypotheses**, v. 144, p. 110055, nov. 2020.
- PERUMAL, R. et al. Long COVID: a review and proposed visualization of the complexity of long COVID. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1117464, 20 abr. 2023.
- PETRESCU, A.-M.; TAUSSIG, D.; BOUILLERET, V. Electroencephalogram (EEG) in COVID-19: A systematic retrospective study. **Neurophysiologie Clinique**, v. 50, n. 3, p. 155–165, jul. 2020.
- PHILLIPS, R. O. A review of definitions of fatigue – And a step towards a whole definition. **Transportation Research Part F: Traffic Psychology and Behaviour**, v. 29, p. 48–56, fev. 2015.
- ROBERTO, K. T. et al. Electroencephalographic findings in COVID-19 patients: A systematic review. **Seizure**, v. 82, p. 17–22, nov. 2020.
- ROLLS, E. T. The cingulate cortex and limbic systems for emotion, action, and memory. **Brain Structure and Function**, 2019.
- RUBEGA, M. et al. High-density EEG sleep correlates of cognitive and affective impairment at 12-month follow-up after COVID-19. **Clinical Neurophysiology**, v. 140, p. 126–135, ago. 2022.
- RUDROFF, T. et al. Post-COVID-19 Fatigue: Potential Contributing Factors. **Brain Sciences**, v. 10, n. 12, p. 1012, 19 dez. 2020.
- RUDROFF, T.; WORKMAN, C. D.; PONTO, L. L. B. 18F-FDG-PET Imaging for Post-COVID-19 Brain and Skeletal Muscle Alterations. **Viruses**, v. 13, n. 11, p. 2283, 15 nov. 2021.
- SANTANA, K. et al. Non-invasive brain stimulation for fatigue in post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC). **Brain Stimulation**, v. 16, n. 1, p. 100–107, jan. 2023.
- SCHOU, T. M. et al. Psychiatric and neuropsychiatric sequelae of COVID-19 – A systematic review. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 97, p. 328–348, out. 2021.
- SCHWARZ, K.; SCHMITZ, F. Synapse Dysfunctions in Multiple Sclerosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 2, p. 1639, 13 jan. 2023.
- SHAHID, A. et al. Beck Depression Inventory. Em: SHAHID, A. et al. (Eds.). **STOP, THAT and One Hundred Other Sleep Scales**. New York, NY: Springer New York, 2011. p. 63–64.
- SILVA, L. S. et al. **Functional and microstructural brain abnormalities, fatigue, and cognitive dysfunction after mild COVID-19**. [s.l.] Neurology, 24 mar. 2021. Disponível em: <<http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.03.20.21253414>>. Acesso em: 11 jul. 2022.
- SILVA-PASSADOURO, B. et al. **A systematic review of quantitative EEG findings in Long COVID, Fibromyalgia and Chronic Fatigue Syndrome**. [s.l.] Neurology, 6 nov. 2023. Disponível em: <<http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2023.11.06.23298171>>. Acesso em: 15 jan. 2024.
- STOLL, F. M. et al. The Effects of Cognitive Control and Time on Frontal Beta Oscillations. **Cerebral Cortex**, v. 26, n. 4, p. 1715–1732, abr. 2016.

- SUBRAMANIAN, A. et al. Symptoms and risk factors for long COVID in non-hospitalized adults. **Nature Medicine**, 25 jul. 2022.
- TANAKA, M.; ISHII, A.; WATANABE, Y. Neural mechanisms underlying chronic fatigue. **Reviews in the Neurosciences**, v. 24, n. 6, 1 jan. 2013.
- THE WHOQOL GROUP. Development of the World Health Organization WHOQOL-BREF Quality of Life Assessment. **Psychological Medicine**, v. 28, n. 3, p. 551–558, maio 1998.
- TOWNSEND, L. et al. Persistent Poor Health after COVID-19 Is Not Associated with Respiratory Complications or Initial Disease Severity. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 18, n. 6, p. 997–1003, jun. 2021.
- TRAN, Y. et al. The influence of mental fatigue on brain activity: Evidence from a systematic review with meta-analyses. **Psychophysiology**, v. 57, n. 5, p. e13554, maio 2020.
- VAN DE VILLE, D.; BRITZ, J.; MICHEL, C. M. EEG microstate sequences in healthy humans at rest reveal scale-free dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 42, p. 18179–18184, 19 out. 2010.
- VAN KESSEL, S. A. M. et al. Post-acute and long-COVID-19 symptoms in patients with mild diseases: a systematic review. **Family Practice**, v. 39, n. 1, p. 159–167, 19 jan. 2022.
- VENKATESAN, P. NICE guideline on long COVID. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 9, n. 2, p. 129, fev. 2021.
- VON LEUPOLDT, A. et al. Dyspnea and pain share emotion-related brain network. **NeuroImage**, v. 48, n. 1, p. 200–206, out. 2009.
- VON LEUPOLDT, A. et al. The Impact of Anxiety and Depression on Outcomes of Pulmonary Rehabilitation in Patients With COPD. **Chest**, v. 140, n. 3, p. 730–736, set. 2011.
- WALKER, K. A. et al. Association of peripheral inflammatory markers with connectivity in large-scale functional brain networks of non-demented older adults. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 87, p. 388–396, jul. 2020.
- WALSH, K. A. et al. SARS-CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection. **Journal of Infection**, v. 81, n. 3, p. 357–371, set. 2020.
- WANG, Z. et al. Resting-state electroencephalogram microstate to evaluate post-stroke rehabilitation and associate with clinical scales. **Frontiers in Neuroscience**, v. 16, p. 1032696, 18 nov. 2022.
- WHO. **Post COVID-19 condition (Long COVID)**. , 24 mar. 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/post-covid-19-condition>>
- WONG, T. L.; WEITZER, D. J. Long COVID and Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS)—A Systemic Review and Comparison of Clinical Presentation and Symptomatology. **Medicina**, v. 57, n. 5, p. 418, 26 abr. 2021.
- WOSTYN, P. COVID-19 and chronic fatigue syndrome: Is the worst yet to come? **Medical Hypotheses**, 2021.
- ZANESCO, A. P. et al. **Within and Between-person Correlates of the Temporal Dynamics of Resting EEG Microstates**. [s.l.] Neuroscience, 8 set. 2019. Disponível em: <<http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/758078>>. Acesso em: 21 set. 2023.

ZHAO, Y.-N. et al. The pro-inflammatory factors contribute to the EEG microstate abnormalities in patients with major depressive disorder. **Brain, Behavior, & Immunity - Health**, v. 26, p. 100523, dez. 2022.

ZINN, M. A. et al. Cortical hypoactivation during resting EEG suggests central nervous system pathology in patients with chronic fatigue syndrome. **Biological Psychology**, v. 136, p. 87–99, jul. 2018.

ZINN, M. L.; ZINN, M. A.; JASON, L. A. Intrinsic Functional Hypoconnectivity in Core Neurocognitive Networks Suggests Central Nervous System Pathology in Patients with Myalgic Encephalomyelitis: A Pilot Study. **Applied Psychophysiology and Biofeedback**, v. 41, n. 3, p. 283–300, set. 2016.

APENDICES

Apendice 1. Poder Espectral

	OACL (n = 15)	OAGC (n = 15)			OFCL (n = 15)	OFGC (n = 15)		
	Media [DP]	Media [DP] Mediana [IC]	p-valor	p-valor corrigido	Media [DP] Mediana [IC]	Media [DP] Mediana [IC]	p-valor	p-valor corrigido
<i>Banda de frequência</i>								
<i>/Região</i>								
Teta Temporal	0,60	0,43	0,007*		0,42	0,38		
	[0,17]	[0,14]	^b	0,007* ^b	[0,29 – 0,45]	[0,35 – 0,51]	0,76 ^a	0,21 ^a
Alfa Frontal	0,57	0,50	0,30 ^b	0,30 ^b	0,22	0,64	0,001^{a*}	0,0000 ^{a*}
	[0,17]	[0,20]			[0,16]	[0,23]		
Alfa Central	0,74	0,53	0,014^{b*}	0,014^{b*}	0,19	0,69	0,0001^{a*}	0,0001 ^{a*}
	[0,64]	[0,24]			[0,14]	[0,23]		
Beta Frontal	0,73	0,47	0,000	0,003 ^{b*}	0,32	0,48	0,027^{b*}	0,05 ^{b*}
	[0,16]	[0,18]	^{b*}		[0,19 – 0,45]	[0,36 – 0,64]		
Beta	0,86	0,55	0,000	0,000 ^{b*}	0,31	0,49	0,003 ^{b*}	0,04 ^{b*}
Temporoparietal	[0,13]	[0,18]	^{b*}		[0,16 – 0,38]	[0,41 – 0,69]		

^a Teste de Mann-Whitney

^b Teste t

* Estatisticamente significativa

n= número de participantes; OACL = grupo CL condição olhos abertos; OAGC = grupo controle condição olhos abertos; OFCL = Grupo CL condição olhos fechados; OFGC = grupo controle condição olhos fechados; IC = intervalo de confiança; DP = desvio padrão

p valor corrigido = análise submetida a correção com método de Bonferroni

.

Apêndice 2. Características dos microestados para cada protótipo.

		A				B				C				D			
		CL (n=15)	GC (n=15)	p- valor	p-valor corrigido	CL (n=15)	GC (n=15)	p- valor	p-valor corrigido	CL (n=15)	GC (n=15)	p-valor	p-valor corrigido	CL (n=15)	GC (n=15)	p- valor	p-valor corrigido
Duração (ms)																	
	OA	55,80 [7,56]	52,97 [7,37]	0,,31	0,44	48,90 [6,38]	50,41 [7,41]	0,55	0,54	45,80 [6,12]	49,22 [7,72]	0,19	0,19	46,50 [6,88]	46,80 [9,01]	0,92	0,92
	OF	50,59 [47,43 – 54,83]	46,31 [44,76 – 60,09]	0,41	0,84	53,09 [48,84 – 56,21]	45,22 [42,55 – 53,53]	0,07	0,15	36,53 [32,79 – 40,34]	44,15 [42,44 – 50,48]	0,000*	0,000*	37,55 [34,60 – 40,98]	43,94 [40,85 – 48-752]	0,001*	0,005*
Ocorrência (/s)																	
	OA	5,21 [0,71]	5,23 [0,91]	0,94	0,76	5,54 [0,98]	5,42 [0,99]	0,74	0,74	5,06 [0,65]	5,02 [0,55]	0,86	0,64	5,19 [0,78]	5,26 [0,60]	0,78	0,79
	OF	6,36 [1,45]	5,34 [1,15]	0,33	0,04*	7,70 [1,39]	4,87 [1,23]	0,000*	0,000*	3,71 [1,08]	5,37 [1,18]	0,0004*	0,000*	4,47 [1,25]	6,21 [1,17]	0,0005	0,000*
Cobertura (%)																	
	OA	28,14 [2,06]	26,62 [2,02]	0,052	0,052	26,25 [3,93]	26,12 [2,12]	0,91	0,78	22,52 [2,96]	23,84 [2,19]	0,18	0,17	23,10 [2,91]	23,42 [2,04]	0,73	0,73
	OF	31,49 [5,68]	26,14 [4,41]	0,32	0,007*	38,69 [3,90]	22,18 [4,49]	0,000*	0,000*	13,18 [3,44]	24,42 [4,67]	0,000*	0,000*	16,64 [4,56]	27,27 [4,09]	0,01*	0,000*

* Estatisticamente significativa

n= número de participantes; CL = grupo CL; GC = grupo controle; OA = condição olhos abertos; OF = condição olhos fechados

p valor corrigido = análise submetida a correção com método de Bonferroni

Apêndice 3. Correlações entre os parâmetros dos microestados canônicos na condição olhos fechados.

	Duração MSA	Duração MSB	Duração MSC	Duração MSD	Ocorrência MSA	Ocorrência MSB	Ocorrência MSC	Ocorrência MSD	Cobertura MSA	Cobertura MSB	Cobertura MSC	Cobertura MSD
Duração MSA	1,00	0,84** [0,00]	0,86** [0,00]	0,74** [0,00]	-0,53* [0,04]	-0,82** [0,00]	-0,36 [0,19]	-0,53* [0,04]	0,16 [0,55]	-0,40 [0,14]	0,31 [0,26]	-0,09 [0,72]
Duração MSB	0,84** [0,00]	1	0,75** [0,00]	0,824** [0,00]	-0,62* [0,14]	-0,81** [0,00]	-0,32 [0,25]	-0,27 [0,32]	-0,11 [0,69]	-0,19 [0,49]	0,20 [0,47]	0,15 [0,58]
Duração MSC	0,86** [0,00]	0,75** [0,00]	1	0,82** [0,00]	-0,65** [0,00]	-0,69** [0,00]	-0,54* [0,03]	-0,32 [0,23]	-0,06 [0,82]	-0,30 [0,28]	0,24 [0,38]	0,15 [0,59]
Duração MSD	0,74* [0,00]	0,82** [0,00]	0,82** [0,00]	1	-0,73** [0,00]	-0,61* [0,01]	-0,53* [0,43]	-0,20 [0,47]	-0,29 [0,29]	-0,08 [0,77]	0,10 [0,72]	0,36 [0,19]
Ocorrência MSA	-0,53* [0,40]	-0,62* [0,19]	-0,65** [0,00]	-0,73** [0,00]	1	0,28 [0,30]	0,58* [0,22]	-0,34 [0,22]	0,73** [0,00]	-0,28 [0,31]	0,08 [0,77]	-0,73** [0,00]
Ocorrência MSB	-0,82** [0,00]	-0,81** [0,00]	-0,69** [0,00]	-0,61* [0,15]	0,28 [0,30]	1	-0,04 [0,87]	0,61* [0,01]	-0,31 [0,25]	0,71** [0,00]	-0,64* [0,01]	0,26 [0,34]
Ocorrência MSC	-0,36 [0,19]	-0,32 [0,25]	-0,54* [0,03]	-0,53* [0,04]	0,58* [0,02]	-0,04 [0,88]	1	-0,23 [0,41]	0,36 [0,18]	-0,46 [0,08]	0,64** [0,01]	-0,55* [0,03]
Ocorrência MSD	-0,53* [0,04]	-0,27 [0,32]	-0,33 [0,23]	-0,20 [0,48]	-0,34 [0,22]	0,61* [0,02]	-0,23 [0,41]	1	-0,83** [0,00]	0,72** [0,00]	-0,56* [0,03]	0,84** [0,00]
Cobertura MSA	0,16 [0,55]	-0,11 [0,62]	-0,06 [0,82]	-0,29 [0,29]	0,73* [0,02]	-0,31 [0,25]	0,37 [0,18]	-0,83** [0,00]	1	-0,68** [0,00]	0,37 [0,17]	-0,94** [0,00]
Cobertura MSB	-0,40 [0,14]	-0,19 [0,49]	-0,29 [0,28]	-0,08 [0,77]	-0,28 [0,31]	0,71** [0,00]	-0,46 [0,08]	0,72** [0,00]	-0,68** [0,00]	1	-0,85** [0,00]	0,63* [0,01]
Cobertura MSC	0,31 [0,26]	0,20 [0,47]	0,24 [0,38]	0,10 [0,72]	0,08 [0,77]	-0,64* [0,01]	0,64** [0,01]	-0,56* [0,03]	0,37 [0,17]	-0,85** [0,00]	1	-0,49 [0,06]
Cobertura MSD	-0,09 [0,72]	0,15 [0,58]	0,15 [0,59]	0,36 [0,19]	-0,73** [0,00]	0,26 [0,35]	-0,55* [0,03]	0,84** [0,00]	-0,94** [0,00]	0,63* [0,01]	-0,49 [0,06]	1

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$

MSA = microestado A; MSB= microestado B, MSC= microestado C; MSD = microestado D

Apêndice 4. Correlações entre os parâmetros dos microestados canônicos na condição olhos abertos.

	Duração MSA r[p]	Duração MSB r[p]	Duração MSC r[p]	Duração MSD r[p]	Ocorrência MSA r[p]	Ocorrência MSB r[p]	Ocorrência MSC r[p]	Ocorrência MSD r[p]	Cobertura MSA r[p]	Cobertura MSB r[p]	Cobertura MSC r[p]	Cobertura MSD r[p]
Duração MSA	1,00	0,66** [0,007]	0,65** [0,008]	0,89** [0,000]	-0,81** [0,000]	-0,71** [0,000]	-0,67** [0,000]	-0,68** [0,001]	0,26 [0,35]	-0,33 [0,23]	-0,01 [0,98]	0,27 [0,33]
Duração MSB	0,66** [0,01]	1,00	0,87** [0,00]	0,58* [0,02]	-0,84** [0,00]	-0,57* [0,03]	-0,46 [0,08]	-0,87** [0,00]	-0,36 [0,18]	0,13 [0,64]	0,41 [0,13]	-0,34 [0,22]
Duração MSC	0,65** 0,01	0,87** [0,00]	1,00	0,59* [0,02]	-0,66** [0,01]	-0,79** [0,00]	-0,40 [0,14]	-0,65** [0,01]	-0,12 [0,66]	-0,27 [0,34]	0,56* [0,03]	-0,12 [0,67]
Duração MSD	0,89** [0,00]	0,58* [0,02]	0,59* [0,02]	1,00	-0,74** [0,00]	-0,79** [0,00]	-0,65** [0,01]	-0,64* [0,01]	0,29 [0,30]	-0,47 [0,08]	-0,02 [0,95]	0,44 [0,10]
Ocorrência MSA	-0,82** [0,00]	-0,84** [0,00]	-0,66** [0,01]	-0,74** [0,00]	1,00	0,45 [0,10]	0,43 [0,11]	0,95** [0,00]	0,33 [0,23]	-0,14 [0,61]	-0,26 [0,36]	0,22 [0,43]
Ocorrência MSB	-0,71** [0,00]	-0,57* [0,03]	-0,79** [0,00]	-0,79** [0,00]	0,45 [0,10]	1,00	0,53* [0,04]	0,39 [0,15]	-0,39 [0,15]	0,73** [0,00]	-0,25 [0,36]	-0,45 [0,09]
Ocorrência MSC	-0,67** [0,01]	-0,46 [0,08]	-0,40 [0,14]	-0,65** [0,01]	0,43 [0,11]	0,53* [0,04]	1,00	0,29 [0,30]	-0,45 [0,09]	0,20 [0,47]	0,53* [0,04]	-0,49 [0,06]
Ocorrência MSD	-0,68** [0,01]	-0,87** [0,00]	-0,65** [0,01]	-0,64* [0,01]	0,95** [0,00]	0,39 [0,15]	0,29 [0,30]	1,00	0,47 [0,08]	-0,24 [0,39]	-0,39 [0,15]	0,39 [0,15]
Cobertura MSA	0,26 [0,35]	-0,36 [0,18]	-0,12 [0,66]	0,29 [0,30]	0,33 [0,23]	-0,39 [0,15]	-0,45 [0,09]	0,47 [0,08]	1,00	-0,76** [0,00]	-0,569* [0,03]	0,90** [0,00]
Cobertura MSB	-0,33 [0,23]	0,13 [0,64]	-0,27 [0,34]	-0,47 [0,08]	-0,14 [0,61]	0,73** [0,00]	0,20 [0,47]	-0,24 [0,39]	-0,76** [0,00]	1,00	-0,03 [0,91]	-0,78** [0,00]

Cobertura MSC	-0,01 [0,98]	0,41 [0,13]	0,56* [0,03]	-0,02 [0,95]	-0,26 [0,36]	-0,25 [0,36]	0,53* [0,04]	-0,39 [0,15]	-0,57* [0,03]	-0,03 [0,91]	1,00	-0,57* [0,03]
Cobertura MSD	0,27 [0,33]	-0,34 [0,22]	-0,12 [0,67]	0,44 [0,10]	0,22 [0,43]	-0,45 [0,09]	-0,49 [0,06]	0,39 [0,15]	0,90** [0,00]	-0,78** [0,00]	-0,57* [0,03]	1,00

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$

MSA = microestado A; MSB= microestado B, MSC= microestado C; MSD = microestado D

ANEXOS

Anexo I

**GOVERNO DO ESTADO DA PARAÍBA
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
PROJETO CONTINUAR CUIDANDO ASSOCIADO A PESQUISA DE NEUROESTIMULAÇÃO
NÃO-INVASIVA PARA TRATAMENTO DE PACIENTES COM COVID-19: ESTUDO ABERTO,
RANDOMIZADO, CONTROLADO**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCOVID LongaARECIDO
(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)**

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) do projeto **CONTINUAR CUIDANDO** da pesquisa **NEUROESTIMULAÇÃO NÃO-INVASIVA PARA TRATAMENTO DE PACIENTES COM COVID-19: ESTUDO ABERTO, RANDOMIZADO, CONTROLADO**, que está sob a responsabilidade dos (a) pesquisadores Dr. **DANIEL BELTRAMMI**; Msc. **VANESSA MEIRA CINTRA**, Dr. **PAULO ANTÔNIO LUCENA**, Dra. **SUELLEN ANDRADE**, Dr. **EGAS CAPARELLI-DÁQUER**, Dr. **MAROM BIKSON**, Dr. **ABHISHEK DATTA BENJAMIM HAMPSTEAD**, para contato com os pesquisadores responsáveis você pode entrar em contato pelo endereço Av. Dom Pedro II, 1826, Torre, João Pessoa -PB, telefone (83) 3211- 9098 (inclusive ligações a cobrar) ou pelo e-mail: ribeirovmc@gmail.com.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Descrição da pesquisa: O objetivo principal deste estudo será avaliar os efeitos da HD-tDCS (4 mA versus 2 mA) no tratamento associado envolvendo a estimulação neural e estimulação respiratória para tratar as sequelas da COVID-19.

- Você, enquanto voluntário, participará da pesquisa recebendo um tratamento terapêutico para auxílio HD-tDCS associado a reabilitação respiratória utilizando o equipamento Power Breathe, por em média 20 minutos por 2 vezes por semana durante 5 semanas. Serão colocados eletrodos em pontos específicos da sua cabeça, por profissionais devidamente treinados, a fim de realizar uma neuroestimulação, com vistas a melhora do desempenho respiratório.
- Os profissionais responsáveis são et al. da pesquisa.
 - O tratamento não oferece riscos à saúde ou à integridade física das pessoas envolvidas, porém podem haver efeitos adversos como vermelhidão leve e transitória local. Afirmamos que o estudo será monitorado pelo Comitê de Monitorização e Segurança de Dados (CMSD), regulado pelo núcleo de pesquisas do Hospital Metropolitano Dom José Maria Pires, em associação com pesquisadores externos vinculados à Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Universidade de Michigan e City College of New York, sendo composto por especialistas em reabilitação, ética, estatística e metodologia. Além de contar com uma Comissão para avaliar cada caso.
- Você poderá desistir da pesquisa a qualquer momento sem nenhum ônus.
- Dentre os benefícios da pesquisa estão: a continuidade do cuidado dos pacientes diagnosticados com COVID-19; otimização do acesso a serviços de saúde de pacientes que foram diagnosticados com COVID-19; realinhamento da rede atenção à saúde estadual; organização de fluxos e processos de gestão do cuidado em saúde; capacitação de profissionais de saúde envolvidos no processo de atendimento remoto.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (questionários, gravações e registros telefônicos), ficarão armazenados em computadores de uso restrito às pessoas da Secretaria da Saúde do

Estado (SES/PB), sob a responsabilidade dos pesquisadores responsáveis, Av. Dom Pedro II, 1826, Torre, João Pessoa -PB, telefone (83) 3211- 9098, pelo período de mínimo 5 anos, após o término da pesquisa.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da SES-PB no endereço: **Av Dom Pedro II, 1826, Torre, telefone para contato (83) 3214-1732.**

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do projeto **CONTINUAR CUIDANDO** da pesquisa **“NEUROESTIMULAÇÃO NÃO-INVASIVA PARA TRATAMENTO DE PACIENTES COM COVID-19: ESTUDO ABERTO, RANDOMIZADO, CONTROLADO**, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo (a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Impressão
digital
(opcional)

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

PRODUTOS E ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O PERÍODO DO MESTRADO

Publicados

2023 –

Santana, K., França, E., Sato, J., Silva, A., Queiroz, M., de Farias, J., ... & Andrade, S. (2023). Non-invasive brain stimulation for fatigue in post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC). *Brain Stimulation*, 16(1), 100-107. doi: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2023.01.1672>

Andrade, S., França, E., Silvestre, C., **Santana, K.**, Cintra, V., Sato, J., ... & Bikson, M. (2023). HD-tDCS in acute and long-term COVID-19. Brain Stimulation: Basic, Translational, and Clinical Research in *Neuromodulation*, 16(1), 191-192. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2023.01.230>

2022 -

Andrade, S. M., de Araújo Silvestre, M. C., de França, E. É. T., Queiroz, M. H. B. S., **de Jesus Santana, K.**, Madruga, M. L. L. H., ... & Bikson, M. (2022). Efficacy and safety of HD-tDCS and respiratory rehabilitation for critically ill patients with COVID-19 The HD-RECOVERY randomized clinical trial. *Brain Stimulation*, 15(3), 780-788. doi : <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.006>

Kelly de Jesus Santana, Maria Cecília Araújo Silvestre, Elidiane Araújo, & Ricardo Rodrigues. ([s.d.]). Estimulação Transcraniana por corrente contínua (tDCS) como abordagem terapêutica em pacientes com Doença de Parkinson. Em *Fisioterapia: Teoria e Prática baseada em evidências* (p. 129–140).

Kelly de Jesus Santana, Maria Cecília Araújo Silvestre, Raissa Miranda, Ana Catarine Tavares, Carlos Andre Silva, Jully Emmily Guedes, & Pedro Nascimento Araújo. ([s.d.]). Efeitos neuroprotetores da atividade física. Em *Estudos avançados em Fisioterapia* (p. 150–160).

Submetido :

Iara Tainá de Souza; G, Ewerton Graziane dos Santos; A, Roberto Vinicius da Costa; N, Wanessa do Ferreira; J, **Kelly de Santana**; V, João dos Santos Felix; BF, Celso Brandão; A, Aline Candeia; S, Laura Morgana dos Nascimento; T, Ana Catarine da Silva; S, Carlos André Ferreira; B S, Maria Heloísa Queiroz; S, Jackeline Silva; H, José de Moraes Lima; Pedrosa, Rafaela; Onofre, Tatiana ; Tenório de França, Eduardo Erico. Effects of high-definition transcranial direct current stimulation combined with inspiratory muscle training for treating respiratory sequelae of long COVID: a case series. *Physiotherapy Research International*.

Em revisão :

The use of EEG microstates temporal dynamics for characterizing Long Covid Impairments.



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.



Non-invasive brain stimulation for fatigue in post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC)

Kelly Santana ^a, Eduardo França ^a, João Sato ^b, Ana Silva ^a, Maria Queiroz ^a, Julia de Farias ^a, Danniely Rodrigues ^a, Iara Souza ^a, Vanessa Ribeiro ^c, Egas Caparelli-Dáquer ^d, Antonio L. Teixeira ^{e,f}, Leigh Charvet ^g, Abhishek Datta ^{h,i}, Marom Bikson ^h, Suellen Andrade ^{a,*}

^a Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil

^b Center of Mathematics, Computing and Cognition, Federal University of ABC, Santo André, Brazil

^c Department of Health, Government of Paraíba, João Pessoa, Brazil

^d Nervous System Electric Stimulation Lab, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

^e Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, McGovern Medical School, University of Texas Health Science Center, Houston, United States

^f Faculdade Santa Casa BH, Belo Horizonte, Brazil

^g Department of Neurology, New York University Langone Health, New York, United States

^h Department of Biomedical Engineering, The City College of New York of CUNY, New York, United States

ⁱ Research & Development, Soterix Medical, Inc., New York, United States

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 October 2022

Received in revised form

10 January 2023

Accepted 19 January 2023

Available online 21 January 2023

Keywords:

Post-acute sequelae of Sars-COV-2

Fatigue

Anxiety

Non-invasive brain stimulation

High-Definition transcranial direct current stimulation

Respiratory rehabilitation

ABSTRACT

Background: and purpose: Fatigue is among the most common persistent symptoms following post-acute sequelae of Sars-COV-2 infection (PASC). The current study investigated the potential therapeutic effects of High-Definition transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS) associated with rehabilitation program for the management of PASC-related fatigue.

Methods: Seventy patients with PASC-related fatigue were randomized to receive 3 mA or sham HD-tDCS targeting the left primary motor cortex (M1) for 30 min paired with a rehabilitation program. Each patient underwent 10 sessions (2 sessions/week) over five weeks. Fatigue was measured as the primary outcome before and after the intervention using the Modified Fatigue Impact Scale (MFIS). Pain level, anxiety severity and quality of life were secondary outcomes assessed, respectively, through the McGill Questionnaire, Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A) and WHOQOL.

Results: Active HD-tDCS resulted in significantly greater reduction in fatigue compared to sham HD-tDCS (mean group MFIS reduction of 22.11 points vs 10.34 points). Distinct effects of HD-tDCS were observed in fatigue domains with greater effect on cognitive (mean group difference 8.29 points; effect size 1.1; 95% CI 3.56–13.01; $P < .0001$) and psychosocial domains (mean group difference 2.37 points; effect size 1.2; 95% CI 1.34–3.40; $P < .0001$), with no significant difference between the groups in the physical subscale (mean group difference 0.71 points; effect size 0.1; 95% CI 4.47–5.90; $P = .09$). Compared to sham, the active HD-tDCS group also had a significant reduction in anxiety (mean group difference 4.88; effect size 0.9; 95% CI 1.93–7.84; $P < .0001$) and improvement in quality of life (mean group difference 14.80; effect size 0.7; 95% CI 7.87–21.73; $P < .0001$). There was no significant difference in pain (mean group difference -0.74 ; no effect size; 95% CI 3.66–5.14; $P = .09$).

Conclusion: An intervention with M1 targeted HD-tDCS paired with a rehabilitation program was effective in reducing fatigue and anxiety, while improving quality of life in people with PASC.

© 2023 Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Registration Trial [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) Identifier: NCT05289115.

* Corresponding author. Health Center, Neuroscience and Aging Laboratory, Campus I, 58051-085, Paraíba, Brazil.

E-mail address: suellen.andrade@academico.ufpb.br (S. Andrade).

1. Introduction

Post-acute sequelae of Sars-CoV-2 infection (PASC) is an umbrella term for the wide range of multisystemic symptoms that are present four or more weeks after SARS-CoV-2 infection, independent of infection severity [1]. Fatigue is among the most reported PASC symptoms and has been associated with significant burden and disability [2]. The pathophysiological mechanisms of PASC remain poorly understood, but persistent immune activation has been regarded as a major player [3]. Currently, there are no established treatments for PASC and thus a large patient population seeking effective therapies [4].

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a type of noninvasive brain stimulation using low amplitude sustained currents [5]. High Definition tDCS (HD-tDCS) allows current steering to targeted brain regions [6–8]. tDCS is appealing as a non-pharmacological intervention and has been proposed for both COVID-19 acute illness and PASC-related conditions [9,10]. tDCS has been shown to reduce fatigue in a range of neurologic and immune diseases [11–13] and recently proposed as a therapeutic strategy for PASC-related fatigue [14–17].

Preliminary findings have demonstrated that PASC patients with fatigue exhibit abnormal motor cortex neurophysiological excitability. In these patients, inadequate input from brain regions upstream of M1 and/or reduced excitability of motor cortex could cause inadequate descending drive to the α -motor neurons thus contributing to the central fatigue [18,19]. Brain imaging and neurophysiology studies have indicated M1 is strongly involved in fatigue control [20,21] and prior studies revealed that changes in cortical excitability after tDCS were significantly correlated with fatigue improvement [22,23].

Given the need to develop effective strategies against PASC-related fatigue and the emerging role of tDCS in the treatment of fatigue, we developed this trial. The main objective of this randomized, sham-controlled trial was to evaluate the efficacy of M1 HD-tDCS associated with rehabilitation in PASC patients with fatigue. We postulated that, compared to sham stimulation, active stimulation during rehabilitation would improve fatigue (primary outcome), related symptoms (anxiety and pain) improving quality of life of patients with PASC.

2. Methods

2.1. Study design

This was a prospective, double-blind, randomized, sham-controlled clinical trial (NCT05289115) approved by the National Health Service Research Ethics Committee and conducted according to the Declaration of Helsinki. All patients enrolled provided written informed consent. Every patient received two sessions/week over five weeks (10 sessions).

2.2. Participants

Seventy patients fulfilling the criteria were enrolled. Eligible participants were aged 18–80 years, had diagnosis of PASC-related fatigue, and were followed in an outpatient clinic. Participants were required to be three to 12 months after acute confirmed SARS-CoV-2 infection, according to the CDC criteria [24]. The diagnosis of post-infectious fatigue following COVID-19 was performed according to the Academy of Physical Medicine and Rehabilitation recommendations [25]. Patients were screened for fatigue patterns to help guide activity and monitor the response to initiating and escalating activity as well as monitor the effects on daily functioning. Additionally, we compare their current symptoms with their pre illness

functional status and use standardized functional assessment tools to monitor the patient's progress over time. As part of the evaluation, we also determine whether the patient has any conditions that may exacerbate or lead to fatigue, including system dysfunctions, sleep disorders and medication use/polypharmacy [26].

Potential participants were excluded if they had severe depression (a score >30 in the Beck Depression inventory) [27]; history of alcohol abuse or substance harmful use or dependence; severe/life-threatening medical conditions and concomitant neuropsychiatric disorders such traumatic brain injury, stroke, epilepsy; and specific contraindications for brain stimulation (e.g., implanted metallic devices in the brain).

2.3. Randomization, allocation and blinding

Participants are randomized in accordance with a computer generated list at www.random.org (1:1 ratio) to receive active or sham HD-tDCS. After the randomization process, a blind researcher (not involved with the recruitment, data collection, or intervention) conducted the allocation of participants between the groups. Treatment assignments were concealed from patients and the personnel applying the stimulation sessions were blinded to the treatment group. Raters were also blinded to allocation group status.

2.4. Intervention

The experimental procedures and experimental profiles are shown in Fig. 1. We employed a 4×1 HD tDCS montage (mini-CT with 4×1 adaptor, Soterix Medical, New York, NY, USA). Based on the past neurophysiological studies on disruptive functional changes in fatigue-related to PASC [18,19], we positioned the center electrode over the left motor cortex (M1). Four return electrodes were placed in a ~7.5 cm radius. In the sham condition, the device provided a 30-s ramp-up period to the full 3 mA, followed immediately by a 30-s ramp down. For those in the active group, the electrical current was delivered with a ramp-up time of 30 s, held at 3 mA for 30 min, and then ramped down over 30 s. Each set of five

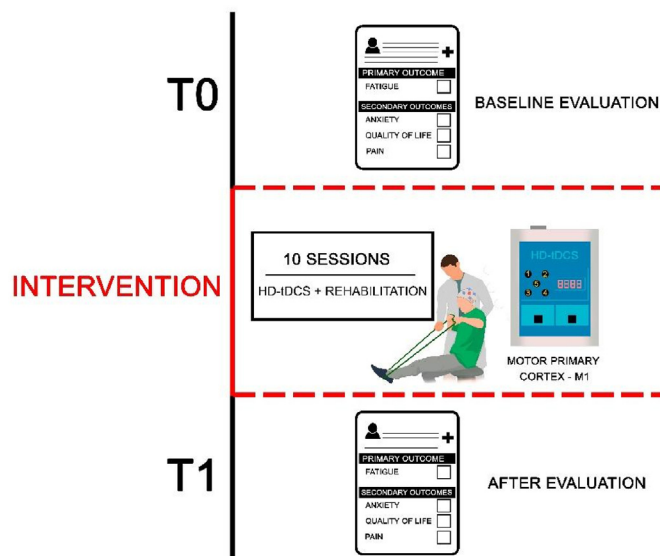


Fig. 1. Experimental design of HD-tDCS plus rehabilitation program for fatigue in Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 (PASC). The treatment protocol was composed by 10 sessions of HD-tDCS associated to rehabilitation program. The primary and secondary outcomes were measured at the baseline (T0) and at the endpoint (T1). HD-tDCS = High-Definition transcranial Direct Current Stimulation.

electrodes was used for 10 sessions, rotating which electrode was in the center position [28,29] 4×1 HD-tDCS allows for both cortically targeted and sub-threshold (DC) modulation (PMID: 23149292) and is well tolerated and blinded under the conditions tested [28]. 30 min is a typical duration used in neuropsychiatric interventions [28,30]. Our overall approach adapts our previously successful intervention in critically-ill COVID-19 patients [9].

During each session, all participants (active or sham) also received an individually tailored rehabilitation program based on the consensus guidance statement for treatment of PASC-related fatigue [25]. The protocol comprised submaximal levels (Rate of Perceived Exertion 9–11 score/Very Light-Light), gradual stretching, breathing exercise and resistance training. The Borg breathlessness scale and rate of perceived exertion were used alongside self-reported symptoms (including fatigue) to determine progression of the exercises [31]. All exercise training and counseling sessions were conducted by a physical therapist at the Department of Rehabilitation at University Medical Center. All patients underwent an educational program focused on treatment options for alleviating symptoms, taking account of the orientations and recommendations promoted by WHO on the education of health care providers and of patients. Therapeutic patient education is designed therefore to train patients in the skills of self-managing or adapting treatment to their particular condition, and in coping processes and skills. It is therefore a continuous process, integrated in health care. It is patient-centered; it includes awareness, learning, psychosocial support, prescribed treatment, organizational information, and behavior related to health and illness [32].

2.5. Outcomes

The primary efficacy outcome was fatigue severity as assessed by the Modified Fatigue Impact Scale (MFIS) [33] at the end of the treatment. The MFIS is a self-report inventory of fatigue severity that results in a total score and scores for three subscales: cognitive (9 items), psychosocial (10 items) and physical (2 items) components of fatigue.

Secondary outcomes included the evaluation of anxiety symptoms with the Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A) [34], quality of life using WHOQOL-bref [35], and pain by the McGill Questionnaire [36]. Clinical response, as defined as 5-point reduction of the baseline MFIS score, according to the reliable change index was also determined. A change in 5–6 points represents statistically meaningful change at the 0.90 and 0.95 confidence interval [37]. To assess tolerability, we used a questionnaire based on previously reported adverse events [38].

2.6. Statistical analysis

The sample size was estimated based on a minimal clinically important difference (5-point reduction on MFIS score from the baseline) in the outcome of fatigue [37] and previous research by Mortezaejad et al. [12] that evaluated the effect of tDCS on fatigue (mean of 31.0 SD of 4.0). Considering an effect size of 0.80 and drop rate of 10%, a total sample size of 44 were required.

All data analyses were performed using the GraphPad Prism software version 8.0 for Mac (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). All tests were performed with a two tailed $p < .05$. Descriptive statistics were run as frequencies and percentages for categorical variables; means and standard deviations were calculated for the continuous variables.

Mean differences between groups with 95% confidence intervals (CI) and effect sizes were calculated for the primary and secondary outcomes. Adjustment for multiple comparisons was performed using Bonferroni correction. Chi-square tests were used to compare

the number of clinically improved patients between the active and sham group. The effect size was measured in terms of odds ratios, and we estimated the number needed to treat (NNT) based on the odds ratios for clinical response.

In addition, we constructed mixed linear models controlling for age and baseline measures (anxiety, depression, and sleep disorder), since these factors are related to fatigue. We used the Hamilton Anxiety Rating Scale [34] and the Beck Depression Inventory [39] to assess anxiety and depression, respectively. Sleep quality was assessed with the Sleep Quality Scale [40]. Adverse events are expressed as counts and percentages and compared between groups using the χ^2 test.

3. Results

3.1. Participants

Out of 226 patients who were initially assessed for eligibility, 156 were excluded (135 did not meet eligibility criteria and 21 withdrew consent) (Fig. 2). The demographic characteristics and clinical variables were similar between groups at baseline (Table 1).

3.2. Primary outcome

The active HD-tDCS group had significantly greater reduction in fatigue (mean group difference 14.03 points; effect size 1.2; 95% CI 7.78–20.28; $P < .001$) compared to the sham group at the end of the five-week intervention. MFIS subscale analyses found that the reduction in fatigue was found in both the cognitive (mean group difference 8.29 points; effect size 1.1; 95% CI 3.56–13.01; $P < .001$) and psychosocial subscales (mean group difference 2.37 points; effect size 1.2; 95% CI 1.34–3.40; $P < .001$). No difference was observed between groups on physical fatigue (mean group difference 0.71 points; effect size 0.1; 95% CI 4.47–5.90; $P = .09$) (Table 2) (Fig. 3).

3.3. Secondary outcomes

The secondary outcomes were anxiety (HAM-A scores), quality of life (WHOQOL-bref scores) and pain (McGill scores). The mean differences favored the active group for anxiety (mean group difference 4.88; effect size 0.9; 95% CI 1.93–7.84; $P < .001$) and quality of life (mean group difference 14.80; effect size 0.7; 95% CI 7.87–21.73; $P < .001$) compared to sham group. For pain, there was no significant difference between groups (mean group difference -0.74 ; no effect size; 95% CI 3.66–5.14; $P = .09$) (Fig. 4).

Results indicated that the proportion of clinically improved participants in the active group was significantly larger than in the sham group (77.14% vs 45.71%; NNT = 3; odds ratio = 0.24; 95% CI, 0.08–0.70; $P < .001$).

3.4. Exploratory analysis

Our exploratory analysis showed that age, sleep disorder and depression were not predictors of response. Anxiety severity at baseline was associated with lower response ($P = .3$). A significant regression equation was found ($F(7,54) = 17.40$, $P < .001$), with an adjusted R^2 of 0.69 (Table 3).

3.5. Adverse effects

Skin redness was the only adverse event that differed significantly between groups: there were 37 occurrences in the active group compared to 13 in the sham group ($P < .001$). No serious adverse events were reported.

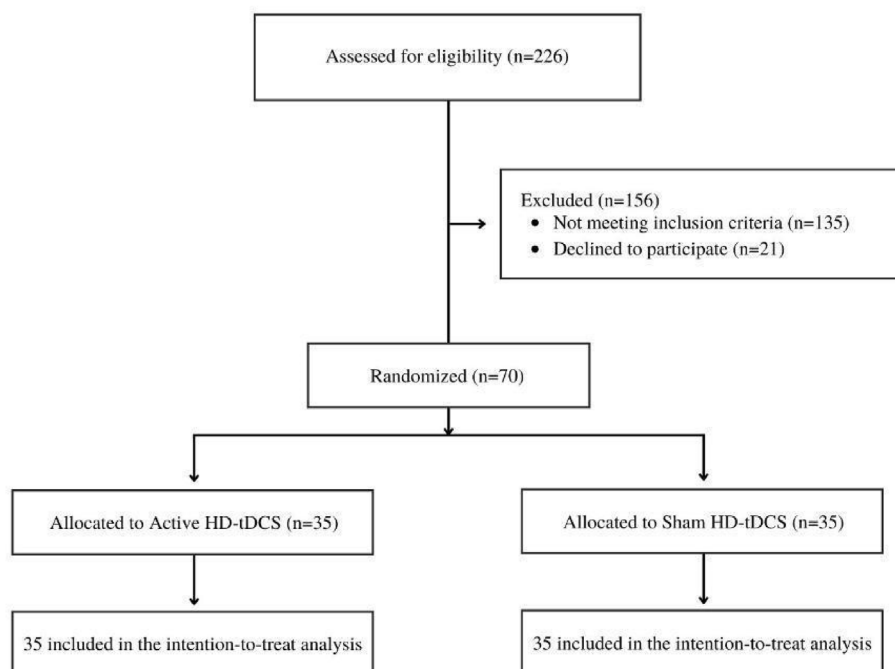


Fig. 2. Screening, Randomization, and Follow-up of Patients in the HD-RECOVERY trial. HD-tDCS = High-Definition transcranial Direct Current Stimulation.

4. Discussion

This is the first randomized, double-blind, sham-controlled clinical trial assessing the efficacy of HD-tDCS for the treatment of PASC-related fatigue. Consistent with the larger HD-tDCS (with rehabilitation) literature, the intervention is well-tolerated [41,42]. We found that active vs. sham HD-tDCS sessions combined with the rehabilitation program resulted in significant fatigue reduction

after the five-week intervention. Our results are encouraging because combining rehabilitation with HD-tDCS is feasible, well-tolerated and a potential useful treatment to many patients with fatigue.

There are several candidate mechanisms for tDCS benefit in fatigue. Previous reports documented that tDCS can induce neuroplastic after-effects and may exert a ‘top-down’ influence including along the ascending midbrain-thalamic-cingulate

Table 1
Demographics and clinical characteristics of participants in baseline.

	Group		P value
	Active (n = 35)	Sham (n = 35)	
Age ^a , years	51.63 [15.87]	54.46 [19.01]	0.50
Women, No. [%]	24 [69]	21 [60]	0.45
Comorbidities, No. [%]			
Hypertension	5 [14]	7 [20]	0.45
Chronic heart disease	3 [9]	2 [5]	0.64
Pulmonary disease	4 [11]	0 [0]	0.04
Diabetes	6 [17]	4 [11]	0.49
Rheumatic disease	3 [9]	2 [6]	0.64
Acute Phase Characteristics, No. [%]			
Asymptomatic	3 [9]	3 [9]	1.http://0.0.0.0/00 ^c
Home-isolated with symptoms	25 [71]	26 [74]	0.79 ^c
Hospitalized needing O2	2 [6]	3 [9]	0.64 ^c
Hospitalized needing NIV	4 [11]	2 [6]	0.39 ^c
Hospitalized needing respirator	3 [9]	4 [11]	0.69 ^c
Length of hospital stay ^a	2.86 [8.14]	3.34 [11.32]	0.84 ^b
Long COVID Symptoms, No. [%]			
Headache	12 [34]	9 [26]	0.43 ^c
Weakness	19 [54]	16 [46]	0.47 ^c
Sleep difficulty	15 [43]	12 [34]	0.46 ^c
Cough	22 [63]	15 [43]	0.09 ^c
Gastrointestinal symptoms	14 [40]	11 [31]	0.45 ^c
Breathlessness	14 [40]	17 [49]	0.47 ^c

No. or n = number of participants; NIV: Non-Invasive Ventilation.

^a Continuous variables are presented as mean (SD) unless otherwise indicated.

^b Chi-square analysis.

^c Independent *t*-test analysis.

Table 2
Clinical outcomes.

Variables	Group		ANOVA [F(1,68)/P value]		
			Acute treatment period		
	Active (n = 35)	Sham (n = 35)	Active vs Sham	Time effects	Time × group interaction
<i>Primary Outcome^a</i>					
<i>MFIS-Cognitive</i>					
Baseline	31.60 [9.10]	33.66 [8.27]			
Week 5	17.14 [8.7]	26.46 [7.56]	7,82/0.0067 ^b	115,8/0.0001	10,56/0.0018
<i>MFIS-Psychosocial</i>					
Baseline	6.54 [2.05]	5.91 [1.67]			
Week 5	2.66 [2.14]	5.03 [1.67]	26,58/0.0237 ^b	199,2/0.001	78,75/0.001
<i>MFIS-Physical</i>					
Baseline	19.03 [10.97]	18.23 [9.66]			
Week 5	15.26 [8.70]	15.97 [8.61]	0.000/0.985	28.93/0.001	1.82/0.181
<i>MFIS total</i>					
Baseline	57.17 [14.95]	57.8 [7.91]			
Week 5	35.06 [12.22]	47.46 [8.48]	9.69/0.0027 ^b	140.8/0.001	21.76/0.001
<i>Secondary Outcomes^a</i>					
<i>McGill Questionnaire</i>					
Baseline	11.8 [11.39]	10.94 [9.03]			
Week 5	7.46 [6.04]	8.49 [5.95]	0.06/0.801	6.46/0.013	0.11/0.740
<i>HAM-A</i>					
Baseline	25.93 [5.98]	25.95 [4.75]			
Week 5	18.66 [5.84]	23.57 [5.19]	4.55/0.036 ^b	60.74/0.0001	15.37/0.0002
<i>WHOQoL-bref</i>					
Baseline	57.51 [12.60]	59.71 [13.32]			
Week 5	80.89 [12.10]	66.09 [13.24]	5.49/0.022 ^b	101.9/0.0001	33.28/0.0001

^a Continuous variables are presented as mean (SD).^b Statistically significant n = number of participants; MFIS = Modified Fatigue Impact Scale; HAM-A = Hamilton anxiety rating scale; WHOQoL-brief = World Health Organization quality of life questionnaire (brief version).

pathway through descending fibers from the motor cortex [43–45]. The therapeutic efficacy of tDCS is, at least partly, due to its capacity to induce neural plasticity in different clinical conditions [45–47]. Additionally, M1 stimulation has been used for treating fatigue [22,48], decreasing the threshold for perceived effort [23] and

performance fatigability [15]. The suggested modulation of inflammatory processes by tDCS, either by direct brain stimulation [49,50] or top-down (vagal) processes, may be a parallel therapeutic mechanism [17,22]. As a further explanation of our study outcomes, rehabilitation programs are known to decrease

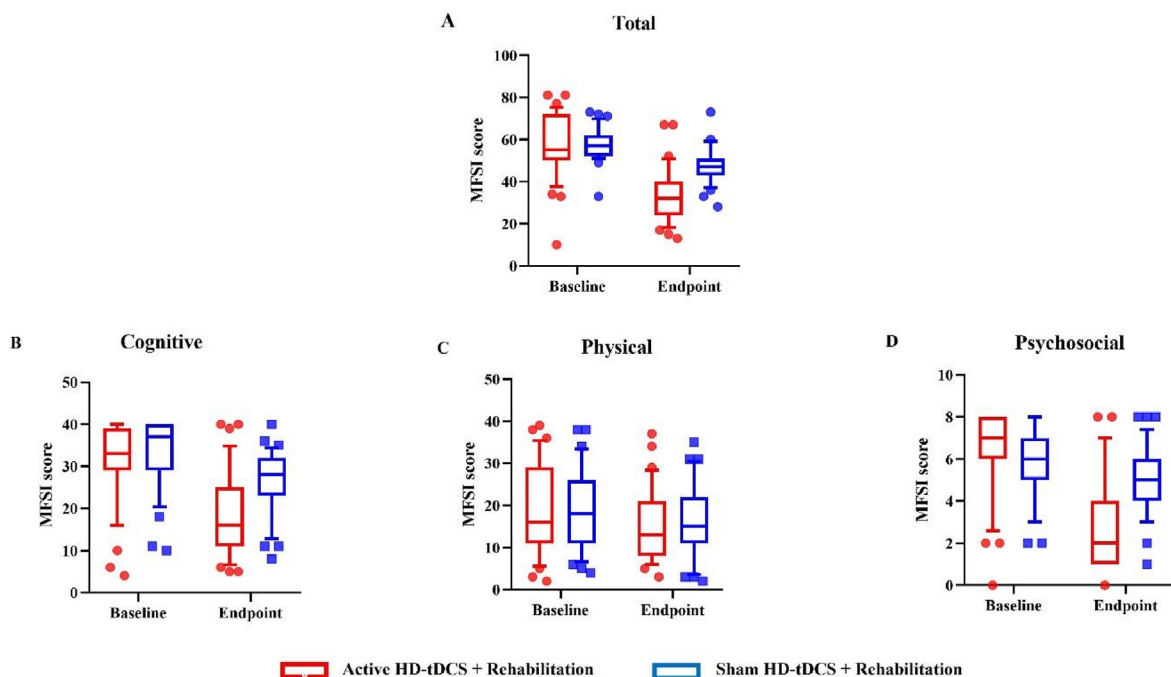


Fig. 3. Primary fatigue Outcomes of HD-tDCS plus rehabilitation program in Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 (PASC). Boxplots presenting changes in fatigue severity, (A) and regarding to cognitive, (B) psychosocial, (C) and physical fatigue domains, (D) from baseline to endpoint (week 5). A MFIS score reduction represents decrease fatigue severity after treatment. The HD-tDCS plus rehabilitation program on fatigue ratings were greater for the active group than for the sham group (fatigue total, cognitive and psychosocial domains). No significant effect was observed for physical fatigue between the two groups. MFIS = Modified Fatigue Impact Scale; HD-tDCS = High-Definition transcranial Direct Current Stimulation.

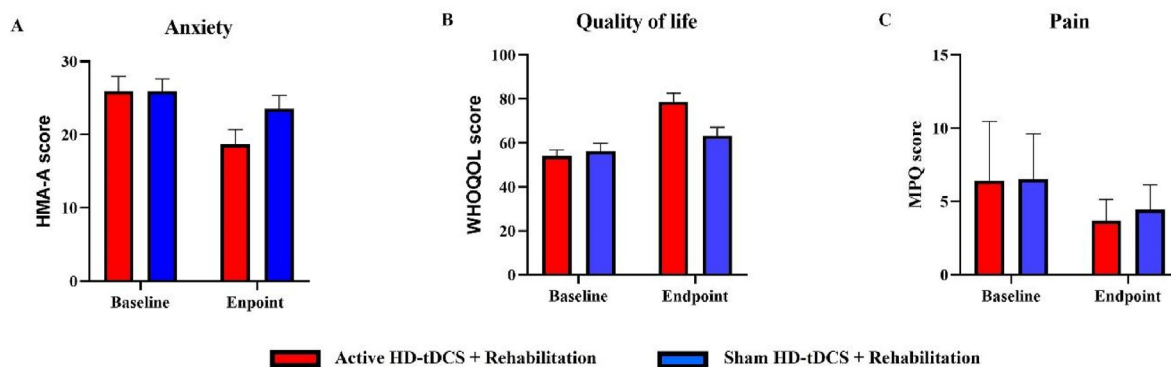


Fig. 4. Secondary Outcomes. Panels showing changes in anxiety severity, A, quality of life, B and pain level, C from baseline to endpoint (week 5). Compared with sham group, the effect of attenuating anxiety symptoms and improve quality of life ratings were marginally greater for the active group. There was no statistically significant difference between the treatment groups in pain change. HAM-A = Hamilton anxiety rating scale; WHOQol-brief = World Health Organization quality of life questionnaire (brief version); MPQ = McGill Pain Questionnaire HD-tDCS = High-definition transcranial direct current stimulation.

sensation of fatigue accompanied by brain functional reorganization in the sensory-motor network [49–51] and tDCS enhances sensorimotor activities and plasticity [52,53].

Our effort build on decades of work indicating the potential for tDCS for range of neurological and psychiatric conditions [28,54–58] with symptoms relevant to PASC. Trials of 4×1 HD-tDCS has spanned cognitive dysfunction [59] and neuropsychiatric disorders [60,61], pain [62,63], motor learning [64], and exercise performance [65].

Adjuvant treatments to improve the effects of rehabilitation are challenging, mainly due to the heterogeneity and complexity of fatigue-related to PASC conditions. Therefore, the results of this trial may result in an important advance in the healthcare setting. HD-tDCS associated with the rehabilitation protocol is feasible to a real clinical scenario, since the protocol allows brain stimulation during rehabilitation procedures, without increasing the human resource costs (physiotherapy time). Taken together, HD-tDCS and rehabilitation improves the chances of recovery, offer incentives to treatment compliance and may have an impact on public health costs.

Improvements of anxiety and quality of life, but not pain, were also observed with active HD-tDCS. Anxiety is reported to be associated with fatigue on a broad range of clinical conditions [66,67]. Since frontal and central areas are dysfunctional after COVID-19 infection [68,69], modulation of motor targets could lead not only to changes in fatigue but also in anxiety. The effects of HD-tDCS indeed affect distinct cortical and subcortical circuits, which could influence both motor and cognitive areas [43,46]. Further studies are necessary to investigate whether changes in anxiety occur simultaneously to fatigue or if improvements in cognitive symptoms mediates PASC outcomes. There is evidence showing the relationship between PASC-related fatigue and quality of life

[70,71]. In other clinical conditions, such as multiple sclerosis, for instance, the increase in neuronal activity following demyelination of some neurons, leads to deterioration of physical abilities, inducing fatigue and subsequently decreasing quality of life [12,71]. Therefore, the improvement of quality of life effect may be secondary to the effect of HD-tDCS on fatigue. Because patients had lower pain scores at baseline their scores might have not improved after treatment (despite a sustained response) owing to a “ceiling effect”. Finally, given that both groups improved their fatigue, the rehabilitation program might have an effect that was augmented by the HD-tDCS, as suggested by previous studies [47,72,73].

Study limitations and opportunities should be underscored. First, acute phase parameters of COVID-19 and premorbid conditions are factors non controlled during the current study. Second, absence of MRI precludes computational models of the role of individual anatomy in brain electric field intensity, however use of 4×1 HD-tDCS ensures consistent spatial targeting across subjects [74,75]. Third, PASC is a multifactorial condition suggesting customized treatment strategies - to this end our inclusion of subjects with specific symptom profiles and application of indication-targeted HD-tDCS and rehabilitation is consistent with developing socialized interventions. Finally, notwithstanding high compliance in our ten protocol sessions, due the barriers associated with consecutive visits to clinic/hospital and considering the large number of people affected by PASC remotely supervised home-based tDCS can be considered (and is feasible) to investigate extended treatment protocols [17,76–78].

5. Conclusion

In this sham-controlled randomized trial, we found that 10 sessions of M1 HD-tDCS paired with a rehabilitation program led to significant reduction of PASC-related fatigue. Although strengths of our study are the relatively large sample size and also its pragmatic aspect, enrolling fatigued patients that present mixed symptoms, further studies should acknowledge the specifically effects of treatment on patients with higher pain level and physical impairment related to fatigue to consolidate these exploratory findings. These findings along with the low cost of the therapy and its tolerability suggests its potential application in the clinical practice for the treatment of PASC.

Funding

This trial was funded and supported by the Government of Paraíba (Brazil).

Table 3

Multiple linear regression results with the change in MFIS as the outcome variable.

	Beta coefficient	95% CI	P value
Intercept	58.84	45.32 to 72.37	<0.0001 ^a
Group	−14.22	−17.96 to −10.49	<0.0001 ^a
Age	−0.08	−0.23 to 0.07	0.29
Sleep difficulty	−0.01	−0.54 to 0.51	0.96
Depression	−0.26	−0.62 to 0.10	0.15
Anxiety	−0.46	−0.89 to −0.03	0.04 ^a

Table includes beta coefficients, 95% confidence intervals and the associated p values for each predictor.

CI confidence interval.

MFIS = Modified Fatigue Impact Scale.

^a Statistically significant.

CRediT authorship contribution statement

Kelly Santana: Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data curation, Writing – original draft. **Eduardo França:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **João Sato:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **Ana Silva:** Investigation, Writing – review & editing. **Maria Queiroz:** Investigation, Writing – review & editing. **Julia de Farias:** Investigation, Writing – review & editing. **Danniely Rodrigues:** Investigation, Writing – review & editing. **Iara Souza:** Investigation, Writing – review & editing. **Vanessa Ribeiro:** Conceptualization, Methodology, Resources, Writing – review & editing. **Egas Caparelli-Dáquer:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **Antonio L. Teixeira:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **Leigh Charvet:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **Abhishek Datta:** Designed the experiment. **Marom Bikson:** Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data curation, Supervision, Project administration, Writing – original draft. **Suellen Andrade:** Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data curation, Supervision, Project administration, Writing – original draft.

Declaration of competing interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests: The City University of New York holds patents on brain stimulation with MB as inventor. MB has equity in Soterix Medical Inc. MB consults, received grants, assigned inventions, and/or serves on the SAB of SafeToddles, Boston Scientific, GlaxoSmithKline, Biophysics, Mecta, Lumenis, Halo Neuroscience, Google-X, i-Lumen, Humm, Allergan (Abbvie), Apple. AD is an employee and has equity in Soterix Medical Inc.

References

- [1] Parker AM, Brigham E, Connolly B, McPeake J, Agranovich AV, Kenes MT, et al. Addressing the post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection: a multidisciplinary model of care. *Lancet Respir Med* 2021;9:1328–41. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00385-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00385-4).
- [2] Logue JK, Franko NM, McCulloch DJ, McDonald D, Magedson A, Wolf CR, et al. Sequelae in adults at 6 Months after COVID-19 infection. *JAMA Netw Open* 2021;4:e210830. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.0830>.
- [3] Maltezos HC, Pavli A, Tsakris A. Post-COVID syndrome: an insight on its pathogenesis. *Vaccines* 2021;9:497. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050497>.
- [4] Brown K, Yahyouché A, Haroon S, Camaradou J, Turner G. Long COVID and self-management. *Lancet* 2022;399:355. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02798-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02798-7).
- [5] Woods AJ, Antal A, Bikson M, Boggio PS, Brunoni AR, Celnik P, et al. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clin Neurophysiol* 2016;127:1031–48. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.11.012>.
- [6] Villamar MF, Volz MS, Bikson M, Datta A, DaSilva AF, Fregni F. Technique and considerations in the use of 4x1 ring high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS). *JoVE* 2013;50309. <https://doi.org/10.3791/50309>.
- [7] Datta A, Bansal V, Diaz J, Patel J, Reato D, Bikson M. Gyri-precise head model of transcranial direct current stimulation: improved spatial focality using a ring electrode versus conventional rectangular pad. *Brain Stimul* 2009;2. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2009.03.005>. 201–7, 207.e1.
- [8] Dmochowski JP, Datta A, Bikson M, Su Y, Parra LC. Optimized multi-electrode stimulation increases focality and intensity at target. *J Neural Eng* 2011;8:046011. <https://doi.org/10.1088/1741-2560/8/4/046011>.
- [9] Andrade SM, Cecília de Araújo Silvestre M, Tenório de França EÉ, Bezerra Sales Queiroz MH, de Jesus Santana K, Lima Holmes Madruga ML, et al. Efficacy and safety of HD-tDCS and respiratory rehabilitation for critically ill patients with COVID-19 the HD-RECOVERY randomized clinical trial. *Brain Stimul* 2022;15:780–8. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.006>.
- [10] Czura CJ, Bikson M, Charvet L, Chen JDZ, Franke M, Fudim M, et al. Neuro-modulation strategies to reduce inflammation and improve lung complications in COVID-19 patients. *Front Neurol* 2022;13:897124. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.897124>.
- [11] Lefaucheur J-P, Chalah MA, Mhalla A, Palm U, Ayache SS, Mylius V. The treatment of fatigue by non-invasive brain stimulation. *Neurophysiologie Clin/Clin Neurophys* 2017;47:173–84. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2017.03.003>.
- [12] Mortezaejad M, Ehsani F, Masoudian N, Zoghi M, Jaberzadeh S. Comparing the effects of multi-session anodal trans-cranial direct current stimulation of primary motor and dorsolateral prefrontal cortices on fatigue and quality of life in patients with multiple sclerosis: a double-blind, randomized, sham-controlled trial. *Clin Rehabil* 2020;34:1103–11. <https://doi.org/10.1177/0269215520921506>.
- [13] Azabou E, Bao G, Bounab R, Heming N, Annane D. Vagus nerve stimulation: a potential adjunct therapy for COVID-19. *Front Med* 2021;8:625836. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.625836>.
- [14] Tecchio F, Cancelli A, Cottone C, Zito G, Pasqualetti P, Ghazaryan A, et al. Multiple sclerosis fatigue relief by bilateral somatosensory cortex neuro-modulation. *J Neurol* 2014;261:1552–8. <https://doi.org/10.1007/s00415-014-7377-9>.
- [15] Workman C, Boles-Ponto L, Kamholz J, Bryant A, Rudroff T. Transcranial direct current stimulation and post-COVID-19-fatigue. *Brain Stimul* 2021;14:1672–3. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.10.268>.
- [16] Baptista AF, Baltar A, Okano AH, Moreira A, Campos ACP, Fernandes AM, et al. Applications of non-invasive neuromodulation for the management of disorders related to COVID-19. *Front Neurol* 2020;11:573718. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.573718>.
- [17] Pilloni G, Bikson M, Badran BW, George MS, Kautz SA, Okano AH, et al. Update on the use of transcranial electrical brain stimulation to manage acute and chronic COVID-19 symptoms. *Front Hum Neurosci* 2020;14:595567. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.595567>.
- [18] Ortellì P, Ferrazzoli D, Sebastianelli L, Engl M, Romanello R, Nardone R, et al. Neuropsychological and neurophysiological correlates of fatigue in post-acute patients with neurological manifestations of COVID-19: insights into a challenging symptom. *J Neurol Sci* 2021;420:117271. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117271>.
- [19] Ortellì P, Ferrazzoli D, Sebastianelli L, Maestri R, Dezi S, Spampinato D, et al. Altered motor cortex physiology and dysexecutive syndrome in patients with fatigue and cognitive difficulties after mild COVID-19. *Eur J Neurol* 2022;29:1652–62. <https://doi.org/10.1111/ene.15278>.
- [20] Jiang Y, Guo Z, McClure MA, He L, Mu Q. Effect of rTMS on Parkinson's cognitive function: a systematic review and meta-analysis. *BMC Neurol* 2020;20:377. <https://doi.org/10.1186/s12883-020-01953-4>.
- [21] Di Lazzaro V, Oliviero A, Tonali PA, Mazzone P, Insola A, Pilato F, et al. Direct demonstration of reduction of the output of the human motor cortex induced by a fatiguing muscle contraction. *Exp Brain Res* 2003;149:535–8. <https://doi.org/10.1007/s00221-003-1408-6>.
- [22] Ferrucci R, Vergari M, Cogiamanian F, Bocci T, Ciocca M, Tomasini E, et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) for fatigue in multiple sclerosis. *NRE* 2014;34:121–7. <https://doi.org/10.3233/NRE-131019>.
- [23] De Doncker W, Ondobaka S, Kuppuswamy A. Effect of transcranial direct current stimulation on post-stroke fatigue. *J Neurol* 2021;268:2831–42. <https://doi.org/10.1007/s00415-021-10442-8>.
- [24] <http://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/long-term-effects.html> n.d.
- [25] Herrera JE, Niehaus WN, Whiteson J, Azola A, Baratta JM, Fleming TK, et al. Multidisciplinary collaborative consensus guidance statement on the assessment and treatment of fatigue in postacute sequelae of SARS-CoV-2 infection (PASC) patients. *PM&R* 2021;13:1027–43. <https://doi.org/10.1002/pmrj.12684>.
- [26] Mikkelsen M, Abramoff B. COVID-19: evaluation and management of adults with persistent symptoms following acute illness. *Long COVID*; 2022.
- [27] Shahid A, Wilkinson K, Marcu S, Shapiro CM. Beck depression inventory. In: Shahid A, Wilkinson K, Marcu S, Shapiro CM, editors. STOP, THAT and one hundred other sleep scales. New York, NY: Springer New York; 2011. p. 63–4. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9893-4_8.
- [28] Kuo M-F, Chen P-S, Nitsche MA. The application of tDCS for the treatment of psychiatric diseases. *Int Rev Psychiatr* 2017;29:146–67. <https://doi.org/10.1080/09540261.2017.1286299>.
- [29] Kuo H-I, Bikson M, Datta A, Minhas P, Paulus W, Kuo M-F, et al. Comparing cortical plasticity induced by conventional and high-definition 4 × 1 ring tDCS: a neurophysiological study. *Brain Stimul* 2013;6:644–8. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2012.09.010>.
- [30] Reckow J, Rahman-Filipiak A, Garcia S, Schlaeflin S, Calhoun O, DaSilva AF, et al. Tolerability and blinding of 4x1 high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) at two and three milliamps. *Brain Stimul* 2018;11:991–7. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.04.022>.
- [31] Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 1982;14:377–81.
- [32] Therapeutic patient education : continuing education programmes for health care providers in the field of prevention of chronic diseases : report of a WHO working group n.d.
- [33] Fisk JD, Ritvo PG, Ross L, Haase DA, Marrie TJ, Schlech WF. Measuring the functional impact of fatigue: initial validation of the fatigue impact scale. *Clin Infect Dis* 1994;18:S79–83. https://doi.org/10.1093/clinids/18.Supplement_1.S79.
- [34] Maier W, Buller R, Philipp M, Heuser I. The Hamilton Anxiety Scale: reliability, validity and sensitivity to change in anxiety and depressive disorders. *J Affect Disord* 1988;14:61–8. [https://doi.org/10.1016/0165-0327\(88\)90072-9](https://doi.org/10.1016/0165-0327(88)90072-9).

- [35] The Whoqol Group. Development of the world health organization WHOQOL-BREF quality of life assessment. *Psychol Med* 1998;28:551–8. <https://doi.org/10.1017/S0033291798006667>.
- [36] Melzack R. The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. *Pain* 1975;1:277–99. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(75\)90044-5](https://doi.org/10.1016/0304-3959(75)90044-5).
- [37] Cozart JS, Strober L, Ruppen S, Bradish T, Belcher C, Louthan T, et al. A quick assessment of reliable change in fatigue: reliable change indices of the modified fatigue impact scale – 5 item (MFIS-5). *Multiple Sclerosis Related Disord* 2021;49:102743. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2021.102743>.
- [38] Brunoni AR, Amadera J, Berbel B, Volz MS, Rizzerio BG, Fregni F. A systematic review on reporting and assessment of adverse effects associated with transcranial direct current stimulation. *Int J Neuropsychopharmacol* 2011;14:1133–45. <https://doi.org/10.1017/S1461145710001690>.
- [39] Beck AT. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatr* 1961;4:561. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1961.01710120031004>.
- [40] Mulder-Hajonides van der Meulen W, Wijnberg J, Hollander J, et al. Measurement of subjective sleep quality. *Eur. Sleep Res. Soc.* 1980;5:98.
- [41] Richardson J, Datta A, Dmochowski J, Parra LC, Fridriksson J. Feasibility of using high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) to enhance treatment outcomes in persons with aphasia. *NeuroRehabilitation* 2015;36:115–26. <https://doi.org/10.3233/NRE-141199>.
- [42] Jacquemin L, Shekhawat GS, Van de Heyning P, Mertens G, Franssen E, Van Rompaey V, et al. Effects of electrical stimulation in tinnitus patients: conventional versus high-definition tDCS. *Neurorehabilitation Neural Repair* 2018;32:714–23. <https://doi.org/10.1177/1545968318787916>.
- [43] Keeser D, Meindl T, Bor J, Palm U, Pogarell O, Mulert C, et al. Prefrontal transcranial direct current stimulation changes connectivity of resting-state networks during fMRI. *J Neurosci* 2011;31:15284–93. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0542-11.2011>.
- [44] Nitsche MA, Fricke K, Henschke U, Schlitterlau A, Liebetanz D, Lang N, et al. Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans. *J Physiol* 2003;553:293–301. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049916>.
- [45] Hordacre B, Moezzi B, Ridding MC. Neuroplasticity and network connectivity of the motor cortex following stroke: a transcranial direct current stimulation study. *Hum Brain Mapp* 2018;39:3326–39. <https://doi.org/10.1002/hbm.24079>.
- [46] Park C, Chang WH, Park J-Y, Shin Y-I, Kim ST, Kim Y-H. Transcranial direct current stimulation increases resting state interhemispheric connectivity. *Neurosci Lett* 2013;539:7. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.01.047>.
- [47] Andrade SM, Ferreira JJ de A, Rufino TS, Medeiros G, Brito JD, da Silva MA, et al. Effects of different montages of transcranial direct current stimulation on the risk of falls and lower limb function after stroke. *Neurol Res* 2017;39:1037–43. <https://doi.org/10.1080/01616412.2017.1371473>.
- [48] Pilloni G, Choi C, Shaw M, et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) can reduce fatigue and improve sleep quality in multiple sclerosis. *Neurology* Apr 2020;94(15):3961. 3961.
- [49] Tavazzi L, Gattone M, Corra U, De Vito F. The anaerobic index: uses and limitations in the assessment of heart failure. *Cardiology* 1989;76:357–67.
- [50] Prosperini L, Piattella MC, Gianni C, Pantano P. Functional and structural brain plasticity enhanced by motor and cognitive rehabilitation in multiple sclerosis. *Neural Plast* 2015;1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/481574>.
- [51] Foong R, Ang KK, Quek C, Guan C, Phua KS, Kuah CWK, et al. Assessment of the efficacy of EEG-based MI-BCI with visual feedback and EEG correlates of mental fatigue for upper-limb stroke rehabilitation. *IEEE Trans Biomed Eng* 2020;67:786–95. <https://doi.org/10.1109/TBME.2019.2921198>.
- [52] Hong X, Lu ZK, Teh I, Nasrallah FA, Teo WP, Ang KK, et al. Brain plasticity following MI-BCI training combined with tDCS in a randomized trial in chronic subcortical stroke subjects: a preliminary study. *Sci Rep* 2017;7:9222. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08928-5>.
- [53] Andrade SM, Machado DG da S, Silva-Sauere L da, Regis CT, Mendes CKTT, de Araújo JSS, et al. Effects of multisite anodal transcranial direct current stimulation combined with cognitive stimulation in patients with Alzheimer's disease and its neurophysiological correlates: a double-blind randomized clinical trial. *Neurophysiol Clin* 2022;52:117–27. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2022.02.003>.
- [54] Fregni F, El-Hagrassy MM, Pacheco-Barrios K, Carvalho S, Leite J, Simis M, et al. Evidence-based guidelines and secondary meta-analysis for the use of transcranial direct current stimulation in neurological and psychiatric disorders. *Int J Neuropsychopharmacol* 2021;24:256–313. <https://doi.org/10.1093/ijnp/nyaa051>.
- [55] Brunoni AR, Moffa AH, Sampaio-Junior B, Borriero L, Moreno ML, Fernandes RA, et al. Trial of electrical direct-current therapy versus escitalopram for depression. *N Engl J Med* 2017;376:2523–33. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1612999>.
- [56] Antal A, Alekseiuk I, Bikson M, Brockmüller J, Brunoni AR, Chen R, et al. Low intensity transcranial electric stimulation: safety, ethical, legal regulatory and application guidelines. *Clin Neurophysiol* 2017;128:1774–809. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.06.001>.
- [57] Fregni F, Nitsche MA, Loo CK, Brunoni AR, Marangolo P, Leite J, et al. Regulatory considerations for the clinical and research use of transcranial direct current stimulation (tDCS): review and recommendations from an expert panel. *Clin Res Regul Aff* 2015;32:22–35. <https://doi.org/10.3109/10601333.2015.980944>.
- [58] Brunoni AR, Nitsche MA, Bolognini N, Bikson M, Wagner T, Merabet L, et al. Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): challenges and future directions. *Brain Stimul* 2012;5:175–95. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2011.03.002>.
- [59] Tedla JS, Sangadala DR, Reddy RS, Gular K, Dixit S. High-definition transcranial direct current stimulation and its effects on cognitive function: a systematic review. *Cerebr Cortex* 2022;bhac485. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhac485>.
- [60] Masina F, Arcara G, Galletti E, Cinque I, Gamberini L, Mapelli D. Neurophysiological and behavioural effects of conventional and high definition tDCS. *Sci Rep* 2021;11:7659. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87371-z>.
- [61] Parlikar R, Vanteemar SS, Shivakumar V, Narayanaswamy CJ, Rao PN, Ganesan V. High definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS): a systematic review on the treatment of neuropsychiatric disorders. *Asian Journal of Psychiatry* 2021;56:102542. <https://doi.org/10.1016/j.jap.2020.102542>.
- [62] Castillo-Saavedra L, Gebodh N, Bikson M, Diaz-Cruz C, Brandao R, Coutinho L, et al. Clinically effective treatment of fibromyalgia pain with high-definition transcranial direct current stimulation: phase II open-label dose optimization. *J Pain* 2016;17:14–26. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2015.09.009>.
- [63] Flood A, Waddington G, Keegan RJ, Thompson KG, Cathcart S. The effects of elevated pain inhibition on endurance exercise performance. *PeerJ* 2017;5:e3028. <https://doi.org/10.7717/peerj.3028>.
- [64] Cole L, Giuffrè A, Ciechanski P, Carlson HL, Zewdie E, Kuo H-C, et al. Effects of high-definition and conventional transcranial direct-current stimulation on motor learning in children. *Front Neurosci* 2018;12:787. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00787>.
- [65] da Silva Machado DG, Bikson M, Datta A, Caparelli-Dáquer E, Unal G, Baptista AF, et al. Acute effect of high-definition and conventional tDCS on exercise performance and psychophysiological responses in endurance athletes: a randomized controlled trial. *Sci Rep* 2021;11:13911. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92670-6>.
- [66] Goëtz YMJ, Braamse AMJ, Spruit MA, Janssen DJA, Ebadi Z, Van Herck M, et al. Fatigue in patients with chronic disease: results from the population-based Lifelines Cohort Study. *Sci Rep* 2021;11:20977. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00337-z>.
- [67] AlSaeed S, Aljouee T, Alkhawajah NM, Alarieh R, AlGarni H, Aljarallah S, et al. Fatigue, depression, and anxiety among ambulating multiple sclerosis patients. *Front Immunol* 2022;13:844461. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.844461>.
- [68] Douaud G, Lee S, Alfaro-Almagro F, Arthofer C, Wang C, McCarthy P, et al. SARS-CoV-2 is associated with changes in brain structure in UK Biobank n.d.: vol. 55.
- [69] Silva LS, Joao RB, Nogueira MH, Aventura IK, de Campos BM, de Brito MR, et al. Functional and microstructural brain abnormalities, fatigue, and cognitive dysfunction after mild COVID-19. *Neurology* 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.03.20.21253414>.
- [70] Malik P, Patel K, Pinto C, Jaiswal R, Tirupathi R, Pillai S, et al. Post-acute COVID-19 syndrome (PCS) and health-related quality of life (HRQoL)—a systematic review and meta-analysis. *J Med Virol* 2022;94:253–62. <https://doi.org/10.1002/jmv.27309>.
- [71] Turpin KVL, Carroll LJ, Cassidy JD, Hader WJ. Deterioration in the health-related quality of life of persons with multiple sclerosis: the possible warning signs. *Mult Scler* 2007;13:1038–45. <https://doi.org/10.1177/1352458507078393>.
- [72] Manenti R, Cotelli MS, Cobelli C, Gobbi E, Brambilla M, Rusich D, et al. Transcranial direct current stimulation combined with cognitive training for the treatment of Parkinson Disease: a randomized, placebo-controlled study. *Brain Stimul* 2018;11:1251–62. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.07.046>.
- [73] Schabrun SM, Lamont RM, Brauer SG. Transcranial direct current stimulation to enhance dual-task gait training in Parkinson's disease: a pilot RCT. *PLoS One* 2016;11:e0158497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158497>.
- [74] Datta A, Truong D, Minhas P, Parra LC, Bikson M. Inter-individual variation during transcranial direct current stimulation and normalization of dose using MRI-derived computational models. *Front Psychiatr* 2012;3:91. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00091>.
- [75] Edwards D, Cortes M, Datta A, Minhas P, Wassermann EM, Bikson M. Physiological and modeling evidence for focal transcranial electrical brain stimulation in humans: a basis for high-definition tDCS. *Neuroimage* 2013;74:266–75. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.01.042>.
- [76] Palm U, Kumpf U, Behler N, Wulf L, Kirsch B, Wörsching J, et al. Home use, remotely supervised, and remotely controlled transcranial direct current stimulation: a systematic review of the available evidence. *Neuromodulation: Technol at the Neural Interface* 2018;21:323–33. <https://doi.org/10.1111/ner.12686>.
- [77] Pilloni G, Vogel-Eyny A, Lustberg M, Best P, Malik M, Walton-Masters L, et al. Tolerability and feasibility of at-home remotely supervised transcranial direct current stimulation (RS-tDCS): single-center evidence from 6,779 sessions. *Brain Stimul* 2022;15:707–16. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.04.014>.
- [78] Tecchio F, Cancelli A, Pizzichino A, L'Abbate T, Gianni E, Bertoli M, et al. Home treatment against fatigue in multiple sclerosis by a personalized, bilateral whole-body somatosensory cortex stimulation. *Mult Scler Relat Disord* 2022;63:103813. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2022.103813>.

Journal Pre-proof

Non-invasive brain stimulation for fatigue in post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC)

Kelly Santana, Eduardo França, João Sato, Ana Silva, Maria Queiroz, Julia de Farias, Danniely Rodrigues, Iara Souza, Vanessa Ribeiro, Egas Caparelli-Dáquer, Antonio L. Teixeira, Leigh Charvet, Abhishek Datta, Marom Bikson, Suellen Andrade

PII: S1935-861X(23)01674-1

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2023.01.1672>

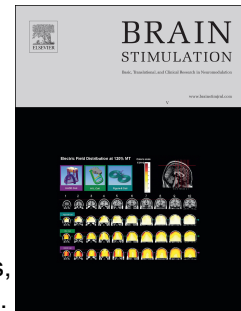
Reference: BRS 2316

To appear in: *Brain Stimulation*

Received Date: 29 October 2022

Revised Date: 10 January 2023

Accepted Date: 19 January 2023



Please cite this article as: Santana K, França E, Sato Joã, Silva A, Queiroz M, de Farias J, Rodrigues D, Souza I, Ribeiro V, Caparelli-Dáquer E, Teixeira AL, Charvet L, Datta A, Bikson M, Andrade S, Non-invasive brain stimulation for fatigue in post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC), *Brain Stimulation* (2023), doi: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2023.01.1672>.

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2023 Published by Elsevier Inc.

CRedit author statement:

Santana K : Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data Curation, Writing - Original Draft; *França E, Sato J, Caparelli-Daquer, Teixeira, A; Charvet, L*: Conceptualization, Methodology Supervision, Writing - review & editing; *Silva A*: Investigation, Writing - review & editing; *Queiroz M* : Investigation, Writing - review & editing; *Farias J*.: Investigation, Writing - review & editing; *Rodrigues D*.: Investigation, Writing - review & editing; *Souza I*.: Investigation, Writing - review & editing; *Ribeiro V*.: Conceptualization, Methodology, Resources, Writing - review & editing; *Datta A*.: Designed the experiment. *Bikson M*.; *Andrade S*.: Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data Curation, Supervision, Project Administration; Writing - Original Draft.

Non-invasive Brain Stimulation for fatigue in Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 (PASC)

Kelly Santana, BSc¹, Eduardo França, PhD¹, João Sato, PhD², Ana Silva, BSc¹, Maria Queiroz, BSc¹, Julia de Farias, BSc¹, Danniely Rodrigues, BSc¹, Iara Souza, BSc¹, Vanessa Ribeiro, MsC³, Egas Caparelli-Dáquer, MD⁴, PhD, Antonio L. Teixeira, MD, PhD⁵, Leigh Charvet, MD, PhD⁶, Abhishek Datta, PhD^{7,8}, Marom Bikson, PhD⁷, Suellen Andrade, PhD¹

¹ Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil

² Center of Mathematics, Computing and Cognition, Federal University of ABC, Santo André, Brazil

³ Department of Health, Government of Paraíba, João Pessoa, Brazil

⁴ Nervous System Electric Stimulation Lab, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

⁵ Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, McGovern Medical School, University of Texas Health Science Center, Houston, United States; Faculdade Santa Casa BH, Belo Horizonte, Brazil.

⁶ Department of Neurology, New York University Langone Health, New York, United States

⁷ Department of Biomedical Engineering, The City College of New York of CUNY, New York, United States

⁸ Research & Development, Soterix Medical, Inc., New York, United States

Running head: Brain Stimulation for PASC-related fatigue

Corresponding Author: Suellen Andrade, PhD, Health Center, Neuroscience and Aging Laboratory, Campus I, 58051-085, Paraíba, Brazil (suellen.andrade@academico.ufpb.br).

Declarations of interest:

The City University of New York holds patents on brain stimulation with MB as inventor. MB has equity in Soterix Medical Inc. MB has equity in Soterix Medical Inc. MB consults,

received grants, assigned inventions, and/or served on the SAB of SafeToddles, Boston Scientific, GlaxoSmithKline, Biovisics, Mecta, Lumenis, Halo Neuroscience, Google-X, i-Lumen, Humm, Allergan (Abbvie), Apple, Ybrain, Ceragem, Remz. AD is an employee and has equity in Soterix Medical Inc.

Manuscript Word Count: 2326

Funding: This trial was funded and supported by the Government of Paraiba (Brazil).

Highlights

- Ten sessions of rehabilitation using M1 HD-tDCS decreases symptoms associated to post-acute sequelae of COVID-19 (PASC).
- HD-tDCS modulates fatigue, anxiety, and quality of life on PASC-related fatigue.
- HD-tDCS is promising as an adjuvant therapeutic tool for PASC-related fatigue.

CRedit author statement:

Santana K : Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data Curation, Writing - Original Draft; *França E, Sato J, Caparelli-Daquer, Teixeira, A; Charvet, L*: Conceptualization, Methodology Supervision, Writing - review & editing; *Silva A.*: Investigation, Writing - review & editing; *Queiroz M* : Investigation, Writing - review & editing; *Farias J.*: Investigation, Writing - review & editing; *Rodrigues D.*: Investigation, Writing - review & editing; *Souza I.*: Investigation, Writing - review & editing; *Ribeiro V.*: Conceptualization, Methodology, Resources, Writing - review & editing; *Datta A.*: Designed the experiment. *Bikson M.*; *Andrade S.*: Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data Curation, Supervision, Project Administration; Writing - Original Draft.

Abstract

Background and purpose: Fatigue is among the most common persistent symptoms following post-acute sequelae of Sars-COV-2 infection (PASC). The current study investigated the potential therapeutic effects of High-Definition transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS) associated with rehabilitation program for the management of PASC-related fatigue.

Methods: Seventy patients with PASC-related fatigue were randomized to receive 3 mA or sham HD-tDCS targeting the left primary motor cortex (M1) for 30 minutes paired with a rehabilitation program. Each patient underwent 10 sessions (2 sessions/week) over five weeks. Fatigue was measured as the primary outcome before and after the intervention using the Modified Fatigue Impact Scale (MFIS). Pain level, anxiety severity and quality of life were secondary outcomes assessed, respectively, through the McGill Questionnaire, Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A) and WHOQOL.

Results: Active HD-tDCS resulted in significantly greater reduction in fatigue compared to sham HD-tDCS (mean group MFIS reduction of 22.11 points vs 10.34 points). Distinct effects of HD-tDCS were observed in fatigue domains with greater effect on cognitive (mean group difference 8.29 points; effect size 1.1; 95% CI 3.56-13.01; $P < 0.0001$) and psychosocial domains (mean group difference 2.37 points; effect size 1.2; 95% CI 1.34-3.40; $P < 0.0001$), with no significant difference between the groups in the physical subscale (mean group difference 0.71 points; effect size 0.1; 95% CI -4.47 -5.90; $P = .09$). Compared to sham, the active HD-tDCS group also had a significant reduction in anxiety (mean group difference 4.88; effect size 0.9; 95% CI 1.93-7.84; $P < 0.0001$) and improvement in quality of life (mean group difference 14.80; effect size 0.7; 95% CI 7.87-21.73; $P < 0.0001$). There was no significant difference in pain (mean group difference -0.74; no effect size; 95% CI -3.66-5.14; $P = .09$).

Conclusion: An intervention with M1 targeted HD-tDCS paired with a rehabilitation program was effective in reducing fatigue and anxiety, while improving quality of life in people with PASC.

Keywords: Post-acute sequelae of Sars-COV-2, Fatigue, Anxiety, Non-invasive brain stimulation, High-Definition transcranial direct current stimulation, Respiratory rehabilitation.

Registration Trial ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05289115

Introduction

Post-acute sequelae of Sars-CoV-2 infection (PASC) is an umbrella term for the wide range of multisystemic symptoms that are present four or more weeks after SARS-CoV-2 infection, independent of infection severity [1]. Fatigue is among the most reported PASC symptoms and has been associated with significant burden and disability[2]. The pathophysiological mechanisms of PASC remain poorly understood, but persistent immune activation has been regarded as a major player [3]. Currently, there are no established treatments for PASC and thus a large patient population seeking effective therapies [4].

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a type of noninvasive brain stimulation using low amplitude sustained currents [5]. High Definition tDCS (HD-tDCS) allows current steering to targeted brain regions [6–8]. tDCS is appealing as a nonpharmacological intervention and has been proposed for both COVID-19 acute illness and PASC-related conditions [9,10]. tDCS has been shown to reduce fatigue in a range of neurologic and immune diseases [11–13] and recently proposed as a therapeutic strategy for PASC-related fatigue [14–17].

Preliminary findings have demonstrated that PASC patients with fatigue exhibit abnormal motor cortex neurophysiological excitability. In these patients, inadequate input from brain regions upstream of M1 and/or reduced excitability of motor cortex could cause inadequate descending drive to the α -motor neurons thus contributing to the central fatigue [18,19]. Brain imaging and neurophysiology studies have indicated M1 is strongly involved in fatigue control [20,21] and prior studies revealed that changes in cortical excitability after tDCS were significantly correlated with fatigue improvement [22,23].

Given the need to develop effective strategies against PASC-related fatigue and the emerging role of tDCS in the treatment of fatigue, we developed this trial. The main objective

of this randomized, sham-controlled trial was to evaluate the efficacy of M1 HD-tDCS associated with rehabilitation in PASC patients with fatigue. We postulated that, compared to sham stimulation, active stimulation during rehabilitation would improve fatigue (primary outcome), related symptoms (anxiety and pain) improving quality of life of patients with PASC.

Methods

Study Design

This was a prospective, double-blind, randomized, sham-controlled clinical trial (NCT05289115) approved by the National Health Service Research Ethics Committee and conducted according to the Declaration of Helsinki. All patients enrolled provided written informed consent. Every patient received two sessions/week over five weeks (10 sessions).

Participants

Seventy patients fulfilling the criteria were enrolled. Eligible participants were aged 18 to 80 years, had diagnosis of PASC-related fatigue, and were followed in an outpatient clinic. Participants were required to be three to 12 months after acute confirmed SARS-CoV-2 infection, according to the CDC criteria [24]. The diagnosis of post-infectious fatigue following COVID-19 was performed according to the Academy of Physical Medicine and Rehabilitation recommendations [25]. Patients were screened for fatigue patterns to help guide activity and monitor the response to initiating and escalating activity as well as monitor the effects on daily functioning. Additionally, we compare their current symptoms with their pre illness functional status and use standardized functional assessment tools to monitor the patient's progress over time. As part of the evaluation, we also determine whether the patient has any conditions that may exacerbate or lead to fatigue, including system dysfunctions, sleep disorders and medication use/polypharmacy [26].

Potential participants were excluded if they had severe depression (a score > 30 in the Beck Depression inventory) [27]; history of alcohol abuse or substance harmful use or dependence; severe/life-threatening medical conditions and concomitant neuropsychiatric disorders such traumatic brain injury, stroke, epilepsy; and specific contraindications for brain stimulation (e.g., implanted metallic devices in the brain).

Randomization, Allocation and Blinding

Participants are randomized in accordance with a computer generated list at www.random.org (1:1 ratio) to receive active or sham HD-tDCS. After the randomization process, a blind researcher (not involved with the recruitment, data collection, or intervention) conducted the allocation of participants between the groups. Treatment assignments were concealed from patients and the personnel applying the stimulation sessions were blinded to the treatment group. Raters were also blinded to allocation group status.

Intervention

The experimental procedures and experimental profiles are shown in Fig. 1. We employed a 4x1 HD tDCS montage (mini-CT with 4 × 1 adaptor, Soterix Medical, New York, NY, USA). Based on the past neurophysiological studies on disruptive functional changes in fatigue-related to PASC [18,19], we positioned the center electrode over the left motor cortex (M1). Four return electrodes were placed in a ~7.5 cm radius. In the sham condition, the device provided a 20-second ramp-up period to the full 3 mA, followed immediately by a 20-second ramp down. For those in the active group, the electrical current was delivered with a ramp-up time of 30 s, held at 3 mA for 30 min, and then ramped down over 30 s. Each set of five electrodes was used for 10 sessions, rotating which electrode was in the center position [28,29] 4x1 HD-tDCS allows for both cortically targeted and sub-threshold (DC) modulation (PMID: 23149292) and is well tolerated and blinded under the conditions tested [[28]. 30 minutes is a

typical duration used in neuropsychiatric interventions [28,30] Our overall approach adapts our previously successful intervention in critically-ill COVID-19 patients[9]

[INSERT FIGURE 1]

During each session, all participants (active or sham) also received an individually tailored rehabilitation program based on the consensus guidance statement for treatment of PASC-related fatigue [25]. The protocol comprised submaximal levels (Rate of Perceived Exertion 9–11 score/Very Light-Light), gradual stretching, breathing exercise and resistance training. The Borg breathlessness scale and rate of perceived exertion were used alongside self-reported symptoms (including fatigue) to determine progression of the exercises [31]. All exercise training and counseling sessions were conducted by a physical therapist at the Department of Rehabilitation at University Medical Center. All patients underwent an educational program focused on treatment options for alleviating symptoms, taking account of the orientations and recommendations promoted by WHO on the education of health care providers and of patients. Therapeutic patient education is designed therefore to train patients in the skills of self-managing or adapting treatment to their particular condition, and in coping processes and skills. It is therefore a continuous process, integrated in health care. It is patient-centered; it includes awareness, learning, psychosocial support, prescribed treatment, organizational information, and behavior related to health and illness [32].

Outcomes

The primary efficacy outcome was fatigue severity as assessed by the Modified Fatigue Impact Scale (MFIS) [33] at the end of the treatment. The MFIS is a self-report inventory of fatigue severity that results in a total score and scores for three subscales: cognitive (9 items), psychosocial (10 items) and physical (2 items) components of fatigue.

Secondary outcomes included the evaluation of anxiety symptoms with the Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A) [34], quality of life using WHOQOL-bref [35], and pain by the McGill Questionnaire [36]. Clinical response, as defined as 5-point reduction of the baseline MFIS score, according to the reliable change index was also determined. A change in 5 to 6 points represents statistically meaningful change at the 0.90 and 0.95 confidence interval [37]. To assess tolerability, we used a questionnaire based on previously reported adverse events [38].

Statistical Analysis

The sample size was estimated based on a minimal clinically important difference (5-point reduction on MFIS score from the baseline) in the outcome of fatigue [37] and previous research by Mortezaejad et al [12] that evaluated the effect of tDCS on fatigue (mean of 31.0 SD of 4.0). Considering an effect size of 0.80 and drop rate of 10%, a total sample size of 44 were required.

All data analyses were performed using the GraphPad Prism software version 8.0 for Mac (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). All tests were performed with a two tailed $p < 0.05$. Descriptive statistics were run as frequencies and percentages for categorical variables; means and standard deviations were calculated for the continuous variables.

Mean differences between groups with 95% confidence intervals (CI) and effect sizes were calculated for the primary and secondary outcomes. Adjustment for multiple comparisons was performed using Bonferroni correction. Chi-square tests were used to compare the number of clinically improved patients between the active and sham group. The effect size was measured in terms of odds ratios, and we estimated the number needed to treat (NNT) based on the odds ratios for clinical response.

In addition, we constructed mixed linear models controlling for age and baseline measures (anxiety, depression, and sleep disorder), since these factors are related to fatigue. We used the Hamilton Anxiety Rating Scale [34] and the Beck Depression Inventory [39] to assess anxiety and depression, respectively. Sleep quality was assessed with the Sleep Quality Scale [40]. Adverse events are expressed as counts and percentages and compared between groups using the χ^2 test.

Results

Participants

Out of 226 patients who were initially assessed for eligibility, 156 were excluded (135 did not meet eligibility criteria and 21 withdrew consent) (Fig. 2). The demographic characteristics and clinical variables were similar between groups at baseline (Table 1).

[INSERT FIGURE 2]

[INSERT TABLE 1]

Primary outcome

The active HD-tDCS group had significantly greater reduction in fatigue (mean group difference 14.03 points; effect size 1.2; 95% CI 7.78-20.28; $P < .001$) compared to the sham group at the end of the five-week intervention. MFIS subscale analyses found that the reduction in fatigue was found in both the cognitive (mean group difference 8.29 points; effect size 1.1; 95% CI 3.56-13.01; $P < .001$) and psychosocial subscales (mean group difference 2.37 points; effect size 1.2; 95% CI 1.34-3.40; $P < .001$). No difference was observed between groups on physical fatigue (mean group difference 0.71 points; effect size 0.1; 95% CI -4.47 -5.90; $P = .09$) (Table 2) (Fig 3).

[INSERT FIGURE 3]

[INSERT TABLE 2]

Secondary outcomes

The secondary outcomes were anxiety (HAM-A scores), quality of life (WHOQOL-bref scores) and pain (McGill scores). The mean differences favored the active group for anxiety (mean group difference 4.88; effect size 0.9; 95% CI 1.93-7.84; $P < .001$) and quality of life (mean group difference 14.80; effect size 0.7; 95% CI 7.87-21.73; $P < .001$) compared to sham group. For pain, there was no significant difference between groups (mean group difference -0.74; no effect size; 95% CI -3.66-5.14; $P = .09$) (Fig 4).

[INSERT FIGURE 4]

Results indicated that the proportion of clinically improved participants in the active group was significantly larger than in the sham group (77.14% vs 45.71%; NNT =3; odds ratio = 0.24; 95% CI, 0.08-0.70; $P < .001$).

Exploratory analysis

Our exploratory analysis showed that age, sleep disorder and depression were not predictors of response. Anxiety severity at baseline was associated with lower response ($P=0.3$). A significant regression equation was found ($F(7,54) = 17.40$, $P < .001$), with an adjusted R^2 of 0.69 (Table 3).

[INSERT TABLE 3]

Adverse effects

Skin redness was the only adverse event that differed significantly between groups: there were 37 occurrences in the active group compared to 13 in the sham group ($P < 0.001$). No serious adverse events were reported.

Discussion

This is the first randomized, double-blind, sham-controlled clinical trial assessing the efficacy of HD-tDCS for the treatment of PASC-related fatigue. Consistent with the larger HD-tDCS (with rehabilitation) literature, the intervention is well-tolerated [41,42]. We found that active vs. sham HD-tDCS sessions combined with the rehabilitation program resulted in significant fatigue reduction after the five-week intervention. Our results are encouraging because combining rehabilitation with HD-tDCS is feasible, well-tolerated and a potential useful treatment to many patients with fatigue.

There are several candidate mechanisms for tDCS benefit in fatigue. Previous reports documented that tDCS can induce neuroplastic after-effects and may exert a ‘top-down’ influence including along the ascending midbrain-thalamic-cingulate pathway through descending fibers from the motor cortex [43–45]. The therapeutic efficacy of tDCS is, at least partly, due to its capacity to induce neural plasticity in different clinical conditions [45–47]. Additionally, M1 stimulation has been used for treating fatigue [22,48], decreasing the threshold for perceived effort [23] and performance fatigability [15]. The suggested modulation of inflammatory processes by tDCS, either by direct brain stimulation [49,50] or top-down (vagal) processes, may be a parallel therapeutic mechanism [17,22]. As a further explanation of our study outcomes, rehabilitation programs are known to decrease sensation of fatigue accompanied by brain functional reorganization in the sensory-motor network [49–51] and tDCS enhances sensorimotor activities and plasticity [52,53].

Our effort build on decades of work indicating the potential for tDCS for range of neurological and psychiatric conditions[28,54–58] with symptoms relevant to PASC. Trials of 4x1 HD-tDCS has spanned cognitive dysfunction [59] and neuropsychiatric disorders[60,61], pain [62,63], motor learning[64], and exercise performance [65].

Adjuvant treatments to improve the effects of rehabilitation are challenging, mainly due to the heterogeneity and complexity of fatigue-related to PASC conditions. Therefore, the results of this trial may result in an important advance in the healthcare setting. HD-tDCS associated with the rehabilitation protocol is feasible to a real clinical scenario, since the protocol allows brain stimulation during rehabilitation procedures, without increasing the human resource costs (physiotherapy time). Taken together, HD-tDCS and rehabilitation improves the chances of recovery, offer incentives to treatment compliance and may have an impact on public health costs.

Improvements of anxiety and quality of life, but not pain, were also observed with active HD-tDCS. Anxiety is reported to be associated with fatigue on a broad range of clinical conditions [66,67]. Since frontal and central areas are dysfunctional after COVID-19 infection [68,69], modulation of motor targets could lead not only to changes in fatigue but also in anxiety. The effects of HD-tDCS indeed affect distinct cortical and subcortical circuits, which could influence both motor and cognitive areas [43,46]. Further studies are necessary to investigate whether changes in anxiety occur simultaneously to fatigue or if improvements in cognitive symptoms mediates PASC outcomes. There is evidence showing the relationship between PASC-related fatigue and quality of life [70,71]. In other clinical conditions, such as multiple sclerosis, for instance, the increase in neuronal activity following demyelination of some neurons, leads to deterioration of physical abilities, inducing fatigue and subsequently decreasing quality of life [12,71]. Therefore, the improvement of quality of life effect may be secondary to the effect of HD-tDCS on fatigue. Because patients had lower pain scores at

baseline their scores might have not improved after treatment (despite a sustained response) owing to a “ceiling effect”. Finally, given that both groups improved their fatigue, the rehabilitation program might have an effect that was augmented by the HD-tDCS, as suggested by previous studies [47,72,73].

Study limitations and opportunities should be underscored. First, acute phase parameters of COVID-19 and premorbid conditions are factors non controlled during the current study. Second, absence of MRI precludes computational models of the role of individual anatomy in brain electric field intensity, however use of 4x1 HD-tDCS ensures consistent spatial targeting across subjects [74,75]. Third, PASC is a multifactorial condition suggesting customized treatment strategies - to this end our inclusion of subjects with specific symptom profiles and application of indication-targeted HD-tDCS and rehabilitation is consistent with developing socialized interventions. Finally, notwithstanding high compliance in our ten protocol sessions, due the barriers associated with consecutive visits to clinic/hospital and considering the large number of people affected by PASC remotely supervised home-based tDCS can be considered (and is feasible) to investigate extended treatment protocols [17,76–78].

Conclusion

In this sham-controlled randomized trial, we found that 10 sessions of M1 HD-tDCS paired with a rehabilitation program led to significant reduction of PASC-related fatigue. Although strengths of our study are the relatively large sample size and also its pragmatic aspect, enrolling “real-world” fatigued patients that present mixed symptoms, further studies should acknowledge the specifically effects of treatment on patients with higher pain level and physical impairment related to fatigue to consolidate these exploratory findings. These findings

along with the low cost of the therapy and its tolerability suggests its potential application in the clinical practice for the treatment of PASC.

Journal Pre-proof

REFERENCES

- [1] Parker AM, Brigham E, Connolly B, McPeake J, Agranovich AV, Kenes MT, et al. Addressing the post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection: a multidisciplinary model of care. *The Lancet Respiratory Medicine* 2021;9:1328–41. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00385-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00385-4).
- [2] Logue JK, Franko NM, McCulloch DJ, McDonald D, Magedson A, Wolf CR, et al. Sequelae in Adults at 6 Months After COVID-19 Infection. *JAMA Netw Open* 2021;4:e210830. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.0830>.
- [3] Maltezou HC, Pavli A, Tsakris A. Post-COVID Syndrome: An Insight on Its Pathogenesis. *Vaccines* 2021;9:497. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050497>.
- [4] Brown K, Yahyouche A, Haroon S, Camaradou J, Turner G. Long COVID and self-management. *The Lancet* 2022;399:355. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02798-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02798-7).
- [5] Woods AJ, Antal A, Bikson M, Boggio PS, Brunoni AR, Celnik P, et al. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clin Neurophysiol* 2016;127:1031–48. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.11.012>.
- [6] Villamar MF, Volz MS, Bikson M, Datta A, DaSilva AF, Fregni F. Technique and Considerations in the Use of 4x1 Ring High-definition Transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS). *JoVE* 2013;50309. <https://doi.org/10.3791/50309>.
- [7] Datta A, Bansal V, Diaz J, Patel J, Reato D, Bikson M. Gyri-precise head model of transcranial direct current stimulation: improved spatial focality using a ring electrode versus conventional rectangular pad. *Brain Stimul* 2009;2:201–7, 207.e1. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2009.03.005>.
- [8] Dmochowski JP, Datta A, Bikson M, Su Y, Parra LC. Optimized multi-electrode stimulation increases focality and intensity at target. *J Neural Eng* 2011;8:046011. <https://doi.org/10.1088/1741-2560/8/4/046011>.
- [9] Andrade SM, Cecília de Araújo Silvestre M, Tenório de França EÉ, Bezerra Sales Queiroz MH, de Jesus Santana K, Lima Holmes Madruga ML, et al. Efficacy and safety of HD-tDCS and respiratory rehabilitation for critically ill patients with COVID-19 The HD-RECOVERY randomized clinical trial. *Brain Stimulation* 2022;15:780–8. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.006>.
- [10] Czura CJ, Bikson M, Charvet L, Chen JDZ, Franke M, Fudim M, et al. Neuromodulation Strategies to Reduce Inflammation and Improve Lung Complications in COVID-19 Patients. *Front Neurol* 2022;13:897124. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.897124>.
- [11] Lefaucheur J-P, Chalah MA, Mhalla A, Palm U, Ayache SS, Mylius V. The treatment of fatigue by non-invasive brain stimulation. *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology* 2017;47:173–84. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2017.03.003>.
- [12] Mortezaejad M, Ehsani F, Masoudian N, Zoghi M, Jaberzadeh S. Comparing the effects of multi-session anodal trans-cranial direct current stimulation of primary motor and dorsolateral prefrontal cortices on fatigue and quality of life in patients with multiple sclerosis: a double-blind, randomized, sham-controlled trial. *Clin Rehabil* 2020;34:1103–11. <https://doi.org/10.1177/0269215520921506>.
- [13] Azabou E, Bao G, Bounab R, Heming N, Annane D. Vagus Nerve Stimulation: A Potential Adjunct Therapy for COVID-19. *Front Med* 2021;8:625836. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.625836>.
- [14] Tecchio F, Cancelli A, Cottone C, Zito G, Pasqualetti P, Ghazaryan A, et al. Multiple sclerosis fatigue relief by bilateral somatosensory cortex neuromodulation. *J Neurol* 2014;261:1552–8. <https://doi.org/10.1007/s00415-014-7377-9>.
- [15] Workman C, Boles-Ponto L, Kamholz J, Bryant A, Rudroff T. Transcranial Direct Current Stimulation and Post-COVID-19-Fatigue. *Brain Stimulation* 2021;14:1672–3. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.10.268>.
- [16] Baptista AF, Baltar A, Okano AH, Moreira A, Campos ACP, Fernandes AM, et al. Applications of Non-invasive Neuromodulation for the Management of Disorders

- Related to COVID-19. *Front Neurol* 2020;11:573718.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2020.573718>.
- [17] Pilloni G, Bikson M, Badran BW, George MS, Kautz SA, Okano AH, et al. Update on the Use of Transcranial Electrical Brain Stimulation to Manage Acute and Chronic COVID-19 Symptoms. *Front Hum Neurosci* 2020;14:595567.
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.595567>.
- [18] Ortelli P, Ferrazzoli D, Sebastianelli L, Engl M, Romanello R, Nardone R, et al. Neuropsychological and neurophysiological correlates of fatigue in post-acute patients with neurological manifestations of COVID-19: Insights into a challenging symptom. *Journal of the Neurological Sciences* 2021;420:117271.
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117271>.
- [19] Ortelli P, Ferrazzoli D, Sebastianelli L, Maestri R, Dezi S, Spampinato D, et al. Altered motor cortex physiology and dysexecutive syndrome in patients with fatigue and cognitive difficulties after mild COVID-19. *Euro J of Neurology* 2022;29:1652–62.
<https://doi.org/10.1111/ene.15278>.
- [20] Jiang Y, Guo Z, McClure MA, He L, Mu Q. Effect of rTMS on Parkinson's cognitive function: a systematic review and meta-analysis. *BMC Neurol* 2020;20:377.
<https://doi.org/10.1186/s12883-020-01953-4>.
- [21] Di Lazzaro V, Oliviero A, Tonali PA, Mazzone P, Insola A, Pilato F, et al. Direct demonstration of reduction of the output of the human motor cortex induced by a fatiguing muscle contraction. *Exp Brain Res* 2003;149:535–8.
<https://doi.org/10.1007/s00221-003-1408-6>.
- [22] Ferrucci R, Vergari M, Cogiamanian F, Bocci T, Ciocca M, Tomasini E, et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) for fatigue in multiple sclerosis. *NRE* 2014;34:121–7. <https://doi.org/10.3233/NRE-131019>.
- [23] De Doncker W, Ondobaka S, Kuppuswamy A. Effect of transcranial direct current stimulation on post-stroke fatigue. *J Neurol* 2021;268:2831–42.
<https://doi.org/10.1007/s00415-021-10442-8>.
- [24] <http://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/long-term-effects.html> n.d.
- [25] Herrera JE, Niehaus WN, Whiteson J, Azola A, Baratta JM, Fleming TK, et al. MULTIDISCIPLINARY collaborative consensus guidance statement on the assessment and treatment of fatigue in POSTACUTE sequelae of SARS-CoV -2 infection (PASC) patients. *PM&R* 2021;13:1027–43. <https://doi.org/10.1002/pmrj.12684>.
- [26] Mikkelsen M, Abramoff B. COVID-19: Evaluation and management of adults with persistent symptoms following acute illness ("Long COVID") 2022.
- [27] Shahid A, Wilkinson K, Marcu S, Shapiro CM. Beck Depression Inventory. In: Shahid A, Wilkinson K, Marcu S, Shapiro CM, editors. *STOP, THAT and One Hundred Other Sleep Scales*, New York, NY: Springer New York; 2011, p. 63–4.
https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9893-4_8.
- [28] Kuo M-F, Chen P-S, Nitsche MA. The application of tDCS for the treatment of psychiatric diseases. *International Review of Psychiatry* 2017;29:146–67.
<https://doi.org/10.1080/09540261.2017.1286299>.
- [29] Kuo H-I, Bikson M, Datta A, Minhas P, Paulus W, Kuo M-F, et al. Comparing Cortical Plasticity Induced by Conventional and High-Definition 4 × 1 Ring tDCS: A Neurophysiological Study. *Brain Stimulation* 2013;6:644–8.
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2012.09.010>.
- [30] Reckow J, Rahman-Filipiak A, Garcia S, Schlaeflin S, Calhoun O, DaSilva AF, et al. Tolerability and blinding of 4x1 high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) at two and three milliamps. *Brain Stimulation* 2018;11:991–7.
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.04.022>.
- [31] Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 1982;14:377–81.
- [32] Therapeutic patient education : continuing education programmes for health care providers in the field of prevention of chronic diseases : report of a WHO working group n.d.

- [33] Fisk JD, Ritvo PG, Ross L, Haase DA, Marrie TJ, Schlech WF. Measuring the Functional Impact of Fatigue: Initial Validation of the Fatigue Impact Scale. *Clinical Infectious Diseases* 1994;18:S79–83. https://doi.org/10.1093/clinids/18.Supplement_1.S79.
- [34] Maier W, Buller R, Philipp M, Heuser I. The Hamilton Anxiety Scale: reliability, validity and sensitivity to change in anxiety and depressive disorders. *Journal of Affective Disorders* 1988;14:61–8. [https://doi.org/10.1016/0165-0327\(88\)90072-9](https://doi.org/10.1016/0165-0327(88)90072-9).
- [35] The Whoqol Group. Development of the World Health Organization WHOQOL-BREF Quality of Life Assessment. *Psychol Med* 1998;28:551–8. <https://doi.org/10.1017/S0033291798006667>.
- [36] Melzack R. The McGill Pain Questionnaire: Major properties and scoring methods: *Pain* 1975;1:277–99. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(75\)90044-5](https://doi.org/10.1016/0304-3959(75)90044-5).
- [37] Cozart JS, Strober L, Ruppen S, Bradish T, Belcher C, Louthan T, et al. A quick assessment of reliable change in fatigue: Reliable change indices of the modified fatigue impact scale – 5 item (MFIS-5). *Multiple Sclerosis and Related Disorders* 2021;49:102743. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2021.102743>.
- [38] Brunoni AR, Amadera J, Berbel B, Volz MS, Rizzerio BG, Fregni F. A systematic review on reporting and assessment of adverse effects associated with transcranial direct current stimulation. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2011;14:1133–45. <https://doi.org/10.1017/S1461145710001690>.
- [39] Beck AT. An Inventory for Measuring Depression. *Arch Gen Psychiatry* 1961;4:561. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1961.01710120031004>.
- [40] Mulder-Hajonides van der Meulen W, Wijnberg J, Hollander J et al. Measurement of subjective sleep quality. *European Sleep Research Society* 1980;5:98. n.d.
- [41] Richardson J, Datta A, Dmochowski J, Parra LC, Fridriksson J. Feasibility of using high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) to enhance treatment outcomes in persons with aphasia. *NeuroRehabilitation* 2015;36:115–26. <https://doi.org/10.3233/NRE-141199>.
- [42] Jacquemin L, Shekhawat GS, Van de Heyning P, Mertens G, Fransen E, Van Rompaey V, et al. Effects of Electrical Stimulation in Tinnitus Patients: Conventional Versus High-Definition tDCS. *Neurorehabil Neural Repair* 2018;32:714–23. <https://doi.org/10.1177/1545968318787916>.
- [43] Keeser D, Meindl T, Bor J, Palm U, Pogarell O, Mulert C, et al. Prefrontal Transcranial Direct Current Stimulation Changes Connectivity of Resting-State Networks during fMRI. *Journal of Neuroscience* 2011;31:15284–93. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0542-11.2011>.
- [44] Nitsche MA, Fricke K, Henschke U, Schlitterlau A, Liebetanz D, Lang N, et al. Pharmacological Modulation of Cortical Excitability Shifts Induced by Transcranial Direct Current Stimulation in Humans. *The Journal of Physiology* 2003;553:293–301. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049916>.
- [45] Hordacre B, Moezzi B, Ridding MC. Neuroplasticity and network connectivity of the motor cortex following stroke: A transcranial direct current stimulation study. *Hum Brain Mapp* 2018;39:3326–39. <https://doi.org/10.1002/hbm.24079>.
- [46] Park C, Chang WH, Park J-Y, Shin Y-I, Kim ST, Kim Y-H. Transcranial direct current stimulation increases resting state interhemispheric connectivity. *Neuroscience Letters* 2013;539:7–10. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.01.047>.
- [47] Andrade SM, Ferreira JJ de A, Rufino TS, Medeiros G, Brito JD, da Silva MA, et al. Effects of different montages of transcranial direct current stimulation on the risk of falls and lower limb function after stroke. *Neurological Research* 2017;39:1037–43. <https://doi.org/10.1080/01616412.2017.1371473>.
- [48] Piloni G, Choi C, Shaw M, et al. Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) can Reduce Fatigue and Improve Sleep Quality in Multiple Sclerosis (3961) *Neurology* Apr 2020, 94 (15 Supplement) 3961; n.d.
- [49] Tavazzi L, Gattone M, Corra U, De Vito F. The anaerobic index: Uses and limitations in the assessment of heart failure. *CARDIOLOGY* 1989;76:357–67.

- [50] Prosperini L, Piattella MC, Giannì C, Pantano P. Functional and Structural Brain Plasticity Enhanced by Motor and Cognitive Rehabilitation in Multiple Sclerosis. *Neural Plasticity* 2015;2015:1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/481574>.
- [51] Foong R, Ang KK, Quek C, Guan C, Phua KS, Kuah CWK, et al. Assessment of the Efficacy of EEG-Based MI-BCI With Visual Feedback and EEG Correlates of Mental Fatigue for Upper-Limb Stroke Rehabilitation. *IEEE Trans Biomed Eng* 2020;67:786–95. <https://doi.org/10.1109/TBME.2019.2921198>.
- [52] Hong X, Lu ZK, Teh I, Nasrallah FA, Teo WP, Ang KK, et al. Brain plasticity following MI-BCI training combined with tDCS in a randomized trial in chronic subcortical stroke subjects: a preliminary study. *Sci Rep* 2017;7:9222. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08928-5>.
- [53] Andrade SM, Machado DG da S, Silva-Sauerc L da, Regis CT, Mendes CKTT, de Araújo JSS, et al. Effects of multisite anodal transcranial direct current stimulation combined with cognitive stimulation in patients with Alzheimer's disease and its neurophysiological correlates: A double-blind randomized clinical trial. *Neurophysiologie Clinique* 2022;52:117–27. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2022.02.003>.
- [54] Fregni F, El-Hagrassy MM, Pacheco-Barrios K, Carvalho S, Leite J, Simis M, et al. Evidence-Based Guidelines and Secondary Meta-Analysis for the Use of Transcranial Direct Current Stimulation in Neurological and Psychiatric Disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2021;24:256–313. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyaa051>.
- [55] Brunoni AR, Moffa AH, Sampaio-Junior B, Borriore L, Moreno ML, Fernandes RA, et al. Trial of Electrical Direct-Current Therapy versus Escitalopram for Depression. *N Engl J Med* 2017;376:2523–33. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1612999>.
- [56] Antal A, Alekseichuk I, Bikson M, Brockmüller J, Brunoni AR, Chen R, et al. Low intensity transcranial electric stimulation: Safety, ethical, legal regulatory and application guidelines. *Clin Neurophysiol* 2017;128:1774–809. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.06.001>.
- [57] Fregni F, Nitsche MA, Loo CK, Brunoni AR, Marangolo P, Leite J, et al. Regulatory Considerations for the Clinical and Research Use of Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): review and recommendations from an expert panel. *Clin Res Regul Aff* 2015;32:22–35. <https://doi.org/10.3109/10601333.2015.980944>.
- [58] Brunoni AR, Nitsche MA, Bolognini N, Bikson M, Wagner T, Merabet L, et al. Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): challenges and future directions. *Brain Stimul* 2012;5:175–95. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2011.03.002>.
- [59] Tedla JS, Sangadala DR, Reddy RS, Gular K, Dixit S. High-definition trans cranial direct current stimulation and its effects on cognitive function: a systematic review. *Cereb Cortex* 2022:bhac485. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhac485>.
- [60] Masina F, Arcara G, Galletti E, Cinque I, Gamberini L, Mapelli D. Neurophysiological and behavioural effects of conventional and high definition tDCS. *Sci Rep* 2021;11:7659. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87371-z>.
- [61] Parlikar R, Vanteemar S S, Shivakumar V, Narayanaswamy C. J, Rao P. N, Ganesan V. High definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS): A systematic review on the treatment of neuropsychiatric disorders. *Asian Journal of Psychiatry* 2021;56:102542. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2020.102542>.
- [62] Castillo-Saavedra L, Gebodh N, Bikson M, Diaz-Cruz C, Brandao R, Coutinho L, et al. Clinically Effective Treatment of Fibromyalgia Pain With High-Definition Transcranial Direct Current Stimulation: Phase II Open-Label Dose Optimization. *J Pain* 2016;17:14–26. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2015.09.009>.
- [63] Flood A, Waddington G, Keegan RJ, Thompson KG, Cathcart S. The effects of elevated pain inhibition on endurance exercise performance. *PeerJ* 2017;5:e3028. <https://doi.org/10.7717/peerj.3028>.

- [64] Cole L, Giuffre A, Ciechanski P, Carlson HL, Zewdie E, Kuo H-C, et al. Effects of High-Definition and Conventional Transcranial Direct-Current Stimulation on Motor Learning in Children. *Front Neurosci* 2018;12:787. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00787>.
- [65] da Silva Machado DG, Bikson M, Datta A, Caparelli-Dáquer E, Unal G, Baptista AF, et al. Acute effect of high-definition and conventional tDCS on exercise performance and psychophysiological responses in endurance athletes: a randomized controlled trial. *Sci Rep* 2021;11:13911. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92670-6>.
- [66] Goërtz YMJ, Braamse AMJ, Spruit MA, Janssen DJA, Ebadi Z, Van Herck M, et al. Fatigue in patients with chronic disease: results from the population-based Lifelines Cohort Study. *Sci Rep* 2021;11:20977. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00337-z>.
- [67] ALSaeed S, Aljouee T, Alkhawajah NM, Alarieh R, AlGarni H, Aljarallah S, et al. Fatigue, Depression, and Anxiety Among Ambulating Multiple Sclerosis Patients. *Front Immunol* 2022;13:844461. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.844461>.
- [68] Douaud G, Lee S, Alfaro-Almagro F, Arthofer C, Wang C, McCarthy P, et al. SARS-CoV-2 is associated with changes in brain structure in UK Biobank n.d.:55.
- [69] Silva LS, Joao RB, Nogueira MH, Aventurato IK, de Campos BM, de Brito MR, et al. Functional and microstructural brain abnormalities, fatigue, and cognitive dysfunction after mild COVID-19. *Neurology*; 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.03.20.21253414>.
- [70] Malik P, Patel K, Pinto C, Jaiswal R, Tirupathi R, Pillai S, et al. Post-acute COVID-19 syndrome (PCS) and health-related quality of life (HRQoL)—A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol* 2022;94:253–62. <https://doi.org/10.1002/jmv.27309>.
- [71] Turpin KVL, Carroll LJ, Cassidy JD, Hader WJ. Deterioration in the health-related quality of life of persons with multiple sclerosis: the possible warning signs. *Mult Scler* 2007;13:1038–45. <https://doi.org/10.1177/1352458507078393>.
- [72] Manenti R, Cotelli MS, Cobelli C, Gobbi E, Brambilla M, Rusich D, et al. Transcranial direct current stimulation combined with cognitive training for the treatment of Parkinson Disease: A randomized, placebo-controlled study. *Brain Stimulation* 2018;11:1251–62. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.07.046>.
- [73] Schabrun SM, Lamont RM, Brauer SG. Transcranial Direct Current Stimulation to Enhance Dual-Task Gait Training in Parkinson's Disease: A Pilot RCT. *PLoS ONE* 2016;11:e0158497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158497>.
- [74] Datta A, Truong D, Minhas P, Parra LC, Bikson M. Inter-Individual Variation during Transcranial Direct Current Stimulation and Normalization of Dose Using MRI-Derived Computational Models. *Front Psychiatry* 2012;3:91. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00091>.
- [75] Edwards D, Cortes M, Datta A, Minhas P, Wassermann EM, Bikson M. Physiological and modeling evidence for focal transcranial electrical brain stimulation in humans: A basis for high-definition tDCS. *NeuroImage* 2013;74:266–75. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.01.042>.
- [76] Palm U, Kumpf U, Behler N, Wulf L, Kirsch B, Wörsching J, et al. Home Use, Remotely Supervised, and Remotely Controlled Transcranial Direct Current Stimulation: A Systematic Review of the Available Evidence. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface* 2018;21:323–33. <https://doi.org/10.1111/ner.12686>.
- [77] Pilloni G, Vogel-Eyny A, Lustberg M, Best P, Malik M, Walton-Masters L, et al. Tolerability and feasibility of at-home remotely supervised transcranial direct current stimulation (RS-tDCS): Single-center evidence from 6,779 sessions. *Brain Stimulation* 2022;15:707–16. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.04.014>.
- [78] Tecchio F, Cancelli A, Pizzichino A, L'Abbate T, Gianni E, Bertoli M, et al. Home treatment against fatigue in multiple sclerosis by a personalized, bilateral whole-body somatosensory cortex stimulation. *Mult Scler Relat Disord* 2022;63:103813. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2022.103813>.

TABLES

Table 1. Demographics and clinical characteristics of participants in baseline

	Group		P value
	Active (n=35)	Sham (n=35)	
Age ^a , years	51.63 [15.87]	54.46 [19.01]	0.50
Women, No. [%]	24 [69]	21 [60]	0.45
Comorbidities, No. [%]			
Hypertension	5 [14]	7 [20]	0.45
Chronic heart disease	3 [9]	2 [5]	0.64
Pulmonary disease	4 [11]	0 [0]	0.04
Diabetes	6 [17]	4 [11]	0.49
Rheumatic disease	3 [9]	2 [6]	0.64
Acute Phase Characteristics, No. [%]			

Asymptomatic	3 [9]	3 [9]	1.00 ^c
Home-isolated with symptoms	25 [71]	26 [74]	0.79 ^c
Hospitalized needing O2	2 [6]	3 [9]	0.64 ^c
Hospitalized needing NIV	4 [11]	2 [6]	0.39 ^c
Hospitalized needing respirator	3 [9]	4 [11]	0.69 ^c
Length of hospital stay^a	2.86 [8.14]	3.34 [11.32]	0.84 ^b
Long COVID Symptoms, No. [%]			
Headache	12 [34]	9 [26]	0.43 ^c
Weakness	19 [54]	16 [46]	0.47 ^c
Sleep difficulty	15 [43]	12 [34]	0.46 ^c
Cough	22 [63]	15 [43]	0.09 ^c
Gastrointestinal symptoms	14 [40]	11 [31]	0.45 ^c

Breathlessness	14 [40]	17 [49]	0.47 ^c
-----------------------	---------	---------	-------------------

^a Continuous variables are presented as mean (SD) unless otherwise indicated.

^b Chi-square analysis

^c Independent t-test analysis

No. or n= number of participants; NIV: Non-Invasive Ventilation

Table 2. Clinical Outcomes

Variables	Group		ANOVA [F(1,68)/ P value]		
			Acute treatment period		
	Active (n=35)	Sham (n=35)	Active vs Sham	Time effects	Time × group interaction
<i>Primary Outcome^a</i>					
<i>MFIS-Cognitive</i>					
Baseline	31.60 [9.10]	33.66 [8.27]			
Week 5	17.14 [8.7]	26.46 [7.56]	7,82/ 0.0067 ^b	115,8/ 0.0001	10,56/ 0.0018
<i>MFIS-Psychosocial</i>					
Baseline	6.54 [2.05]	5.91 [1.67]			
Week 5	2.66 [2.14]	5.03 [1.67]	26,58/ 0.0237 ^b	199,2/ 0.001	78,75/ 0.001

<i>MFIS-Physical</i>					
Baseline	19.03 [10.97]	18.23 [9.66]			
Week 5	15.26 [8.70]	15.97 [8.61]	0.000/ 0.985	28.93/ 0.001	1.82/ 0.181
<i>MFIS total</i>					
Baseline	57.17 [14.95]	57.8 [7.91]			
Week 5	35.06 [12.22]	47.46 [8.48]	9.69/ 0.0027 ^b	140.8/ 0.001	21.76/ 0.001
<i>Secondary Outcomes^a</i>					
<i>McGill Questionnaire</i>					
Baseline	11.8 [11.39]	10.94 [9.03]			
Week 5	7.46 [6.04]	8.49 [5.95]	0.06/ 0.801	6.46/ 0.013	0.11/ 0.740
<i>HAM-A</i>					
Baseline	25.93 [5.98]	25.95 [4.75]			
Week 5	18.66 [5.84]	23.57 [5.19]	4.55/ 0.036 ^b	60.74/ 0.0001	15.37/ 0.0002
<i>WHOQoL-bref</i>					
Baseline	57.51 [12.60]	59.71[13.32]			
Week 5	80.89 [12.10]	66.09 [13.24]	5.49/ 0.022 ^b	101.9/ 0.0001	33.28/ 0.0001

^a Continuous variables are presented as mean (SD).

^b Statistically significant

n= number of participants; MFIS = Modified Fatigue Impact Scale; HAM-A = Hamilton anxiety rating scale; WHOQoL-brief = World Health Organization quality of life questionnaire (brief version)

Table 3. Multiple linear regression results with the change in MFIS as the outcome variable

	Beta coefficient	95% CI	P value
Intercept	58.84	45.32 to 72.37	<0.0001 ^a
Group	-14.22	-17.96 to -10.49	<0.0001 ^a
Age	-0.08	-0.23 to 0.07	0.29
Sleep difficulty	-0.01	-0.54 to 0.51	0.96
Depression	-0.26	-0.62 to 0.10	0.15
Anxiety	-0.46	-0.89 to -0.03	0.04 ^a

Table includes beta coefficients, 95% confidence intervals and the associated p values for each predictor

MFIS = Modified Fatigue Impact Scale

^a Statistically significant

CI confidence interval

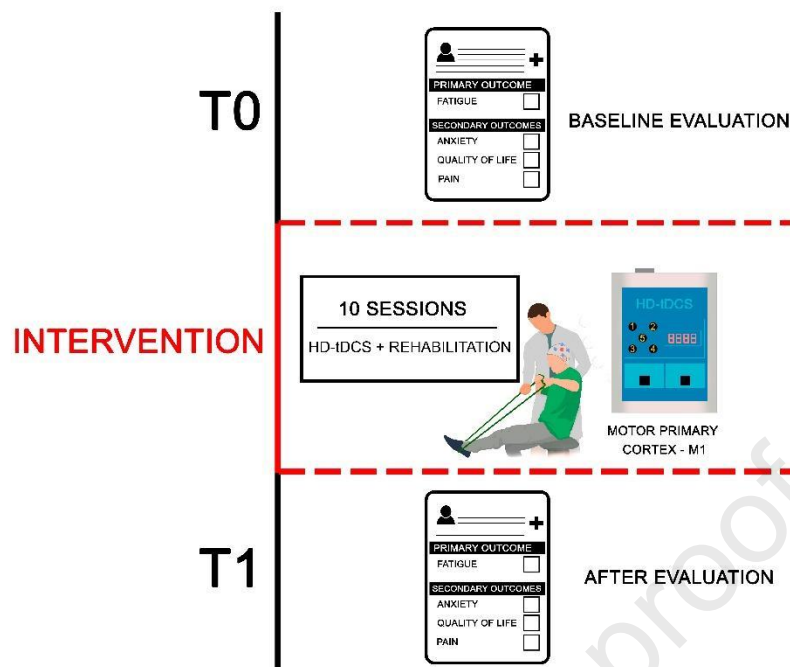


Figure 1. Experimental design of HD-tDCS plus rehabilitation program for fatigue in Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 (PASC). The treatment protocol was composed by 10 sessions of HD-tDCS associated to rehabilitation program. The primary and secondary outcomes were measured at the baseline (T0) and at the endpoint (T1). HD-tDCS =High-Definition transcranial Direct Current Stimulation.

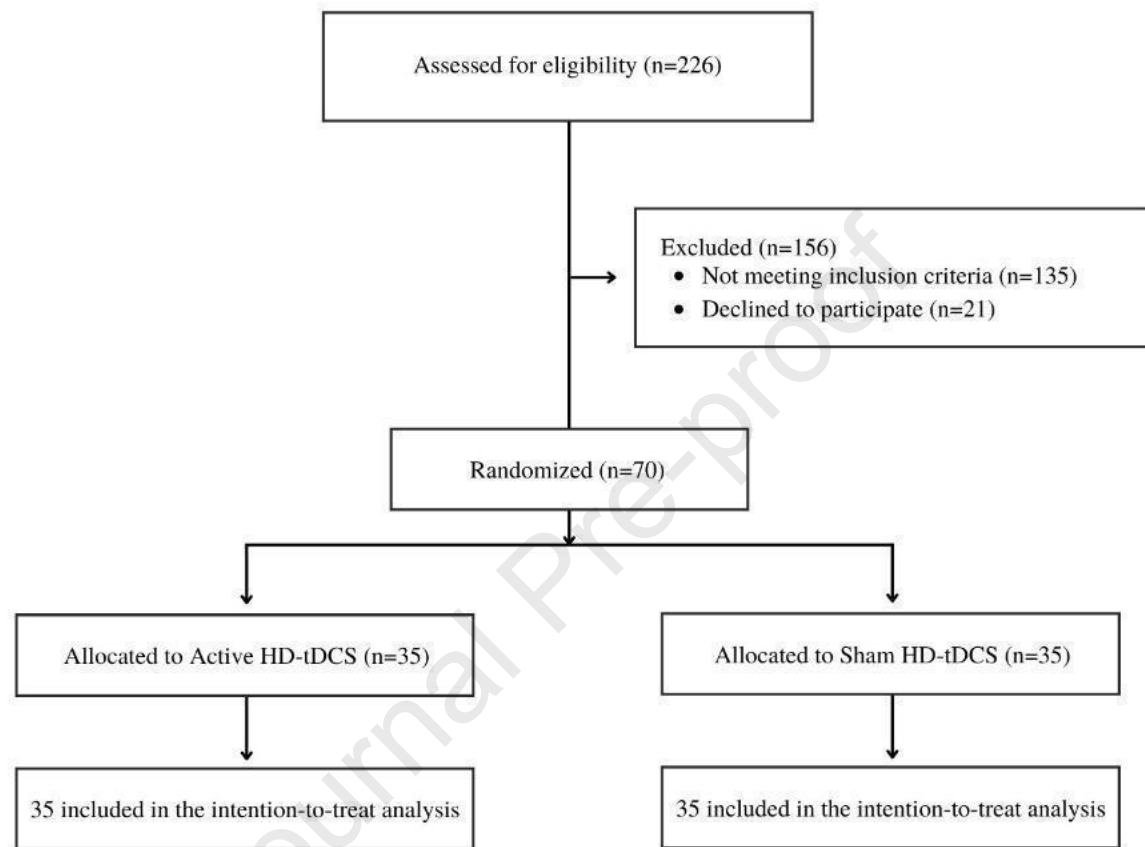


Figure 2. Screening, Randomization, and Follow-up of Patients in the HD-RECOVERY trial.

HD-tDCS =High-Definition transcranial Direct Current Stimulation.

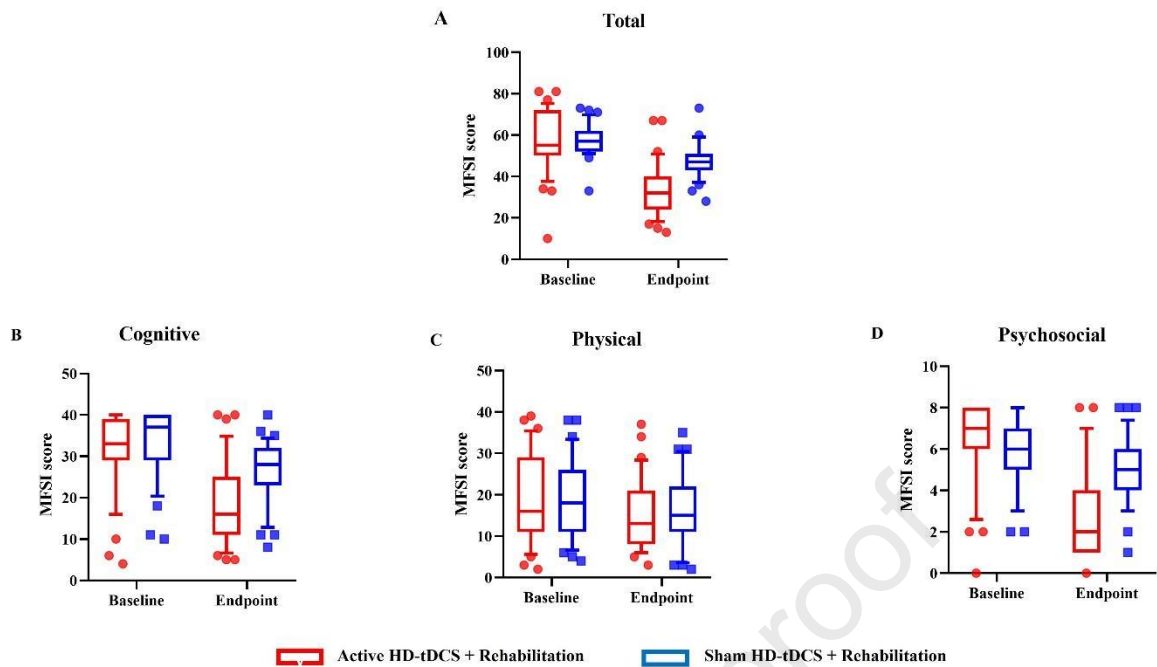


Figure 3. Primary fatigue Outcomes of HD-tDCS plus rehabilitation program in Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 (PASC). Boxplots presenting changes in fatigue severity, (A) and regarding to cognitive, (B) psychosocial, (C) and physical fatigue domains, (D) from baseline to endpoint (week 5). A MFIS score reduction represents decrease fatigue severity after treatment. The HD-tDCS plus rehabilitation program on fatigue ratings were greater for the active group than for the sham group (fatigue total, cognitive and psychosocial domains). No significant effect was observed for physical fatigue between the two groups. MFIS = Modified Fatigue Impact Scale; HD-tDCS = High-Definition transcranial Direct Current Stimulation.

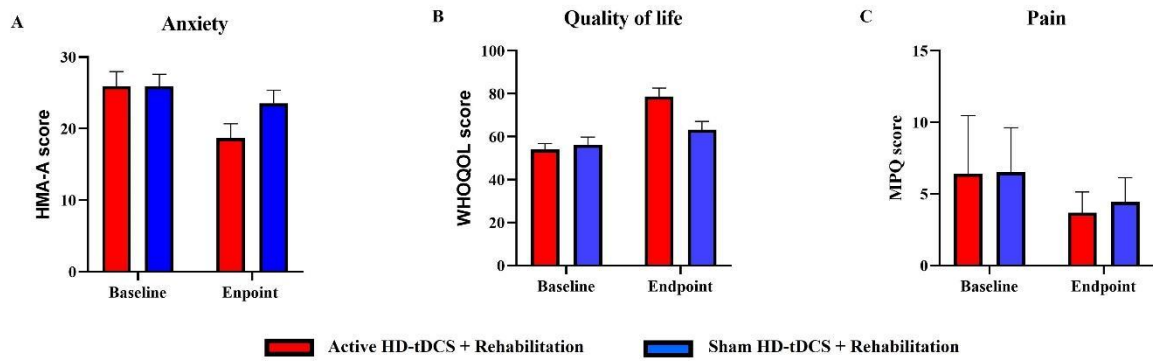


Figure 4. Secondary Outcomes. Panels showing changes in anxiety severity, A, quality of life, B and pain level, C from baseline to endpoint (week 5). Compared with sham group, the effect of attenuating anxiety symptoms and improve quality of life ratings were marginally greater for the active group. There was no statistically significant difference between the treatment groups in pain change. HAM-A = Hamilton anxiety rating scale; WHOQol-brief = World Health Organization quality of life questionnaire (brief version); MPQ = McGill Pain Questionnaire HD-tDCS = High-definition transcranial direct current stimulation.

Highlights

- Ten sessions of HD tDCS and rehabilitation program decreases symptoms associated with post-acute sequelae of COVID-19 (PASC)
- M1 HD tDCS modulates fatigue, anxiety, and quality of life on PASC-related fatigue
- HD tDCS might be used as adjuvant therapeutic tool for PASC-related fatigue

Declaration of interests

☐ The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

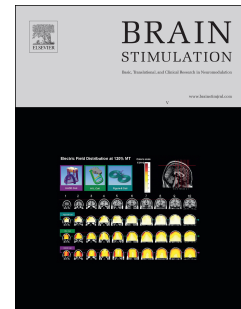
☒ The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests:

The City University of New York holds patents on brain stimulation with MB as inventor. MB has equity in Soterix Medical Inc. MB consults, received grants, assigned inventions, and/or serves on the SAB of SafeToddles, Boston Scientific, GlaxoSmithKline, Biophysics, Mecta, Lumenis, Halo Neuroscience, Google-X, i-Lumen, Humm, Allergan (Abbvie), Apple. AD is an employee and has equity in Soterix Medical Inc.

Journal Pre-proof

Efficacy and safety of HD-tDCS and respiratory rehabilitation for critically ill patients with COVID-19 The HD-RECOVERY randomized clinical trial

Suellen Marinho Andrade, Maria Cecília de Araújo Silvestre, Eduardo Ériko Tenório de França, Maria Heloísa Bezerra Sales Queiroz, Kelly de Jesus Santana, Marcela Lais Lima Holmes Madruga, Cristina Katya Torres Teixeira Mendes, Eliane Araújo de Oliveira, João Felipe Bezerra, Renata Gomes Barreto, Silmara Maria Alves Fernandes da Silva, Thais Alves de Sousa, Wendy Chrystyan Medeiros de Sousa, Mariana Patrícia da Silva, Vanessa Meira Cintra Ribeiro, Paulo Lucena, Daniel Beltrammi, Rodrigo Ramos Catharino, Egas Caparelli-Dáquer, Benjamin M. Hampstead, Abhishek Datta, Antonio Lucio Teixeira, Bernardino Fernández-Calvo, João Ricardo Sato, Marom Bikson



PII: S1935-861X(22)00085-7

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.006>

Reference: BRS 2183

To appear in: *Brain Stimulation*

Received Date: 9 March 2022

Revised Date: 19 April 2022

Accepted Date: 5 May 2022

Please cite this article as: Andrade SM, Cecília de Araújo Silvestre M, Tenório de França EduardoÉ, Bezerra Sales Queiroz MariaHeloí, de Jesus Santana K, Lima Holmes Madruga ML, Torres Teixeira Mendes CK, Araújo de Oliveira E, Bezerra JoãoFelipe, Barreto RG, Alves Fernandes da Silva SM, Alves de Sousa T, Medeiros de Sousa WC, Patrícia da Silva M, Cintra Ribeiro VM, Lucena P, Beltrammi D, Catharino RR, Caparelli-Dáquer E, Hampstead BM, Datta A, Teixeira AL, Fernández-Calvo B, Sato JoãoRicardo, Bikson M, Efficacy and safety of HD-tDCS and respiratory rehabilitation for critically ill patients with COVID-19 The HD-RECOVERY randomized clinical trial, *Brain Stimulation* (2022), doi: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.006>.

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published

in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2022 Published by Elsevier Inc.

Credit Author Statement

SM: designed the experiment, performed data analysis, prepared the manuscript and figures. MS: performed the clinical experiments and data analysis. EF, AD: designed the experiment. MQ, KS, MM, SS, TS, WS, MDS: performed the clinical experiments, prepared the manuscript and figures. CM, EO, JB, RB, VR, PL, DB, RC, ECD, BH, AT, BFC: designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. JS: performed the data analysis and conducted critical revision of the manuscript. MB: designed the experiment and prepared the manuscript.

Efficacy and Safety of HD-tDCS and Respiratory Rehabilitation for Critically Ill Patients with COVID-19

The HD-RECOVERY Randomized Clinical Trial

Suellen Marinho Andrade, PhD^{1*}; Maria Cecília de Araújo Silvestre, MSc¹; Eduardo Ériko Tenório de França, PhD²; Maria Heloísa Bezerra Sales Queiroz¹, BSc; Kelly de Jesus Santana¹, BSc; Marcela Lais Lima Holmes Madruga ¹ BSc; Cristina Katya Torres Teixeira Mendes, PhD¹; Eliane Araújo de Oliveira, PhD¹; João Felipe Bezerra¹, PhD; Renata Gomes Barreto, BSc.¹; Silmara Maria Alves Fernandes da Silva, Bsc¹; Thais Alves de Sousa, BSc¹; Wendy Chrystyan Medeiros de Sousa, BSc.¹; Mariana Patrícia da Silva, Bsc¹; Vanessa Meira Cintra Ribeiro, MSc²; Paulo Lucena, MD, PhD²; Daniel Beltrammi, MD, PhD²; Rodrigo Ramos Catharino³, PhD; Egas Caparelli-Dáquer, MD, PhD⁴; Benjamin M. Hampstead, PhD⁵; Abhishek Datta, PhD⁶; Antonio Lucio Teixeira, MD, PhD⁷; Bernardino Fernández-Calvo, PhD^{8,9}; João Ricardo Sato, PhD¹⁰; Marom Bikson, PhD⁶.

¹ Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil.

² Health Secretary, Government of Paraíba, João Pessoa, Brazil.

³ Thomson Mass Spectrometry Laboratory, Institute of Chemistry, State University of Campinas, UNICAMP, Campinas, SP, Brazil.

⁴ Nervous System Electric Stimulation Lab, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil.

⁵ Research Program on Cognition and Neuromodulation Based Interventions, Department of Psychiatry, University of Michigan & Mental Health Service, VA Ann Arbor Healthcare System, Ann Arbor, Ann Arbor, United States.

⁶ Department of Biomedical Engineering, The City College of New York of CUNY, New York, United States.

⁷ Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, McGovern Medical School, University of Texas Health Science Center, Houston, United States.

⁸ Department of Psychology, University of Cordoba, Cordoba, Spain.

⁹ Maimonides Biomedical Research Institute of Cordoba (IMIBIC), Reina Sofia University Hospital, University of Cordoba, Cordoba, Spain.

¹⁰ Center of Mathematics, Computing and Cognition. Federal University of ABC, Santo André, Brazil.

*Corresponding Author: Suellen Andrade, PhD, Health Center, Neuroscience and Aging Laboratory, Campus I, 58051-085, Paraíba, Brazil. E-mail address: suellen.andrade@academico.ufpb.br.

Abstract

Background and purpose

Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) due to coronavirus disease 2019 (COVID-19) has been associated with muscle fatigue, corticospinal pathways dysfunction, and mortality. High-Definition transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS) may be used to attenuate clinical impairment in these patients. The HD-RECOVERY randomized clinical trial was conducted to evaluate the efficacy and safety of HD-tDCS with respiratory rehabilitation in patients with moderate to severe ARDS due to COVID-19.

Methods

Fifty-six critically ill patients were randomized 1:1 to active ($n = 28$) or sham ($n = 28$) HD-tDCS (twice a day, 30-minute, 3-mA) plus respiratory rehabilitation for up to 10 days or until intensive care unit discharge. The primary outcome was ventilator-free days during the first 28 days, defined as the number of days free from mechanical ventilation. Furthermore, secondary outcomes such as delirium, organ failure, hospital length of stay and adverse effects were investigated.

Results

Active HD-tDCS induced more ventilator-free days compared to sham HD-tDCS. Patients in the active group vs in the sham group experienced lower organ dysfunction, delirium, and length of stay rates over time. In addition, positive clinical response was higher in the active vs sham group. There was no significant difference in the prespecified secondary outcomes at 5 days. Adverse events were similar between groups.

Conclusions

Among patients with COVID-19 and moderate to severe ARDS, use of active HD-tDCS compared with sham HD-tDCS plus respiratory rehabilitation resulted in a statistically significant increase in the number of ventilator-free days over 28 days. HD-tDCS combined with concurrent rehabilitation therapy is a safe, feasible, potentially add-on

intervention, and further trials should examine HD-tDCS efficacy in a larger sample of patients with COVID-19 and severe hypoxemia.

Keywords

High-Definition transcranial direct current stimulation; Noninvasive brain stimulation; Coronavirus disease; Acute Respiratory Distress Syndrome; Respiratory rehabilitation.

Introduction

Patients critically ill with coronavirus disease 2019 (COVID-19) often require mechanical ventilation and prolonged hospitalization duration to restore adequate gas exchange and to alleviate acute respiratory distress syndrome (ARDS)¹. There is variability between individual studies with respect to frequency of ARDS caused by COVID-19²⁻⁴; individual studies for which data is available indicate that among hospitalized COVID-19 patients, approximately 1/3 (33%) develop ARDS, 1/4 (26%) require transfer to an intensive care unit (ICU), and 1/6 (16%) receive invasive mechanical ventilation⁵. Injury to the brain - whether secondary to systemic (respiratory system) dysfunction, neuro-vascular damage, or direct neural-invasion (e.g., via the olfactory nerve)⁶ contributes to COVID-19 pathophysiology, symptoms, and progression⁷. Non-invasive brain stimulation approaches have been investigated for the management of disorders related to COVID-19^{8,9}. Regarding its anti-inflammatory actions, non-invasive vagus nerve stimulation has been trialed for the treatment of respiratory symptoms and inflammatory markers among patients who were hospitalized for COVID-19¹⁰.

High-Definition transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS) is a special form on non-invasive brain stimulation that allows: 1) focal stimulation of cortical targets 2) using direct current to boost excitability and neuroplasticity¹¹; 3) with minimal side-effects; and 4) in a portable way¹². In severe COVID cases, muscle fatigue and weakness can hamper respiratory function leading to a vicious cycle requiring mechanical ventilation, which *per se*, can cause more weakness¹³. tDCS applied over the diaphragmatic motor

cortex may engage not only intracortical circuits, but also spinal motor circuits, modulating the respiratory motor evoked potentials¹⁴. Because COVID-19 is believed to induce or exacerbate microvascular injury¹⁵, the potential neurovascular response induced by tDCS may provide further benefit¹⁶.

Given the potential adjuvant effect of neurostimulation, tDCS can enhance gains to the rehabilitation results on the motor and cognitive function under different clinical conditions^{17,18}. For example, the motor cortex is responsible for coherent corticomuscular oscillations¹⁹ and tDCS actions cortical networks enhance intermuscular coherence²⁰. Specifically, regarding the respiratory function, tDCS paired with exercise training enhances breathing in patients with chronic stroke patients, as indicated by an increase in forced expiratory volume and forced vital capacity²¹. In healthy subjects, anodal tDCS increased chest wall intermuscular coherence during breathing²². Separately, tDCS actions on cerebral blood flow^{23,24} have been directly linked to cortical-motor drive^{25,26}. These findings indicate that tDCS can facilitate cortical activity and restore functional coupling between central and peripheral motor systems, directly or as adjuvant therapy, supporting functional recovery.

The HD-RECOVERY randomized clinical trial was conducted to evaluate the efficacy and safety of active or sham HD-tDCS in association with respiratory rehabilitation in patients with moderate to severe ARDS due to COVID-19. The hypothesis was that HD-tDCS combined with concurrent rehabilitation therapy would increase the number of ventilator-free days during the first 28 days, thereby reducing rates of delirium, organ dysfunction, and hospital length of stay.

Methods

Overview

This trial was an investigator-initiated, parallel-group, stratified, double-blinded randomized clinical trial. The protocol was approved by the independent ethics committee (Paraíba Government) and conducted in compliance with the Declaration of Helsinki²⁷; it

is registered in clinicaltrials.gov (NCT04844554). All patients or legally authorized representatives provided written informed consent.

Participants

Patients underwent screening and randomization between April 14 to September 2, 2021. Final follow-up was completed on October 4, 2021. Patients of at least 18 years-old with a PCR-confirmed SARS-CoV-2 diagnosis and receiving mechanical ventilation at least 48 hours of meeting criteria for moderate to severe acute respiratory distress syndrome (ARDS), under weaning, were enrolled in this study. An ARDS diagnosis was made according to the Berlin Definition criteria²⁸. Patients were excluded if they had a condition that could prevent adequate performance of inspiratory muscle training (e.g., neuropathy, myopathy, agitation), pregnancy or active lactation, Glasgow Coma Scale (GCS)²⁹ ≤ 8 , consent refusal, and contraindications to brain stimulation (e.g., aneurysm clips)³⁰.

Randomization

Randomization was performed through an online web-based system using computer-generated random numbers stratified by age. Participants admitted consecutively were assigned randomly in a 1:1 ratio to receive active or sham HD-tDCS for 10 days or until ICU discharge, whichever occurred first, plus respiratory rehabilitation. Treatment assignments were concealed from patients, clinicians, investigators, trial statisticians and the data and safety monitoring committee.

Data Collection and Monitoring

Patients were followed up for 28 days after randomization (both hospitalized patients and those who had been discharged). Previous studies showed that severe COVID-19 can occur in otherwise healthy individuals, but certain underlying medical comorbidities have also been associated with severe illness and morbidity^{31, 32}. Since

clinical characteristics at baseline are factors that may help to better define the risks of mechanical ventilation³³, we included the comorbidities most prevalent among these COVID-19 patients.

Data on demographic characteristics, hemodynamic variables, respiratory status, adverse events, and concomitant medications were collected. In addition, we obtained the following information at baseline (day 1): degree of comorbidity, as assessed by the Charlson Comorbidity Index (CCI)³⁴, and severity of acute injury throughout Simplified Acute Physiology Score III (SAPS-III)^{35,36}.

Trial investigators reported any serious adverse events daily through day 28. Individual patient data on infections and/or serious adverse events were adjudicated by a blinded investigator. Trial data were monitored (including consent and source data verification) by independent monitors according to a prespecified monitoring plan.

Interventions

HD-tDCS

HD-tDCS was delivered on 10 consecutive weekdays, with two sessions per day (in the morning and in the afternoon). For each participant, a 3-mA current was applied via a center anode using a Soterix Medical Inc. stimulator (mini-CT with 4×1 adaptor, Soterix Medical, New York, NY, USA). The center anode was placed at the left diaphragmatic primary motor cortex (4 cm lateral to the midline and 1 cm anterior to the binaural line)³⁷ and the four cathodes were spaced in a radius ~7.5 cm from the center electrode. The Soterix Medical adaptor passively splits current produced by the mini-CT among these cathodes. For those in the active group, the electrical current was delivered with a ramp-up time of 30 s, held at 3 mA for 30 min, and then ramped down over 30 s. In the sham condition, the device provided a 30-second ramp-up period to the full 3 mA, followed immediately by a 30-second ramp down. Each set of five electrodes were used for 10 sessions and the location of each electrode was rotated to where any given electrode was used as the center anode twice and ring cathode 8 times³⁸. The electrodes were placed in an adapted headgear that supported the required HD-tDCS positions (Fig.

1). Brain stimulation was applied concurrently with pulmonary rehabilitation to both groups. Investigator blinding was performed by a predefined code triggered active or sham tDCS (i.e., a participant-specific code that was entered into the unit at the start of the session), thereby ensuring study team members were blind to stimulation condition. Blinding efficacy was assessed at the end point by asking staff to guess the patient's allocation group.

< Insert Fig. 1 here >

Respiratory Rehabilitation

The inspiratory muscle training program was based upon a previous protocol applied to facilitate weaning of ventilatory support³⁹. Training was based on progressive regimen: In the first session, the target was to start with a load of 30% of the participant's maximal inspiratory pressure, increasing daily by 10% (absolute), with training for five minutes, twice a day, seven days a week throughout the weaning period. Supplemental oxygen was provided as needed. During 25 remaining minutes, the session also included regular physiotherapy intervention including daily passive movement of all joints and positional therapy⁴⁰⁻⁴².

The session was interrupted if a patient had any of the following: respiratory frequency of more than 30 breaths per minute, arterial saturation below 90%, systolic blood pressure above 180 mm Hg or below 90 mm Hg, paradoxical breathing, or tachycardia above 140 beats per minute⁴³⁻⁴⁵. When any of these signs occurred during a training session, the load was maintained (i.e., not increased by 10%) at the next session.

Outcomes

The primary outcome was ventilator-free days during the first 28 days, defined as the number of days free from mechanical ventilation for at least 48 consecutive hours⁴⁶. Patients discharged from the hospital before 28 days were considered free from

mechanical ventilation at 28 days and nonsurvivors at day 28 were considered to have no ventilator-free days⁴⁷.

Secondary outcomes were assessed at baseline, and on days 5, 11, and 28, and included changes in the (1) Confusion Assessment Method for the ICU (CAM-ICU)⁴⁸ and the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) scale scores⁴⁹; (2) hospital length of stay (LOS), defined as the total number of days that patients remained hospitalized from the date of randomization until the date of hospital discharge; (3) rates of adverse events; (4) clinical response (defined as a reduction from baseline SOFA score from all weeks greater than 3 points). Changes in SOFA score have been used to assess the effects of therapeutic interventions⁵⁰⁻⁵³. The delta SOFA (Δ SOFA) and delta CAM-ICU (Δ CAM-ICU) were calculated as the difference between the score on a specific day and the score on the day of admission to the ICU.

Statistical Analysis

No reliable data were available at the time of trial design to allow for an accurate sample size calculation. We originally estimated that 24 patients per group or 48 patients in total were required for the trial to have 80% power to detect a difference of 3.2 (1.2 SD; margin of clinically meaningful difference 1.9) ventilator-free days between groups, assuming that 15% of patients would die at 28 days. The mean difference of ventilator-free days was calculated based on local hospital-level pilot clinical estimates, and no prior data were available on the distribution of clinical status categories over time in patients with severe COVID-19.

For the primary outcome (ventilator-free days during the first 28 days) and secondary outcomes (delta SOFA, delta CAM-ICU and LOS), we performed a generalized linear model, adjusted for age and partial pressure of arterial blood oxygen to fraction of inspired oxygen ($P_{aO_2}:F_{iO_2}$) ratio at randomization. The effect size was estimated as the mean difference (95% confidence interval) for the primary outcome and LOS, and as the number needed to treat (NNT) for the secondary outcomes.

Clinical responses of the interventions at 28 days after randomization were compared using Kaplan-Meier survival curves. The Cox model was used to estimate the hazard ratio and its confidence interval associated with the intervention⁵⁴.

We performed exploratory analysis to identify whether the variables age, Pao₂:Fio₂ ratio, CCI score, Simplified Acute Physiology Score III (SAPS III) are moderators of the primary outcome. Additionally, we performed linear model analyses to estimate the interactions for these baseline outcomes (age, CCI, Pao₂:Fio₂ and SAPS score) and the length of stay.

Adverse events are expressed as counts and percentages and compared between groups using the χ^2 test. All patients who were randomized and received at least 1 HD-tDCS session were assessed for efficacy and adverse events. There was no loss to follow-up, and data on the clinical outcomes and mortality within 28 days were available for all patients. Missing values on individual outcome components were imputed as normal. One patient was declared by a physician on day 8 as being well enough to hospital discharge. To test the integrity of blinding, investigator's responses when asked to guess the treatment group of patients were compared for active and sham groups using a χ^2 test. A 2-sided *P* value of less than .05 was considered statistically significant. All analyses were performed using the R software version 4.0.2 (R Core Team) and the GraphPad Prism software version 8.0 for Mac (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Results

Participants

Of 168 patients who consented and were assessed for eligibility, 112 were excluded (97 did not meet eligibility criteria and 15 withdrew consent). Of the enrolled patients, 28 were randomly assigned to receive active HD-tDCS and 28 to the sham group (Fig. 2).

< Insert Fig. 2 here >

Trial and Concomitant Interventions

Both groups received pulmonary rehabilitation daily during HD-tDCS. Baseline characteristics were well balanced between groups, including severity of ARDS. The use of respiratory, circulatory, and kidney support and the use of other anti-inflammatory, antiviral, and antibacterial drugs were similar between groups at baseline (Table 1).

< Insert Table 1 here >

Primary Outcome

Multiple linear model analysis revealed that the mean number of days free from mechanical ventilation during the first 28 days was significantly higher in the active group than in sham group ($\beta_{\text{interv}} = 7.47$; 95% CI, 3.95-10.99; $P < 0.001$; mean difference = 7.42; 3.90 to 10.95) (Table 2). The cumulative frequency of ventilator-free days according to the study group is shown in Fig. 3.

< Insert Fig. 3 here >

Secondary Outcomes

Organ dysfunction and Clinical Response

Organ dysfunction was similar between groups at baseline and on day 5 ($P > 0.05$). However, patients in the active group experienced significantly greater improvement over time compared with those in the sham group at 11 days ($\beta_{\text{int}} = 5.43$; 95% CI, 3.37 to 7.57; $P < 0.001$) and 28 days ($\beta_{\text{int}} = 7.21$; 95% CI, 4.86 to 9.57; $P < 0.001$) (Table 2) (Fig. 4A).

< Insert Fig. 4 here >

Respectively for the active and sham groups, 24 and 11 patients presented positive clinical responses (i.e., a change from baseline in SOFA score of ≥ 3 points) at 28 days. Kaplan–Meier analysis showed a cumulative survival (positive clinical response) of 83.33% (standard error=8.7%) and 52.80% (standard error=9.7%), respectively for the active and sham groups. The Cox proportional hazards ratio associated with active group was 2.00 (95% CI, 0.96-4.146; $P = .0009$). The corresponding NTT was 2 and the relative risk reduction associated with active group was 0.91 (95% CI, 0.37-0.98; $P < .05$) (Fig. 5).

< Insert Fig. 5 here >

Length of Stay and Delirium

The median length of stay was shorter in the active group compared with the sham group ($\beta_{\text{int}} = 7.03$; 95% CI, 4.44 to 9.61; $P < 0.001$; mean difference, 7.75; 4.89 to 10.60) (Table 2). As suggested by the earlier discharge date, the mean Delta CAM-ICU score at 11 days after randomization was significantly lower in the active group ($\beta_{\text{int}} = -2.79$; 95% CI, -3.79 to -1.79; $P < 0.001$) when delirium cleared in 13 patients from the active group but only 5 in the sham group (NNT = 3.3, Relative risk reduction 0.36; 95% CI, 0.04-0.58) (Table 2; Fig. 4B). At 28 days, there was no significant difference between the groups in the Delta CAM-ICU score ($\beta_{\text{int}} = 0.23$; 95% CI, -0.98 to 1.45; $P = .69$) when only 1 patient in each group remained in delirium.

< Insert Table 2 here >

Safety outcomes

All 7 [12.5%] but one death through day 28 (3 in the active group and 4 in the sham group) occurred in patients aged 69 years or older, but none was attributed to HD-tDCS treatment. A total of 5 and 3 mild adverse events (i.e., transient skin redness) were recorded in the active and sham groups, respectively ($P = .44$). More patients in the sham

group experienced secondary infections (11 patients) compared with patients in the active group (8 patients) during the study period ($P = .05$). Apart from deaths, 2 serious adverse events were reported, all in the sham group: 1 episode of stroke possibly related to SARS-CoV-2 (on day 17), 1 episode of cardiac dysfunction related to a pulmonary embolism (on day 23). No serious adverse events were attributed to the study treatment. No serious adverse events occurred in the active group.

Exploratory Analyses

In subgroup analyses, tests for effect were not statistically significant for subgroups defined by age ($P = .35$), CCI ($P = .40$), $\text{PaO}_2\text{:FiO}_2$ ratio ($P = .79$) and SAPS III ($P = .60$). No significant effect was found between baseline clinical status (age, CCI, $\text{PaO}_2\text{:FiO}_2$ and SAPS score) and length of stay ($P > .42$).

Integrity of Blinding

Investigators were unable to guess the participant's actual group beyond chance. The stimulation groups did not differ in this regard ($\chi^2(2) = 0.157$; $P = 0.71$).

Discussion

In this randomized clinical trial involving 58 adults with moderate to severe ARDS due to COVID-19, active HD-tDCS plus respiratory rehabilitation significantly increased the number of days free of mechanical ventilation during the first 28 days. This outcome suggests a clinically meaningful benefit of HD-tDCS in patients with severe COVID-19. Furthermore, HD-tDCS combined with concurrent rehabilitation therapy was associated with improvement in other parameters (clinical status, delirium, length of hospital stay) without increasing adverse events in this population of critically ill COVID-19 patients.

The observed clinical benefit from HD-tDCS in the present study may be explained by several underlying mechanisms. A first plausible explanation relates to the interplay between the altered respiratory drive during mechanical ventilation and the corticospinal

control of respiratory muscles⁵⁵. Previous studies have shown supra-threshold brain stimulation activates cortical projections directly stimulating the diaphragm⁵⁶⁻⁵⁸. Mechanical ventilation reduces the excitability of the motor cortex supplying the diaphragm⁵⁹. Thus, considering that modulation of motor cortex excitability is the canonical neurophysiological outcome of tDCS^{60,61}, our intervention may restore excitability of the diaphragmatic primary motor cortex. Second, is the boosting of motor learning and motor rehabilitation efficacy when paired with tDCS⁶². Third, enhancement of cerebral blood flow by tDCS may have a neuroprotective function and/or counteract COVID-19 microvascular injury⁶³⁻⁶⁵.

The definition of clinical response used in this study (3 points grades on the SOFA scale) essentially translates to a change in clinical condition requiring invasive mechanical respiratory support, sepsis or death⁶⁶. The difference between groups was associated with a large effect size and this reduction is clinically relevant, in which a tolerable, safe, and widely available intervention like HD-tDCS increase the number of ventilator-free days and may reduce the risk of pulmonary complications, hospital length of stay, organ dysfunction and burden to the health care system.

Active HD-tDCS was superior to sham HD-tDCS to delirium at 11 days, but not on day 28. These time points reflect different clinical concepts and the presence of 'a ceiling' effect may explain these findings. Often physicians and nurses are reluctant to discharge patients with delirium from the ICU⁶⁷. In our study, after 28 days of enrollment, most of the active group patients have been discharged from ICU and lower rates of delirium were found in the remaining patients from both groups. Future trials should consider monitoring delirium patients whose critical illness has resolved.

HD-tDCS plus respiratory rehabilitation was tolerable and safe, with both groups presenting similar adverse events. Mild and transient scalp erythema was the only adverse event associated with Active HD-tDCS, which is consistent with the general population non-significant-risk profile of tDCS⁶⁸. HD-tDCS was selected based on its established tolerability, portability, and focal cortical modulation⁶⁹ – and shown here to be deployable to intensive care units.

The strengths of this trial include the pragmatic protocol, representative of a real word setting, allocation concealment and blinding and the high percentage of follow-up at

28 days. Also, adverse events data regarding HD-tDCS use among patients with COVID-19 were prespecified secondary safety outcomes and accurately provided, along with detailed data on ARDS treatment, and clinical variables.

This study has several limitations. First, because of the urgent circumstances in which the study was conducted, the in-hospital study setting may limit the generalizability of these results to patients with COVID-19 in other settings. Second, other laboratory/clinical parameters that are not routinely collected could elucidate the effect of intervention on various pathophysiological (e.g., inflammatory, oxidative stress, BMI evaluation and vaccination status) pathways. Third, since these patients did not receive any specific COVID-19 medication, for example, the monoclonal antibodies, but only medical support, changes in the treatment of COVID-19 during the study (such as adjusting medication dose) may have influenced the results. Fourth, this clinical trial cannot distinguish between alternative therapeutic mechanisms that have been identified in pre-clinical models and non-COVID trials, including enhancement of diaphragmatic neuro-muscular drive⁵⁶ or neuro-vascular modulation^{64, 65, 70, 71}. Fifth, the conditions of the trial did not allow leveraging techniques such as image guided targeting⁷² or additional study arms (e.g., tDCS alone). Sixth, this study was conducted prior to both widespread vaccination and circulation of the Delta (B.1.617.2) and Omicron (B.1.1.529) variants.

Conclusions

Among critically ill patients with COVID-19 and moderate to severe ARDS, active HD-tDCS significantly increased the number of ventilator-free days over 28 days. The results of this trial support the early use of HD-tDCS associated with respiratory support of severe COVID-19 patients and encourage further trials to examine the efficacy of brain stimulation in a large sample with pulmonary disease.

References

1. Ramani C, Davis EM, Kim JS, Provencio JJ, Enfield KB, Kadl A. Post-icu covid-19 outcomes. *Chest*. 2021;159(1):215-218. doi:10.1016/j.chest.2020.08.2056
2. Elsayed HH, Hassaballa AS, Ahmed TA, Gumaa M, Sharkawy HY, Moharram AA. Variation in outcome of invasive mechanical ventilation between different countries for patients with severe COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2021 Jun 4;16(6):e0252760. doi: 10.1371/journal.pone.0252760
3. Zirpe KG, Tiwari AM, Gurav SK, et al. Timing of Invasive Mechanical Ventilation and Mortality among Patients with Severe COVID-19-associated Acute Respiratory Distress Syndrome. *Indian J Crit Care Med*. 2021 May;25(5):493-498. doi: 10.5005/jp-journals-10071-23816
4. Zeiser FA, Donida B, da Costa CA, et al. First and second COVID-19 waves in Brazil: A cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. *Lancet Reg Health Am*. 2022 Feb;6:100107. doi: 10.1016/j.lana.2021.100107
5. Tzotzos SJ, Fischer B, Fischer H, Zeitlinger M. Incidence of ARDS and outcomes in hospitalized patients with COVID-19: a global literature survey. *Crit Care*. 2020 Aug 21;24(1):516. doi: 10.1186/s13054-020-03240-7
6. DosSantos MF, Devalle S, Aran V, et al. Neuromechanisms of sars-cov-2: a review. *Front Neuroanat*. 2020;14:37. doi:10.3389/fnana.2020.00037
7. Steardo L, Steardo L, Zorec R, Verkhatsky A. Neuroinfection may contribute to pathophysiology and clinical manifestations of COVID-19. *Acta Physiol*. 2020;229(3). doi:10.1111/apha.13473
8. Baptista AF, Baltar A, Okano AH, et al. Applications of non-invasive neuromodulation for the management of disorders related to covid-19. *Front Neurol*. 2020;11:573718. doi:10.3389/fneur.2020.573718
9. Gómez L, Vidal B, Cabrera Y, Hernández L, Rondón Y. Successful treatment of post-covid symptoms with transcranial direct current stimulation. *Prim Care Companion CNS Disord*. 2021;23(6). doi:10.4088/PCC.21cr03059

10. Tornero C, Pastor E, del Mar Garzando M, et al. *Non-Invasive Vagus Nerve Stimulation for Respiratory Symptoms of Covid-19: Results from a Randomized Controlled Trial (Savior i)*. *Respiratory Medicine*; 2021. doi:10.1101/2021.09.24.21264045
11. Jackson MP, Rahman A, Lafon B, et al. Animal models of transcranial direct current stimulation: Methods and mechanisms. *Clinical Neurophysiology*. 2016;127(11):3425-3454. doi:10.1016/j.clinph.2016.08.016
12. Villamar MF, Volz MS, Bikson M, Datta A, DaSilva AF, Fregni F. Technique and considerations in the use of 4x1 ring high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS). *JoVE*. 2013;(77):50309. doi:10.3791/50309
13. Azabou E, Roche N, Sharshar T, Bussel B, Lofaso F, Petitjean M. Transcranial direct-current stimulation reduced the excitability of diaphragmatic corticospinal pathways whatever the polarity used. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2013;189(1):183-187. doi:10.1016/j.resp.2013.07.024
14. Kadosh RC, Zaehle T, Krauel K. *Non-invasive brain stimulation (Nibs) in neurodevelopmental disorders*. 1st Edition. Elsevier; 2021.
15. Villamar MF, Volz MS, Bikson M, Datta A, DaSilva AF, Fregni F. Technique and considerations in the use of 4x1 ring high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS). *JoVE*. 2013;(77):50309. doi:10.3791/50309
16. Siddiqi HK, Libby P, Ridker PM. COVID-19 – A vascular disease. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 2021;31(1):1-5. doi:10.1016/j.tcm.2020.10.005
17. Andrade SM, Batista LM, Nogueira LL, de Oliveira EA, de Carvalho AG, Lima SS, Santana JR, de Lima EC, Fernández-Calvo B. Constraint-Induced Movement Therapy Combined with Transcranial Direct Current Stimulation over Premotor Cortex Improves Motor Function in Severe Stroke: A Pilot Randomized Controlled Trial. *Rehabil Res Pract*. 2017;2017:6842549. doi: 10.1155/2017/6842549
18. Ministro G, Castaño JB, Barboza CA, Moura EG, Ferreira-Melo SE, Mostarda CT, Fattori A, Moreno-Junior H, Rodrigues B. Acute Transcranial Direct Current Stimulation (TDCS) Improves Ventilatory Variability And Autonomic Modulation In Resistant Hypertensive Patients. *Respir Physiol Neurobiol*. 2022 Mar;297:103830. doi: 10.1016/j.resp.2021.103830

19. Gerloff C, Braun C, Staudt M, Hegner YL, Dichgans J, Krägeloh-Mann I. Coherent corticomuscular oscillations originate from primary motor cortex: evidence from patients with early brain lesions. *Hum Brain Mapp.* 2006 Oct;27(10):789-98. doi: 10.1002/hbm.20220
20. Power HA, Norton JA, Porter CL, Doyle Z, Hui I, Chan KM. Transcranial direct current stimulation of the primary motor cortex affects cortical drive to human musculature as assessed by intermuscular coherence. *J Physiol.* 2006 Dec 15;577(Pt 3):795-803. doi: 10.1113/jphysiol.2006.116939
21. Lee DJ, Lee YS, Kim HJ, Seo TH. The effects of exercise training using transcranial direct current stimulation (tDCS) on breathing in patients with chronic stroke patients. *J Phys Ther Sci.* 2017 Mar;29(3):527-530. doi: 10.1589/jpts.29.527
22. Tomczak CR, Greidanus KR, Boliek CA. Modulation of chest wall intermuscular coherence: effects of lung volume excursion and transcranial direct current stimulation. *J Neurophysiol.* 2013 Aug;110(3):680-7. doi: 10.1152/jn.00723.2012
23. Stagg CJ, Lin RL, Mezue M, Segerdahl A, Kong Y, Xie J, Tracey I. Widespread modulation of cerebral perfusion induced during and after transcranial direct current stimulation applied to the left dorsolateral prefrontal cortex. *J Neurosci.* 2013 Jul 10;33(28):11425-31. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3887-12.2013
24. Zheng X, Alsop DC, Schlaug G. Effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) on human regional cerebral blood flow. *Neuroimage.* 2011 Sep 1;58(1):26-33. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.06.018
25. Mosayebi-Samani M, Jamil A, Salvador R, Ruffini G, Haueisen J, Nitsche MA. The impact of individual electrical fields and anatomical factors on the neurophysiological outcomes of tDCS: A TMS-MEP and MRI study. *Brain Stimul.* 2021 Mar-Apr;14(2):316-326. doi: 10.1016/j.brs.2021.01.016
26. Paquette C, Sidel M, Radinska BA, Soucy JP, Thiel A. Bilateral transcranial direct current stimulation modulates activation-induced regional blood flow changes during voluntary movement. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011 Oct;31(10):2086-95. doi: 10.1038/jcbfm.2011.72..

27. Bahr-Hosseini M, Bikson M. Neurovascular-modulation: A review of primary vascular responses to transcranial electrical stimulation as a mechanism of action. *Brain Stimulation*. 2021;14(4):837-847. doi:10.1016/j.brs.2021.04.015
28. World medical association declaration of helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013;310(20):2191. doi:10.1001/jama.2013.281053
29. Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet*. 1974;2(7872):81-84. doi:10.1016/s0140-6736(74)91639-0
30. Woods AJ, Antal A, Bikson M, et al. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clin Neurophysiol*. 2016;127(2):1031-1048. doi:10.1016/j.clinph.2015.11.012
31. Zeiser FA, Donida B, da Costa CA, et al. First and second COVID-19 waves in Brazil: A cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. *Lancet Reg Health Am*. 2022 Feb;6:100107. doi:10.1016/j.lana.2021.100107
32. Iftimie S, López-Azcona AF, Vicente-Miralles M, et al. Risk factors associated with mortality in hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection. A prospective, longitudinal, unicenter study in Reus, Spain. *PLoS One*. 2020 Sep 3;15(9):e0234452. doi: 10.1371/journal.pone.0234452
33. Izcovich A, Ragusa MA, Tortosa F, et al. Prognostic factors for severity and mortality in patients infected with COVID-19: A systematic review. *PLoS One*. 2020 Nov 17;15(11):e0241955. doi: 10.1371/journal.pone.0241955
34. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373-383. doi:10.1016/0021-9681(87)90171-8
35. Metnitz PGH, Moreno RP, Almeida E, et al. SAPS 3--From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 1: Objectives, methods and cohort description. *Intensive Care Med*. 2005;31(10):1336-1344. doi:10.1007/s00134-005-2762-6
36. Moreno RP, Metnitz PGH, Almeida E, et al. SAPS 3--From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 2: Development of a prognostic model

- for hospital mortality at ICU admission. *Intensive Care Med.* 2005;31(10):1345-1355. doi:10.1007/s00134-005-2763-5
37. Acute respiratory distress syndrome: the berlin definition. *JAMA.* 2012;307(23). doi:10.1001/jama.2012.5669
38. Azabou E, Bao G, Heming N, et al. Randomized controlled study evaluating efficiency of low intensity transcranial direct current stimulation (TDCS) for dyspnea relief in mechanically ventilated covid-19 patients in icu: the tDCS-dysp-covid protocol. *Front Med.* 2020;7:372. doi:10.3389/fmed.2020.00372
39. Hampstead BM, Ehmann M, Rahman-Filipiak A. Reliable use of silver chloride HD-tDCS electrodes. *Brain Stimulation.* 2020;13(4):1005-1007. doi:10.1016/j.brs.2020.04.003
40. Cader SA, de Vale RGS, Castro JC, et al. Inspiratory muscle training improves maximal inspiratory pressure and may assist weaning in older intubated patients: a randomised trial. *Journal of Physiotherapy.* 2010;56(3):171-177. doi:10.1016/S1836-9553(10)70022-9
41. Clinic E, Holand A, Pitta F, Troosters T. *Textbook of Pulmonary Rehabilitation.* Springer Nature; 2018.
42. Vitacca M, Carone M, Clini EM, et al. Joint statement on the role of respiratory rehabilitation in the covid-19 crisis: the italian position paper. *Respiration.* 2020;99(6):493-499. doi:10.1159/000508399
43. Ambrosino N, Venturelli E, Vaghegghini G, Clini E. Rehabilitation, weaning and physical therapy strategies in chronic critically ill patients. *European Respiratory Journal.* 2012;39(2):487-492. doi:10.1183/09031936.00094411
44. Caruso P, Denari SD, Ruiz SA, et al. Inspiratory muscle training is ineffective in mechanically ventilated critically ill patients. *Clinics.* 2005;60(6). doi:10.1590/S1807-59322005000600009
45. Conti G, Montini L, Pennisi MA, et al. A prospective, blinded evaluation of indexes proposed to predict weaning from mechanical ventilation. *Intensive Care Med.* 2004;30(5):830-836. doi:10.1007/s00134-004-2230-8

46. Béduneau G, Pham T, Schortgen F, et al. Epidemiology of weaning outcome according to a new definition. The wind study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;195(6):772-783. doi:10.1164/rccm.201602-0320OC
47. Tomazini BM, Maia IS, Cavalcanti AB, et al. Effect of dexamethasone on days alive and ventilator-free in patients with moderate or severe acute respiratory distress syndrome and covid-19: the codex randomized clinical trial. *JAMA*. 2020;324(13):1307. doi:10.1001/jama.2020.17021
48. Ely EW, Margolin R, Francis J, et al. Evaluation of delirium in critically ill patients: validation of the confusion assessment method for the intensive care unit (CAM-ICU): *Critical Care Medicine*. 2001;29(7):1370-1379. doi:10.1097/00003246-200107000-00012
49. Vincent JL, Moreno R, Takala J, et al. The sofa (Sepsis-related organ failure assessment) score to describe organ dysfunction/failure: on behalf of the working group on sepsis-related problems of the european society of intensive care medicine. *Intensive Care Med*. 1996;22(7):707-710. doi:10.1007/BF01709751
50. Vincent JL, de Mendonca A, Cantraine F, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: Results of a multicenter, prospective study. *Critical Care Medicine*. 1998;26(11):1793-1800. doi:10.1097/00003246-199811000-00016
51. Sakr Y, Lobo SM, Moreno RP, et al. Patterns and early evolution of organ failure in the intensive care unit and their relation to outcome. *Crit Care*. 2012;16(6):R222. doi:10.1186/cc11868
52. Cruz DN, Antonelli M, Fumagalli R, et al. Early use of polymyxin b hemoperfusion in abdominal septic shock: the euphas randomized controlled trial. *JAMA*. 2009;301(23):2445. doi:10.1001/jama.2009.856
53. Jabre P, Combes X, Lapostolle F, et al. Etomidate versus ketamine for rapid sequence intubation in acutely ill patients: a multicentre randomised controlled trial. *The Lancet*. 2009;374(9686):293-300. doi:10.1016/S0140-6736(09)60949-1
54. Spruance SL, Reid JE, Grace M, Samore M. Hazard ratio in clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(8):2787-2792. doi:10.1128/AAC.48.8.2787-2792.2004

55. Pilloni G, Bikson M, Badran BW, et al. Update on the use of transcranial electrical brain stimulation to manage acute and chronic covid-19 symptoms. *Front Hum Neurosci.* 2020;14:595567. doi:10.3389/fnhum.2020.59556
56. Gandevia SC, Rothwell JC. Activation of the human diaphragm from the motor cortex. *The Journal of Physiology.* 1987;384(1):109-118. doi:10.1113/jphysiol.1987.sp016445
57. Khedr E, Trakhan M. Localization of diaphragm motor cortical representation and determination of corticodiaphragmatic latencies by using magnetic stimulation in normal adult human subjects. *Eur J Appl Physiol.* 2001;85(6):560-566. doi:10.1007/s004210100504
58. Welch JF, Argento PJ, Mitchell GS, Fox EJ. Reliability of diaphragmatic motor-evoked potentials induced by transcranial magnetic stimulation. *Journal of Applied Physiology.* 2020;129(6):1393-1404. doi:10.1152/japplphysiol.00486.2020
59. Sharshar T, Ross ET, Hopkinson NS, et al. Depression of diaphragm motor cortex excitability during mechanical ventilation. *Journal of Applied Physiology.* 2004;97(1):3-10. doi:10.1152/japplphysiol.01099.2003
60. Nitsche MA, Paulus W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol.* 2000;527 Pt 3:633-639. doi:10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00633.x
61. Jeffery DT, Norton JA, Roy FD, Gorassini MA. Effects of transcranial direct current stimulation on the excitability of the leg motor cortex. *Exp Brain Res.* 2007;182(2):281-287. doi:10.1007/s00221-007-1093-y
62. Reis J, Fritsch B. Modulation of motor performance and motor learning by transcranial direct current stimulation. *Curr Opin Neurol.* 2011;24(6):590-596. doi:10.1097/WCO.0b013e32834c3db0
63. Mosayebi-Samani M, Jamil A, Salvador R, Ruffini G, Haueisen J, Nitsche MA. The impact of individual electrical fields and anatomical factors on the neurophysiological outcomes of tDCS: A TMS-MEP and MRI study. *Brain Stimul.* 2021;14(2):316-326. doi:10.1016/j.brs.2021.01.016

64. Wachter D, Wrede A, Schulz-Schaeffer W, et al. Transcranial direct current stimulation induces polarity-specific changes of cortical blood perfusion in the rat. *Exp Neurol*. 2011;227(2):322-327. doi:10.1016/j.expneurol.2010.12.005
65. Bahr-Hosseini M, Bikson M. Neurovascular-modulation: A review of primary vascular responses to transcranial electrical stimulation as a mechanism of action. *Brain Stimul*. 2021;14(4):837-847. doi:10.1016/j.brs.2021.04.015
66. Ferreira FL. Serial evaluation of the sofa score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA*. 2001;286(14):1754. doi:10.1001/jama.286.14.1754
67. Pisani MA, Murphy TE, Araujo KLB, Van Ness PH. Factors associated with persistent delirium after intensive care unit admission in an older medical patient population. *Journal of Critical Care*. 2010;25(3):540.e1-540.e7. doi:10.1016/j.jcrc.2010.02.009
68. Bikson M, Grossman P, Thomas C, et al. Safety of Transcranial Direct Current Stimulation: Evidence Based Update 2016. *Brain Stimul*. 2016; 9(5):641-661. doi: 10.1016/j.brs.2016.06.004
69. Minhas P, Bansal V, Patel J, et al. Electrodes for high-definition transcutaneous DC stimulation for applications in drug delivery and electrotherapy, including tDCS. *J Neurosci Methods*. 2010;190(2):188-197. doi:10.1016/j.jneumeth.2010.05.007
70. Khadka N, Bikson M. Neurocapillary-Modulation. *Neuromodulation*. 2020 Dec 19;10.1111/ner.13338. doi: 10.1111/ner.13338.
71. Stagg CJ, Lin RL, Mezue M, Segerdahl A, Kong Y, Xie J, Tracey I. Widespread modulation of cerebral perfusion induced during and after transcranial direct current stimulation applied to the left dorsolateral prefrontal cortex. *J Neurosci*. 2013 Jul 10;33(28):11425-31. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3887-12.2013
72. Dmochowski JP, Datta A, Bikson M, Su Y, Parra LC. Optimized multi-electrode stimulation increases focality and intensity at target. *J Neural Eng*. 2011 Aug;8(4):046011. doi: 10.1088/1741-2560/8/4/046011

Funding

This trial was funded and supported by Governo do Estado da Paraíba (Brazil) and by the National Institutes of Health - NHI (1R01NS112996; 1R01NS101362).

Conflict of interest

The City University of New York holds patents on brain stimulation with MB as inventor. MB has equity in Soterix Medical Inc. MB consults, received grants, assigned inventions, and/or serves on the SAB of SafeToddles, Boston Scientific, GlaxoSmithKline, Biophysics, Mecta, Lumenis, Halo Neuroscience, Google-X, i-Lumen, Humm, Allergan (Abbvie), Apple. AD is an employee and has equity in Soterix Medical Inc.

Credit Author Statement

SM: designed the experiment, performed data analysis, prepared the manuscript and figures. MS: performed the clinical experiments and data analysis. EF, AD: designed the experiment. KS, MM, SS, TS, WS, MDS: performed the clinical experiments, prepared the manuscript and figures. CM, EO, JB, RC, VR, DB, ED, BH, AT, BFC: designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. JS: performed the data analysis and conducted critical revision of the manuscript. MB: designed the experiment and prepared the manuscript.

Table 1. Baseline Characteristics^a

Characteristic	Active HD-tDCS	Sham HD-tDCS
Age, mean (SD), y	67.25	68.92
Women, n (%)	9 (32.14)	10 (35.71)
SAPS III, median (IRQ) ^b	58 (51.5-68.25)	61 (50-65)
CCI, median (IRQ) ^c	3 (1.75-4.25)	4 (3-5)
PaO ₂ /FiO ₂ ratio, mean (SD)	167.6 (41.74)	168.7 (34.40)
Comorbidities and risk factors, n (%)		
Hypertension	14 (50)	16 (57.14)
Chronic ischemic heart disease	8 (28.57)	7 (25)
COPD	3 (10.71)	5 (17.85)
Chronic kidney disease	2 (7.14)	3 (10.71)
Diabetes	8 (28.57)	5 (17.85)
Chronic liver disease	3 (10.71)	2 (7.14)
Concomitant Medications, n (%)		
Convalescent plasma or serum	7 (25)	7 (25)
Steroids	15 (53.57)	16 (57.14)
Antibiotics	21 (75)	23 (82.14)
Adrenergic agents	16 (57.14)	14 (50)

Abbreviations: SAPS III, Simplified Acute Physiology Score III; CCI, Charlson Comorbidity Index; PaO₂/FiO₂, Partial Pressure of Arterial Oxygen; COPD, Chronic obstructive pulmonary disease.

^a Continuous variables are presented as mean (SD) unless otherwise indicated.

^b The Simplified Acute Physiology Score III ranges from 0 to 217. High scores indicate a higher risk of death, and it is calculated from 20 variables at admission of the patient.

^c Express as sum of the weights, with higher scores indicating not only a greater mortality risk but also more severe comorbid conditions.

Table 2. Clinical Outcomes

Primary Outcome ^a	Active (n = 28)	Sham (n = 28)	P value ^b
Ventilator-free days			.01
Mean (95 % CI)	16.57 (14.20 – 18.94)	9.14 (6.72 – 11.55)	
Median (IQR)	18 (16.75 – 19.25)	9.5 (3 – 12)	
Secondary Outcomes			
Organic Dysfunction, Mean (95 % CI) ^c			
Baseline	11.64 (10.78-12.50)	10.85 (9.89-11.82)	.24
Day 5	10.81 (9.63–11.99)	11 (9.88 – 12.11)	.82
Day 11	4.62 (3.45 – 5.80)	9.28 (7.90 – 10.66)	.01
Day 28	1.04 (0.64 – 1.43)	7.5 (6.54 – 8.45)	.01
Delirium, Mean (95 % CI) ^d			
Baseline	4.75 (4.03-5.46)	4.35 (3.60-5.11)	.46
Day 5	4.29 (3.65 – 4.94)	4.32 (3.50 – 5.13)	.96
Day 11	0.88 (0.52– 1.25)	3.35 (2.62– 4.08)	.01
Day 28	0.04 (0.03 – 0.11)	0.15 (0.13 – 0.43)	.50
Length of Stay Mean (95 % CI)	15.11 (13.27-16.93)	22.86 (20.81-24.89)	.01
Median (IQR)	15 (12-17)	22 (19-26)	

^a Express as the number of days alive and free from mechanical ventilation for at least 48 consecutive hours.

^b P value for the treatment group comparison were estimated using general linear models.

^c Measured in 6 organ systems (cardiovascular, hematologic, gastrointestinal, renal, pulmonary, and neurologic), with each organ score from 0 to 4, resulting in an aggregated score that ranges from 0 to 24, with higher scores indicating greater dysfunction. An initial SOFA score up to 9 predicts a mortality risk of less than 33%.

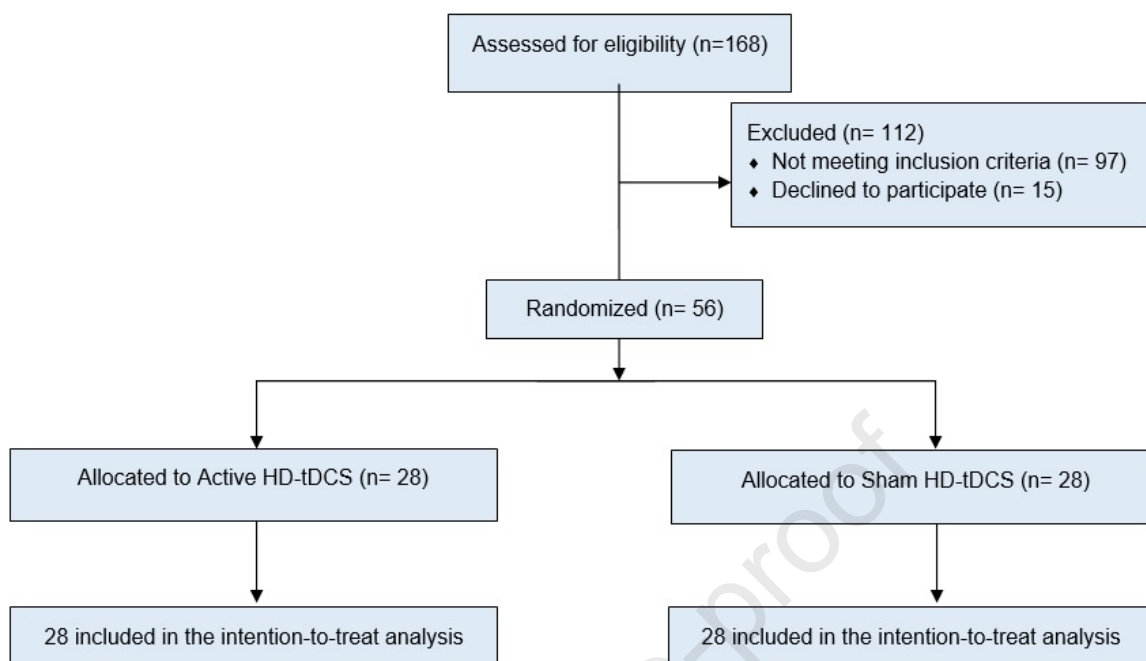
^d Final CAM-ICU-7 score ranges from 0-7 with 7 being most severe. CAM-ICU-7 scores were further categorized as 0-2: no delirium, 3-5: mild to moderate delirium, and 6-7: severe delirium.

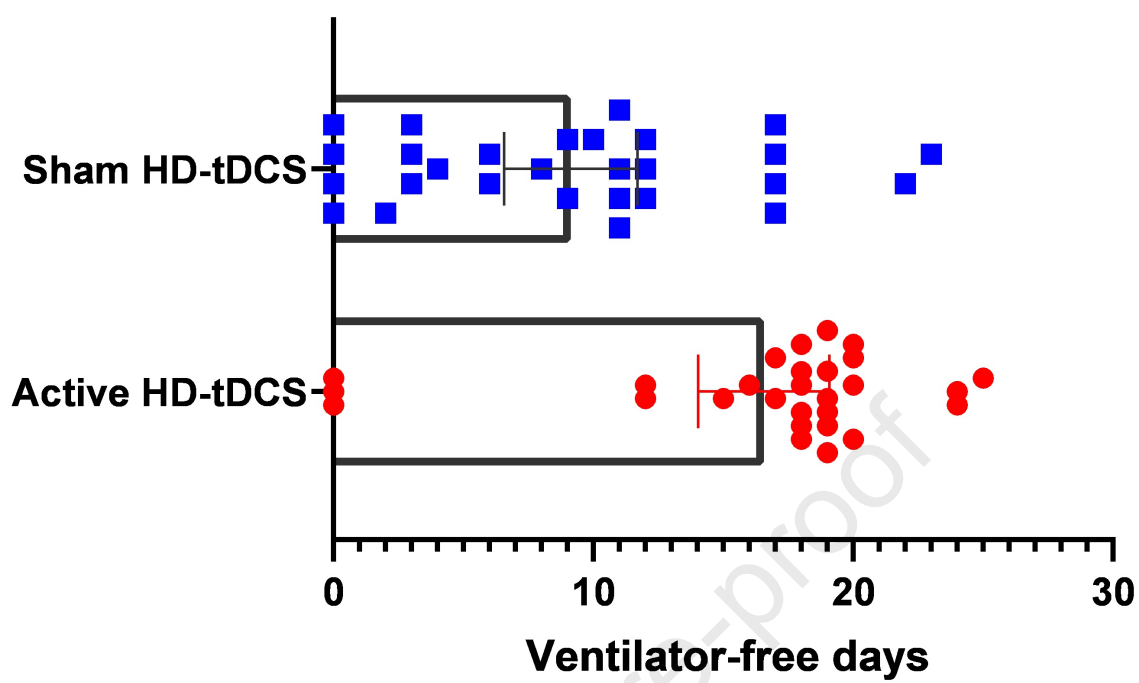
A



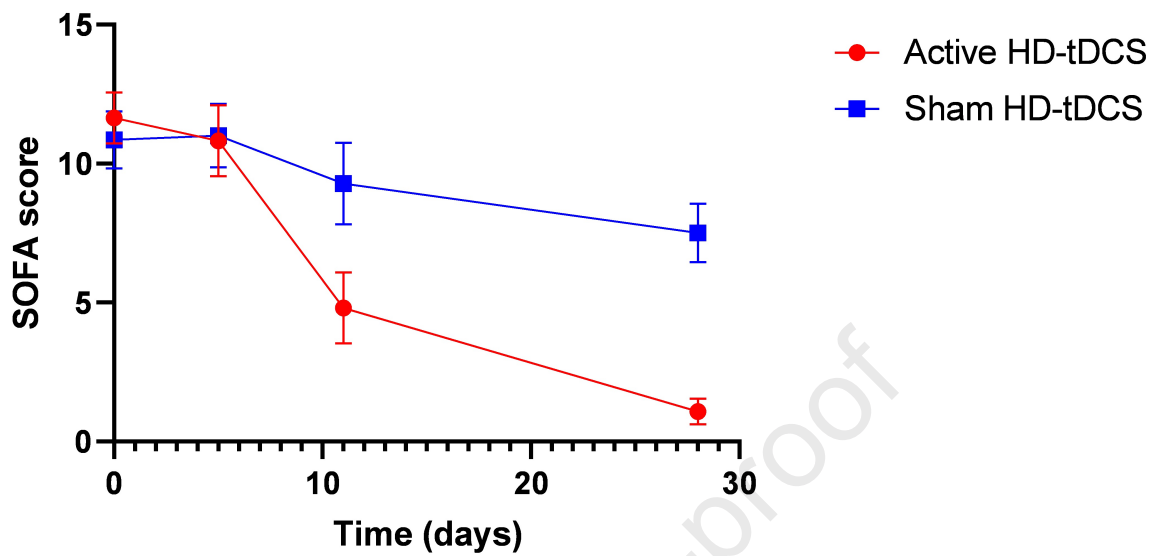
B



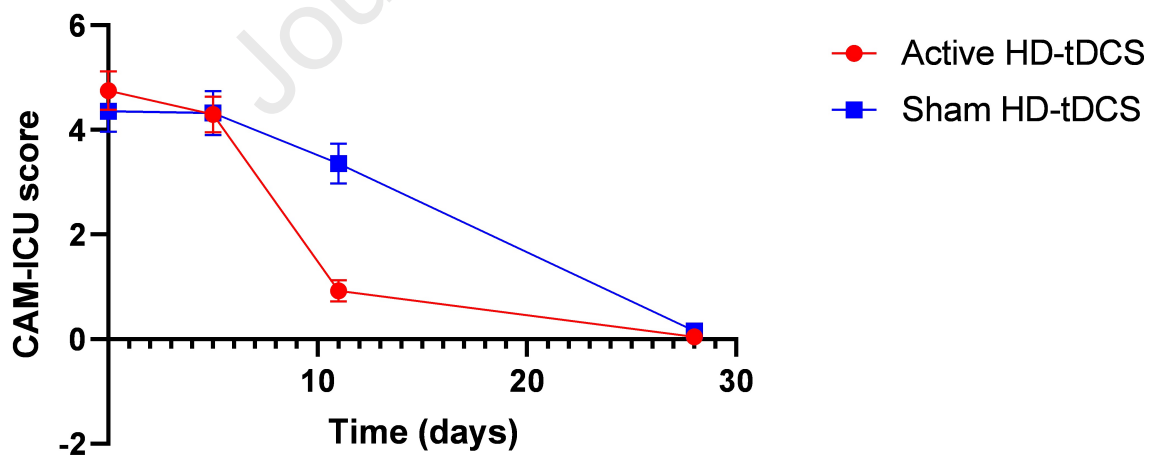


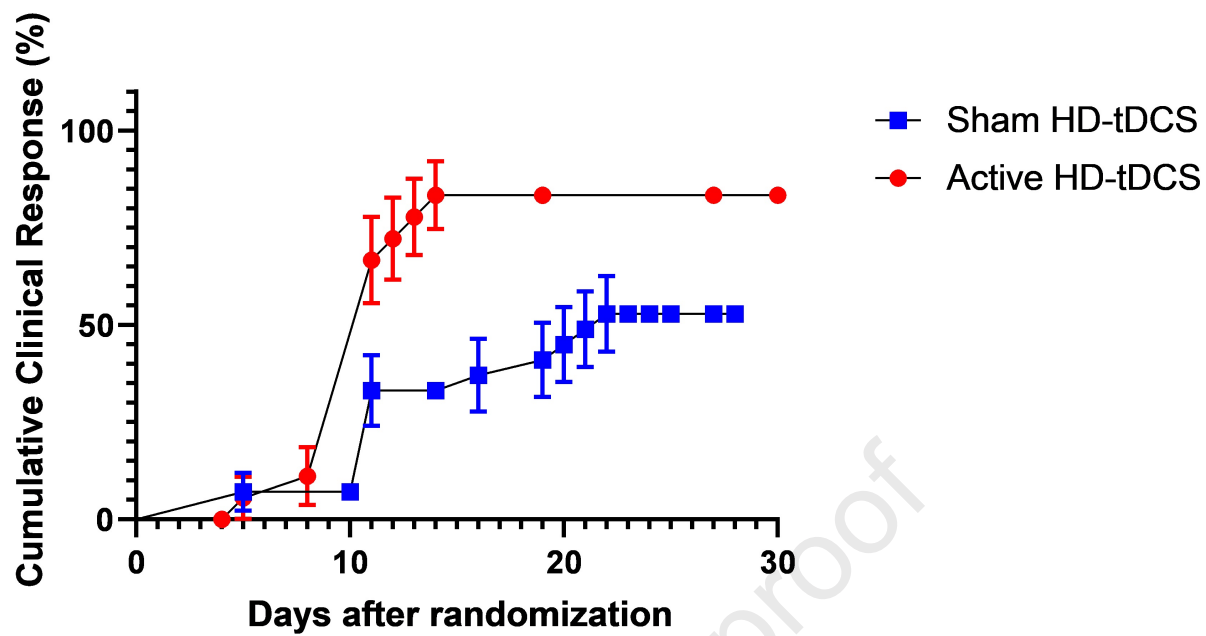


A. Organ Dysfunction



B. Delirium





Highlights

- High-definition transcranial direct current stimulation as add-on therapy in patients with coronavirus disease and acute respiratory distress syndrome is proposed.
- HD-tDCS increases the number of days alive and free of mechanical ventilation over 28 days.
- Modulations include clinical response and delirium improvement and no serious adverse effects.

Declaration of interests

☐ The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

☒ The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests:

The City University of New York holds patents on brain stimulation with MB as inventor. MB has equity in Soterix Medical Inc. MB consults, received grants, assigned inventions, and/or serves on the SAB of SafeToddles, Boston Scientific, GlaxoSmithKline, Biophysics, Mecta, Lumenis, Halo Neuroscience, Google-X, i-Lumen, Humm, Allergan (Abbvie), Apple. AD is an employee and has equity in Soterix Medical Inc.