

Žan Milan Žujić¹, Robert Marčun², Boštjan Rituper³

Vpliv posledic prebolele okužbe s SARS-CoV-2 na funkcijo srčno-žilnega sistema pri odraslih bolnikih

The Impact of the Consequences of SARS-CoV-2 Infection on the Cardiovascular System in Adult Patients

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: dolgi covid, srčno-žilni sistem, maksimalna aerobna kapaciteta, variabilnost srčne frekvence, UZ srca

IZHODIŠČA. Po nekaterih raziskavah se pri več kot 50 % bolnikov po preboleli okužbi s koronavirusom hudega akutnega respiratornega sindroma tipa 2 (angl. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, SARS-CoV-2) razvijejo nespecifični simptomi, kot so dispneja, bolečina v prsih, palpitacije, vrtoglavica in občutek zmanjšane fizične zmogljivosti. Skupek opisanih simptomov v strokovni literaturi imenujejo »dolgi covid«. Etiološko dolgega covida še ne znamo pojasniti, v patogenezo pa je poleg drugih organskih sistemov zelo verjetno vpletena disfunkcija srčno-žilnega sistema v okviru prizadetosti avtonomnega živčevja. Namen raziskave je preučiti vpliv posledic prebolele okužbe s SARS-CoV-2 na srčno-žilni sistem pri odraslih bolnikih. **METODE.** V opazovalno klinično raziskavo je bilo vključenih 44 odraslih bolnikov (povprečna starost $45,2 \pm 11,5$ let), ki so preboleli okužbo s SARS-CoV-2 in imeli za dolgi covid značilne simptome, ter 20 zdravih kontrolnih preiskovancev (povprečna starost $48,5 \pm 11,5$ let). Pri vseh smo izvedli 24-urni EKG, cikloergometrijo in UZ srca. Za statistično analizo smo uporabili dvosmerni Studentov t-test in Fisherjev eksaktni test. **REZULTATI.** Razlike v odstotku predvidene maksimalne aerobne kapacitete ($p = 0,120$), povprečni srčni frekvenci v mirovanju ($p = 0,607$) in variabilnosti srčne frekvence ($p = 0,680$) med skupinama niso bile statistično značilne. Z UZ preiskavo srca nismo opredelili statistično značilnih strukturnih in funkcionalnih sprememb srca med skupinama ($p = 0,064$). **RAZPRAVA.** Kljub temu da razlike niso bile statistično značilne, so imeli pacienti z dolgim covidom v povprečju slabšo aerobno zmogljivost, višjo srčno frekvenco v mirovanju in nižjo variabilnost srčne frekvence. Skladno z literaturo nismo ugotovili z UZ opredeljivih sprememb srca.

¹ Žan Milan Žujić, dr. med., Zdravstveni zavod Zdravje, Vilharjev podhod 1, 1000 Ljubljana; zanzujic@gmail.com

² Doc. dr. Robert Marčun, dr. med., Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Golnik 36, 4204 Golnik

³ Asist. dr. Boštjan Rituper, dr. med., Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Golnik 36, 4204 Golnik

ABSTRACT

KEY WORDS: long covid, cardiovascular system, maximal aerobic capacity, heart rate variability, echocardiography

BACKGROUND. According to some studies, more than 50% of patients develop non-specific symptoms such as dyspnoea, chest pain, palpitations, dizziness, and a feeling of reduced physical performance after infection with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). This cluster of symptoms is referred to as long coronavirus disease (COVID) syndrome. Its etiology is not yet clear, but the pathogenesis likely involves cardiovascular dysfunction in the context of autonomic nervous system involvement. The aim of this research is to investigate the impact of the consequences of SARS-CoV-2 infection on the cardiovascular system in adult patients. **METHODS.** The observational clinical study included 44 adult patients (mean age 45.2 ± 11.5 years) with symptoms of long COVID and 20 healthy control subjects (mean age 48.5 ± 11.5 years) without symptoms typical of long covid. All subjects underwent a 24-hour electrocardiogram, cycle ergometry, and echocardiography. The results were statistically analyzed using the two-tailed Student's t-test and Fisher's exact test. **RESULTS.** Differences in the percentage of predicted maximal aerobic capacity ($p = 0.120$), mean resting heart rate ($p = 0.607$), and heart rate variability ($p = 0.680$) between the groups were not statistically significant. Echocardiography did not reveal statistically significant structural and functional changes of the heart between the groups ($p = 0.064$). **DISCUSSION.** Although no statistically significant differences were demonstrated, patients with long COVID exhibited a trend toward lower aerobic capacity, higher resting heart rate, and lower heart rate variability. It was also expected, given the existing research, that we would not find ultrasound-identifiable cardiac changes in these patients.

IZHODIŠČA

Dolga koronavirusna bolezen 2019 (angl. *coronavirus disease 2019*, COVID-19), tudi dolga koronavirusna bolezen (angl. *coronavirus disease*, COVID) in dolgi covid, je sindrom, za katerega je značilen širok nabor novih, vztrajajočih ali ponavljajočih se zdravstvenih težav pri osebah, ki so bile okužene s koronavirusom hudega akutnega respiratornega sindroma tipa 2 (angl. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, SARS-CoV-2), ki povzroča COVID-19. COVID-19 je po definiciji Svetovne zdravstvene organizacije (World Health Organization, WHO) infektivna bolezen, ki jo povzroča SARS-CoV-2 (1). Glede na različne vire zaenkrat še ne poznamo enotne definicije dolgega covida. Po definiciji ameriških Centrov za nadzor in prepreč-

vanje bolezni (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) z dolgim covidom poimenujemo skupek simptomov, ki se pojavi vsaj štiri tedne po okužbi z virusom SARS-CoV-2 (2). WHO opredeljuje dolgi covid kot bolezen, ki se pojavi pri posameznikih z anamnezo verjetne ali potrjene okužbe s SARS-CoV-2, navadno tri mesece po začetku COVID-19, s simptomi, ki trajajo najmanj dva meseca in jih ni mogoče razložiti z drugimi diagnozami (3). Britanski Nacionalni inštitut za zdravje in klinično odličnost (National Institute for Health and Care Excellence, NICE) je z dolgim covidom poimenoval simptome in znake, ki se razvijejo med ali po okužbi, skladni s COVID-19, in zajema simptomatski COVID-19, ki traja od 4 do 12 tednov, in tudi pokovidni sindrom s trajanjem simptomov

in znakov 12 tednov ali več, kjer ti niso razložljivi z alternativnimi diagnozami (4). Pri bolnikih z dolgim covidom se najpogosteje pojavljajo utrujenost, ki moti vsakodnevne aktivnosti, dispneja, bolečina v prsnem košu, palpitacije, težave s spominom in koncentracijo, motnje spanja, glavoboli, spremembe v zaznavanju vonja in okusa ter depresivno in anksiozno razpoloženje (2, 5).

Glede na podatke WHO se po preboleli okužbi s SARS-CoV-2 simptomi, ki so značilni za dolgi covid, pojavijo pri 10–20 % ljudi. Čeprav natančnega števila ne poznamo, WHO ocenjuje, da je med prvima dvema letoma pandemije COVID-19 znotraj Evrope za dolgim covidom zbolelo več kot 17 milijonov ljudi (6). Glede na rezultate več raziskav se dolgi covid razvije pri 10–35 % oseb, ki ob prebolevanju COVID-19 niso potrebovale hospitalizacije, medtem ko znaša prevalenca dolgega covida pri bolnikih po preboleli težki obliki bolezni ali po hospitalizaciji do 80 % (7–11). Raziskave so pokazale, da so določeni posamezniki za razvoj dolgega covida dovzetnejši. Analiza dejavnikov tveganja, ki je bila opravljena na 384.137 polnoletnih posameznikih, okuženih s SARS-CoV-2, ki so jih spremljali najmanj 12 tednov, je pokazala, da so ženski spol, pripadnost etničnim manjšinam, slabše socioekonomsko stanje, kajenje in kajenje v preteklosti, visok indeks telesne mase in različne spremljajoče bolezni povezani z višjim tveganjem za pojav simptomov dolgega covida (12). Tveganje za razvoj simptomov, skladnih z dolgim covidom, povečujeta še daljši čas hospitalizacije med akutno obliko bolezni in visoka viremija, starost pa je obratno sorazmerna s tveganjem za razvoj dolgega covida (12–14).

Etiološko dolgega covida še ne znamo popolnoma pojasniti (15). Najpogostejši simptomi dolgega covida kažejo na vpletenost dihalnega, srčno-žilnega in živčno-mišičnega sistema (5). Glede na raziskave

je v patogenezo verjetno vpletena tudi disfunkcija avtonomnega živčevja (16–18).

Patogeneza dolgega covida

Patogeneza dolgega covida je kompleksna in multifaktorska. Raziskave omenjajo vpletenost različnih patogenetskih mehanizmov: vztrajanje SARS-CoV-2 in/ali njegovih fragmentov v različnih tkivih, reaktivacija drugih virusov, npr. virusa Epstein-Barr, in odziv nanje, avtoimunost, nekontrolirano vnetje in nastanek mikrostrdkov (5). Najpogosteje naj bi SARS-CoV-2 vztrajal v dihalnih poteh, vendar je bil zaznan tudi v srcu, ledvicah, prebavilih, mišicah, možganih in bezgavkah še mesece po okužbi (19). Predpostavlja se, da je za perzistentno okužbo potrebno ravnovesje med virusom in gostiteljsko celico, kjer naj bi proces transkripcije reguliral virus na način, da poteka namnožitev virusa nemoteno z izmikanjem gostiteljevemu imunskemu sistemu in pri tem ne pride do celične smrti (5). Vzpostavitev perzistentne okužbe je povezana z imunosupresijo, zmanjšanim izražanjem ribosomalnih beljakovin in možno integracijo določenih sekvenc SARS-CoV-2 v genom okuženih celic (20–22). Čas izločanja virusa je glede na raziskave zelo raznolik, in sicer od 6 do 105 dni z mediano trajanja 20 dni od začetka bolezni (23–26). Čeprav vpliv perzistence na patogenezo še vedno ni popolnoma jasen, bi hipotetično virusna RNA in/ali določene virusne beljakovine lahko delovale kot stalni dražljaj, ki ohranja vnetno reakcijo in povzroča disregulacijo imunskega sistema (5). Aktivacija imunskega sistema in avtoimunost sta mehanizma, ki ju že od pojava prvih primerov povezujejo z razvojem dolgega covida (27). Aktivacijo avtoimunskih limfocitov T so beležili že med akutno fazo COVID-19 (28). V raziskavi, ki je vključevala 215 preiskovancev (175 prebolevnikov in 40 oseb v kontrolni skupini) in je primerjala rezultate z validacijsko kohorto s 395 posamezniki, je bila koncentracija imunoglobulinov M (IgM)

in imunoglobulinov G3 (IgG3) sorazmerna z verjetnostjo razvoja dolgega covid (29).

Phetsouphanh in sodelavci so v raziskavi, v katero so vključili skupno 147 oseb, primerjal osebe, pri katerih se je razvil dolgi covid (31 oseb), z osebami, ki so COVID-19 prebolele, vendar niso imele simptomov bolezni štiri mesece po okužbi (31 oseb). Vključili so tudi osebe, ki so bile okužene z drugimi tipi koronavirusa. Pri osebah, ki so boleale za dolgim covidom, so ugotovili večjo aktivnost celic prirojenega imunskega odziva, primanjkljaj naivnih limfocitov T in B ter večje izražanje interferona- β (IFN- β) in interferona- λ 1 (IFN- λ 1), katerih vrednosti so bile visoke tudi osem mesecev po okužbi. Kombinacija mediatorjev vnetja IFN- β , beljakovine, povezane s pentraksinom 3 (angl. *pentraxin-related protein 3*, PTX3), interferona- γ (IFN- γ), interferona- λ 2/3 (IFN- λ 2/3) in interleukina-6 (IL-6) je napovedala povezavo z dolgim covidom z natančnostjo 78,5–81,6-% (30).

Pri nastanku dolgega covid (29) ima potencialno vlogo tudi nastajanje mikrostrdkov (31). Ob okužbi s SARS-CoV-2 in po njej lahko aktivacija endotelialnih celic in lektinske poti spodbudi nastanek strdkov (31–38). Fibrinogen v plazmi bolnikov z dolgim covidom, v kateri primanjkuje trombocitov, se lahko spremeni v amiloidno obliko fibrina, ki je odporna na fibrinolizo. Predpostavljajo, da proteom SARS-CoV-2 vsebuje amiloidogene peptide, ki bi lahko prispevali k razvoju nevroloških simptomov pri dolgim covidu (39).

Vpliv posledic koronavirusne bolezni 2019 na srčno-žilni sistem

Pacienti, ki so preboleli COVID-19, imajo v primerjavi s kontrolno skupino povečano tveganje za razvoj možganske kapi, motenj srčnega ritma (npr. atrijske fibrilacije), miokarditisa, ishemične bolezni srca, srčnega popuščanja in trombemboličnih bolezni (40). Simptomi, ki spremljajo dolgi

covid, so različni in vključujejo bolečino v prsih, dispnejo, fizično oslabelost in avtonomne manifestacije, kot sta npr. posturalna ortostatska tahikardija in ortostatska hipotenzija (41–44). Pogosto se pojavi nesorazmerna sinusna tahikardija, ki jo verjetno vzdržuje neravnovesje v vplivu avtonomnega živčnega sistema na srce in je posledica znižane aktivnosti parasimpatičnega živčevja (45). Večina srčno-žilnih zapletov, ki so povezani s prebolevanjem COVID-19 (zmanjšana sistolična ali okvarjena diastolična funkcija levega ventrikla (LV), zvišan pulmonalni sistolični tlak, perikardni izliv), je prehodnih in se izboljša po od treh do šestih mesecih od prebolele okužbe. V nekaterih primerih lahko simptomi vztrajajo in posnemajo dolgi covid (46).

Poškodba miokarda, ki je lahko povezana s sistemskim vnetnim odzivom ali pa je posledica virusnega miokarditisa, se pogosto pojavi med akutno obliko COVID-19 in je povezana z večjo umrljivostjo med hospitalizacijo. Glede na rezultate raziskav znaša incidenca s COVID-19 povezanega miokarditisa 150 primerov na 100.000 obolelih, med hospitaliziranimi bolniki pa med 8 in 12 % (47–51).

SARS-CoV-2 vstopa v celico po vezavi na angiotenzin-konvertazo 2 (angl. *angiotensin-converting enzyme 2*, ACE2), ki je na membrano vezani glikoprotein (52, 53). Veliko ACE2 se izraža v srčno-žilnem tkivu, vključno z endotelijem, ter v pljučnem, ledvičnem in črevesnem tkivu (34, 54–57). Fiziološko ACE2 pretvori angiotenzin 2 v angiotenzin 1–7, ki nato z vezavo na specifični receptor Mas povzroči znižanje krvnega tlaka zaradi vazodilatacije in povečane diureze. Poleg tega angiotenzin 1–7 deluje zaščitno na endotelij tako, da spodbuja nastajanje dušikovega oksida (NO) in na ta način zmanjšuje vnetje in poveča stabilnost aterosklerotičnih plakov (58–61). Med okužbo s SARS-CoV-2 pride do zvišanja ACE2, zaradi česar naraste koncentracija angiotenzina 2. Med posledice spada

višji krvni tlak in prooksidativno stanje (55, 59, 62–64). Ostali mehanizmi, ki lahko povzročijo akutno okvaro kardiomiocitov, so: citokinski vihar, ki ga povzroči neuravnotežen odziv T-celic pomagalk tipa 1 in 2, spremenjena povezava med porabo kisika in oskrbo s kisikom v miokardu, ki je povezana s povečano porabo kisika zaradi systemskega vnetnega odziva, in destabilizacija aterosklerotičnih plakov (58–72). Postakutna poškodba srca verjetno nastane zaradi perzistentnih rezervoarjev virusa v srčnem tkivu, ki spodbujajo kronično vnetje. Drug možen mehanizem je avtoimuni odziv na srčne antigene zaradi molekularne mimikrije (73).

Baum in sodelavci so v kohortni raziskavi, v katero so vključili 227 preiskovancev z diagnozo dolgega covida najmanj tri mesece po akutni obliki bolezni, s trans-torakalnim UZ srca preučevali srčno funkcijo in pri več kot 95 % preiskovancev niso ugotovili odstopanj od normale, ne glede na prisotne simptome fizične oslabelosti, bolečine v prsih in dispneje (74). V raziskavi, v kateri je sodelovalo 56 pacientov s simptomi dolgega covida (bolečina v prsih, dispneja, zmanjšana fizična zmogljivost), so z UZ srca ocenjevali sistolično in diastolično funkcijo LV in funkcijo zaklopk. Pri vseh pacientih so ugotovili normalni iztisni delež ($67 \pm 7\%$) brez znakov relevantne diastolične disfunkcije. Le pri 1 od 56 pacientov so z UZ srca ugotovili blag perikardni izliv (75).

V švicarski raziskavi so preučevali maksimalno aerobno zmogljivost (angl. *maximum aerobic volume*, VO_2 max) pri 68 mlajših odraslih bolnikih 45 dni po začetku simptomatske okužbe s SARS-CoV-2 in jo primerjali s 77 osebami, ki so COVID-19 prebolele asimptomatsko, in s 54 osebami, ki COVID-19 niso prebolele. Ugotovili so statistično značilno zmanjšan predviden VO_2 max pri simptomatskih prebolelnikih v primerjavi tako z asimptomatsko kot kontrolno skupino. Pri simptomatskih pre-

bolelnikih so ugotovili statistično značilno znižanje vrednosti VO_2 max v primerjavi z njihovimi individualnimi vrednostmi pred začetkom epidemije COVID-19. Simptomatski prebolelniki so se razlikovali tudi v absolutni vrednosti VO_2 max, in sicer je bila pri njih značilno nižja v primerjavi z osebami, ki COVID-19 niso prebolele (76). Tudi Singh in sodelavci so v raziskavi primerjali predviden VO_2 max med desetimi sicer zdravimi prebolelniki in desetimi kontrolnimi osebami. Podobno kot v drugih raziskavah so ugotovili statistično značilno znižanje predvidenega VO_2 max pri prebolelnikih (77).

Variabilnost srčne frekvence

Variabilnost v času med dvema srčnima utripoma imenujemo variabilnost srčne frekvence (angl. *heart rate variability*, HRV) (78). HRV predstavlja neinvazivno, objektivno in validirano metodo za ocenjevanje delovanja avtonomnega živčnega sistema (79). Visoka vrednost HRV naj bi nakazovala na zdravo stanje, medtem ko je nizka vrednost HRV povezana s patološkimi stanji (78). Višja aktivnost parasimpatičnega sistema povečuje HRV in obratno (80).

Kurtoğlu in sodelavci so izvedli raziskavo HRV na 50 posameznikih, ki so dokazano preboleli COVID-19, in jih primerjali s 50 necepljenimi osebami proti SARS-CoV-2, ki bolezni COVID-19 niso prebolele. Pri vseh vključenih so opravili UZ srca in 24-urno snemanje EKG. Medtem ko z UZ srca niso odkrili značilnih razlik, so bili parametri časovne domene HRV, to so standardni odklon normalnega do normalnega medutripnega intervala (angl. *standard deviation of the normal to normal inter-beat intervals*, SDNN), njegov indeks, standardni odklon zaporednega petminutnega intervala RR (angl. *standard deviation of sequential five-minute R-R interval*) in indeks variabilnosti srčne frekvence (angl. *heart rate variability index*, HRVI) statistično značilno znižani. Tudi parametri povprečni

kvadratni koren zaporednih razlik (angl. *root mean square of successive differences*, RMSSD), odstotek zaporednih normalnih intervalov RR, ki presegajo 50 ms (angl. *percentage of successive normal RR intervals exceeding 50 milliseconds*, pNN50), srčno popuščanje in normalizirana visoka frekvenca (angl. *normalized high frequency*, nHF), ki opredeljujejo vagalno aktivnost, so bili statistično značilno znižani, kar kaže na znižano aktivnost parasimpatičnega živčevja (81). V italijanski raziskavi so posneli krajše, a vsaj 5-minutne EKG-posnetke med 9. in 14. uro med počitkom in v temperaturno idealnih pogojih vsaj tri dni po izzvenetju simptomov pri 44 zdravstvenih delavcih, ki so preboleli blažjo obliko COVID-19, in jih primerjali z EKG-posnetki 44 kontrolnih oseb, ki COVID-19 niso prebolele. S pomočjo analize HRV so ugotovili znižane vrednosti SDNN in RMSSD, ki predstavljajo parametre časovne domene HRV, ter povečane vrednosti normalizirane moči nizke frekvenca (angl. *normalized low frequency power*, nLF) ter razmerja moči med nizko in visoko frekvenco (angl. *low/high-frequency power ratio*, LF/HF), kar nakazuje na neravnovesje v delovanju avtonomnega živčevja, in sicer povečan vpliv simpatičnega živčevja na srce in zmanjšano aktivnost parasimpatičnega živčevja (manjši nHF) (82). Shah in sodelavci so v svoji opazovalni raziskavi z analizo HRV primerjali 60-sekundne posnetke EKG med 92 prebolelniki COVID-19 (39 od teh je bilo simptomatskih) in 120 kontrolnimi osebami. Rezultati njihove raziskave kažejo, da je bil HRV, natančneje parameter RMSSD, statistično značilno nižji pri prebolelnikih kot v kontrolni skupini in da je bila odvisnost med HRV in kazalci vnetja obratno sorazmerna. Diagnozo srčno-žilne disavtonomije so postavili pri 15,21 % prebolelnikov. Pri 13,04 % se je dokazalo ortostatsko hipotenzijo, pri 2,17 % pa posturalni ortostatski tahikardni sindrom (83). Brazilska raziskava je primerjala 155

posameznikov, ki so imeli simptome dolgega covida, s 94 kontrolnimi preiskovanci. V skupini prebolelnikov so ugotovili znižanje parametrov HRV, to so respiratorna frekvenca (angl. *respiratory rate*, RR), SDNN, standardna deviacija 2 (SD2), ki korelira z dolgoročnim HRV, in razmerje med standardno deviacijo 1 (SD1), ki korelira s kratkoročnim HRV, ter standardno deviacijo 2 (SD1/SD2), povečan vpliv simpatičnega živčevja (nLF, LF/HF) in zmanjšano parasimpatično modulacijo (RMSSD, SD1 in HF) v primerjavi s kontrolno skupino (84). Vendar pa so rezultati raziskav korelacije dolgega covida in HRV različni. Soliński in sodelavci so v raziskavi primerjali skupino 65 prebolelnikov od štiri do šest tednov po COVID-19, ki so imeli le še blage simptome, npr. suh kašelj, dispnejo ter motnje voha in okušanja, s kontrolno skupino 26 posameznikov, ki COVID-19 niso preboleli. Skupini sta se med seboj razlikovali v rezultatih v sklopu nelinearnih parametrov, ki kažejo kompleksnost intervalov RR, in bi lahko kazali na povečano parasimpatično modulacijo (85).

Patofiziološki mehanizmi vpliva COVID-19 na disfunkcijo avtonomnega živčevja v sklopu dolgega covida še niso jasni. Predvideva se, da bi lahko bolečina, vročina, nočno potenje, čustveni stres in motnje spanja, ki se pojavijo med COVID-19, aktivirali simpatični živčni sistem z dolgoročnejšimi posledicami. SARS-CoV-2 lahko okuži nevrone v možganskem deblu in spremeni funkcije medularnih središč, kar bi lahko vplivalo na povečan tonus simpatičnega živčevja (81). Zadnje raziskave na SARS-CoV-2 so pokazale, da lahko virus vdre v tkiva z vezavo na ACE2-receptor tudi na glialnih celicah, nevronih in endotelijskih celicah v možganih (86). Tudi olfaktorni živec bi lahko predstavljal potencialno pot vdora SARS-CoV-2 v možgane, saj se v olfaktornem epiteliju, nevronski membrani in citoplazmi izraža ACE2 (87).

Namen in hipoteze

Dolgi covid je pogost pojav. Namen tega dela je raziskati vpliv posledic prebolele okužbe s SARS-CoV-2 na srčno-žilni sistem pri odraslih bolnikih. Nekateri bolniki po preboleli okužbi razvijejo nespecifične bolezenske znake in simptome (npr. dispneja, bolečina v prsih, palpitacije, vrtoglavica in občutek zmanjšane fizične zmogljivosti), ki jih medicinska stroka še ne zna zadovoljivo pojasniti, zato smo se odločili izvesti raziskavo, kjer smo z obremenitvenim testiranjem, UZ srca in 24-urnim Holter-EKG preučevali vpliv prebolele okužbe s SARS-CoV-2 na funkcijo srčno-žilnega sistema. Skladno z dostopno strokovno literaturo smo pričakovali pri bolnikih z dolгим covidom zmanjšano aerobno zmogljivost, v povprečju višjo srčno frekvenco v mirovanju in zmanjšan HRV, nismo pa pričakovali z UZ-preiskavo opredeljivih strukturnih in funkcionalnih sprememb srca.

METODE

Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko je obravnavala vlogo št. 0120-152/2021/9 na seji 18. 5. 2021 in ugotovila, da je vloga popolna in etično sprejemljiva, zato je izdala soglasje za izvedbo naše raziskave.

Značilnosti raziskave

Gre za opazovalno prospektivno klinično raziskavo.

Preiskovanci

Vključili smo bolnike s simptomi dolgega covida, napotene v ustrezno internistično (kardiološko ali pulmološko) ambulantno Kliniko Golnik. Na prvi pregled je zaradi suma na dolgi covid prišlo 56 bolnikov, od teh jih 7 zaradi neizpolnjevanja vključitvenih kriterijev v raziskavo nismo vključili, 5 pa jih je bilo izključenih zaradi ugotovljene druge diagnoze. Torej je končno število vključenih oseb z dolгим covidom znaša-

lo 44. Vsi vključeni so preboleli COVID-19 največ 12 tednov pred vključitvijo, od zadnjega pozitivnega testa pa je minilo več kot 10 dni. Od tega so bili trije preiskovanci vključeni v raziskavo 19., 20. in 26. dan po pojavu akutnih simptomov COVID-19, ostalih 41 preiskovancev pa je bilo vključenih v raziskavo vsaj 4 tedne in največ 12 tednov po pojavu akutnih simptomov COVID-19. V kontrolno skupino smo vključili 20 zdravih oseb, ki COVID-19 niso prebolele oz. so ga prebolele asimptomatsko. Zdrave preiskovance smo našli med zaposlenimi v sodelujočih ustanovah, med sorodniki bolnikov in v splošni zdravi populaciji. Preiskovanci so bili na preiskavo vabljeni po spletnih straneh v raziskavo vključenih ustanov.

V skupini prebolele oseb je bilo s cepivom proti SARS-CoV-2 popolno, tj. z dvema ali več odmerki cepiva, cepljenih 16 od 44 oseb. V kontrolni skupini je bilo s cepivom proti SARS-CoV-2 popolno cepljenih 15 od 20 oseb. V kontrolni skupini smo zabeležili odsotnost imunoglobulinov G (IgG) anti-SARS-CoV-2 le pri 3 osebah. Vsaj 2 vključeni osebi sta okužbo preboleli asimptomatsko.

Vključitveni kriteriji so bili podpisano soglasje, ki ga je podpisal bolnik ali njegov pooblaščenec oz. legalni zastopnik, starost 18–70 let, dokazana okužba s SARS-CoV-2 (ustrezna klinična slika in pozitiven test verižne reakcije s polimerazo (angl. *polymerase chain reaction*, PCR) oz. dokaz protiteles pri bolniku, ki ni bil cepljen) v zadnjih 12 tednih, vendar je moralo od zadnjega pozitivnega testa miniti več kot deset dni (bolnik ni smel biti več kužen), vodilni simptom dispneja in/ali bolečina v prsnem košu in/ali palpitacije in/ali zmanjšana zmogljivost ter sinusni ritem na EKG.

Izključitveni kriteriji so bili odsotnost dokazane okužbe s SARS-CoV-2 (bolnik ni imel opravljenega testa PCR oz. dokazanih protiteles in ustrezne anamneze prebolele okužbe s SARS-CoV-2), motnje ritma (blok visoke stopnje (atrioventrikularni bloki

z izjemo atrioventrikularnega bloka 1. stopnje); dopustni so bili kratki zagoni atrijske fibrilacije/paroksizmalne supraventrikularne tahikardije), vgrajen aktiven srčni spodbujevalnik, znana avtonomna disfunkcija, dokazana oz. zelo verjetna pomembna prizadetost srca med prebolevanjem (hospitalizirani bolniki) ali po preboleli okužbi s SARS-CoV-2 (npr. perikarditis ali miokarditis), dokazana pljučna embolija, napredovalo srčno popuščanje in neprimernost bolnika po presoji preiskovalca.

24-urni elektrokardiogram

24-urni EKG smo snemali s pomočjo EKG Holter Medilog AR12 ali BTL Cardiopoint Holter H600 po standardnem protokolu za diagnostiko motenj ritma. Zajeti podatki so bili shranjeni na lokalnem (bolnišničnem) strežniku ponudnika Schiller, od koder smo izvozili intervale RR, ki smo jih analizirali s pomočjo programskega paketa Schiller Medilog DARWIN 2. V času snemanja 24-urnega EKG je vsak preiskovanec izpolnil dnevnik aktivnosti, kamor je zapisal čas, aktivnost in morebitne spremljajoče težave (npr. omotica, slabost, razbijanje srca, nereden utrip, bolečina v prsih, težka sapa ...). Vključeni v raziskavo so bili obveščeni, da en dan pred snemanjem 24-urnega EKG in na dan snemanja ne smejo početi aktivnosti, ki zahtevajo prekomerne telesne napore. Vsak posnetek je nato pregledal specialist. V analizo je bilo vključenih 38 EKG-posnetkov bolnikov z dolгим covidom in 20 EKG-posnetkov kontrolnih preiskovancev.

Obremenitveno testiranje (cikloergometrija)

Obremenitveno testiranje smo izvedli z modificiranim standardnim protokolom na diagnostičnem sistemu CS-200 Excellence za cikloergometrijo Schiller ali BTL Cardiopoint-Ergo E600. Testiranje smo izvajali v dopoldanskem času na sobni temperaturi (22–24 °C). Preiskovanec je bil obveščen, da naj se 24 ur pred obremenitvijo izogiba

fizičnemu naporu in vsaj 5 ur pred obremenitvijo ne uživa alkohola in tobaka. Pred obremenitvijo je bolnik vsaj 10 minut sedel v mirnem in tihem prostoru. Pred pričetkom obremenitve je bil opravljen 10-minutni EKG v mirovanju za izračun HRV pred pričetkom obremenitve na cikloergometru. Obremenitev je bila stopenjska po standardnem protokolu in je vključevala meritve EKG, arterijskega tlaka, volumna porabljenega kisika (VO_2) in volumna proizvedenega ogljikovega dioksida (VCO_2).

Standardni protokol

Prvih 10 minut sta potekala meritve krvnega tlaka in snemanje EKG, sočasno tudi izvajanje hiperventilacije okvirno 20–30 sekund. Nato smo začeli s postopno obremenitvijo. Vsake 3 minute smo dvignili obremenitev za eno stopnjo. Višina dviga je bila odvisna od pričakovane maksimalne obremenitve. Primer grafičnega izpisa cikloergometrije prikazuje slika 1. Z obremenitvijo smo prenehali, ko preiskovanec ni več zmogel oz. če je preiskovanec imel katero od kontraindikacij za nadaljevanje, in sicer dvig ST-spojnice za > 1 mm v odvodih brez zobca Q, zmerno/hudo stenokardijo, hipotenzijski odziv s simptomi ali z znaki ishemije (> 10 mmHg pod izhodiščno vrednostjo ali za > 10 mmHg med dvema stopnjama), hipotenzijski odziv brez znakov ishemije, znake zmanjšanja minutnega volumna srca (bledica, periferna cianoza, hladna koža), obstojno prekatno tahikardijo oz. druge motnje ritma, ki ne omogočajo povečanja minutnega volumna srca, nevrološko simptomatiko, horizontalno ali descendentno znižanje ST-spojnice > 2 mm 60–80 mm za točko J, stopnjujočo se prsno bolečino, motnje srčnega ritma, ki bi lahko povzročile prekatno nestabilnost, hudo utrujenost/dispnejo/klavdikacije, pretiran hipertenzijski odziv ali izzvani levokračni blok. Po obremenitvi smo nadaljevali z ohlajanjem (angl. *cool-down*) po protokolu (približno od 2 do 3 minute, zabeležili smo stop-

njo obremenitve in čas trajanja obremenitve) in snemanjem 10-minutnega EKG v mirovanju (za izračun HRV po obremenitvi). Med izvedbo preiskave je bil navzoč zdravnik ali kvalificirano medicinsko osebje. Podatki so bili shranjeni na lokalnem (bolnišničnem) strežniku ponudnika Schiller, od koder smo izvozili intervale RR, ki smo jih analizirali s pomočjo programskega paketa Kubios. V analizo smo vključili 44 bolnikov z dolгим covidom in 19 oseb iz kontrolne skupine.

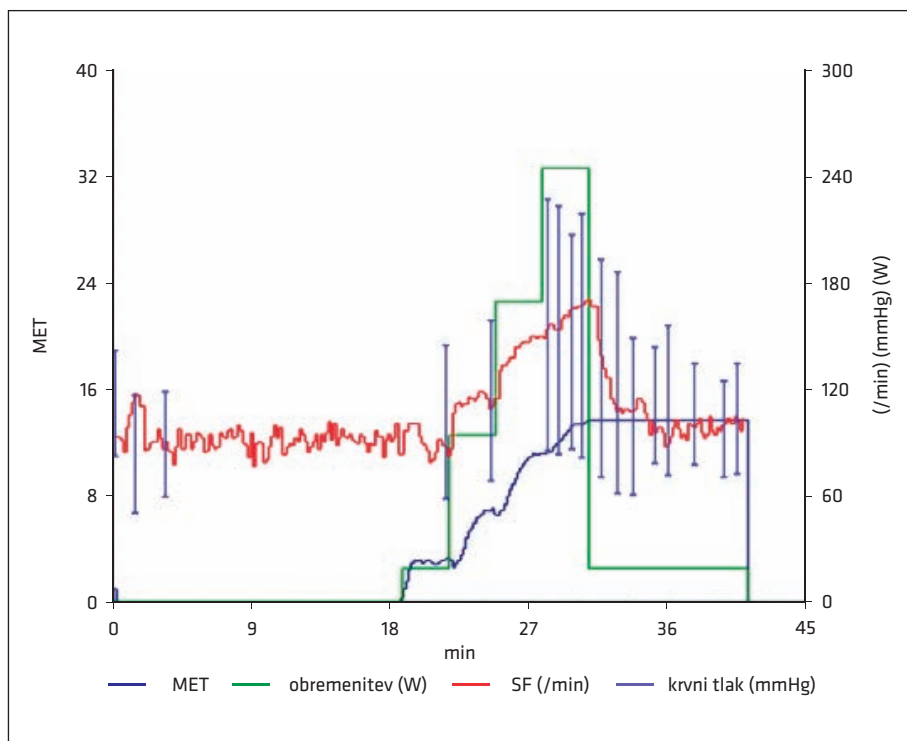
Ultrazvočne meritve srca

UZ-meritve srca in dodatne meritve in analize so bile opravljene na eno-, dvo- in tridimenzionalnih (1D, 2D in 3D) posnetkih UZ srca, opravljenih na napravi GE Vivid™ E95 in shranjenih na delovni postaji EchoPAC™ v kardiološki ambulanti na Univerzitetni kliniki za pljučne bolezni in

alergijo Golnik. V analizo smo vključili meritve indeksa globalne deformacije miokarda in izračun iztisnega deleža LV na podlagi 3D-posnetka srca.

Indeks globalne longitudinalne deformacije miokarda

Indeks globalne longitudinalne deformacije miokarda (angl. *strain*) je mera deformacije ali spremembe v obliki miokarda med dvema točkama, ponavadi izražena kot odstotek deformacije. Po definiciji so vrednosti indeksa deformacije negativne, kadar je izmerjena razdalja (L) manjša od originalne razdalje (Lo). Indeks deformacije [%] izračunamo s formulo $((L - Lo)/Lo) \times 100\%$ (88). Za oceno indeksa deformacije miokarda smo uporabili avtomatsko funkcijsko slikanje (angl. *automated function imaging*, AFI), ki predstavlja pomembno orodje za oceno funkcije LV v mirovanju. AFI

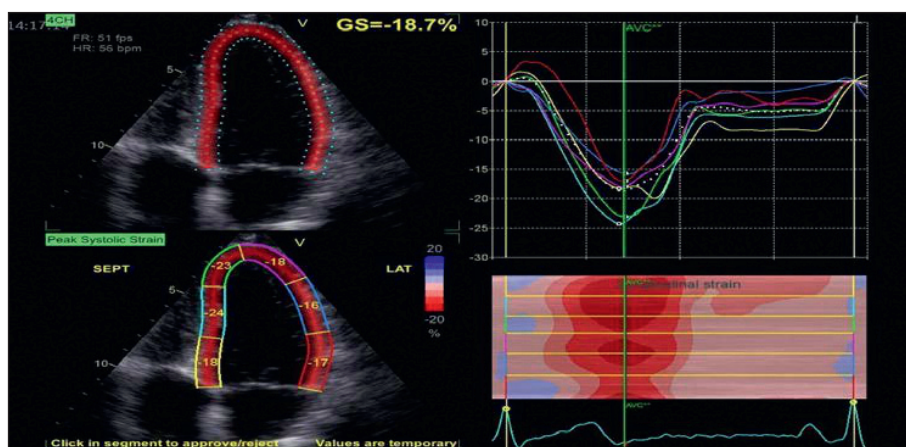


Slika 1. Grafični izpis cikloergometrije. MET – metabolični ekvivalent, SF – srčna frekvenca.

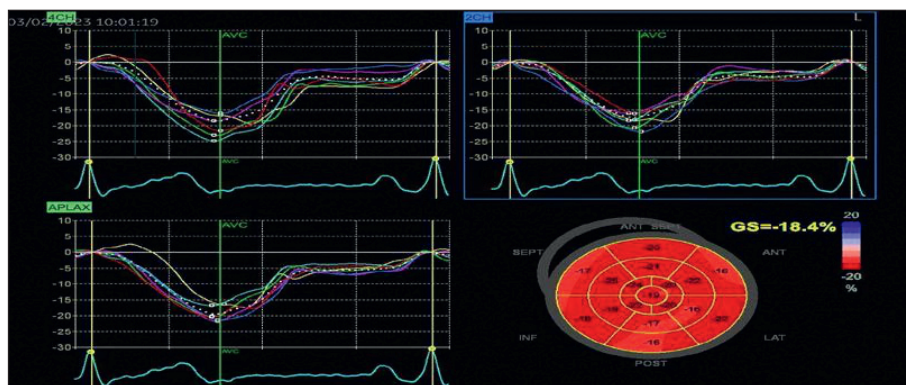
omogoča objektivno kvantitativno analizo celotnega vzdolžnega gibanja miokarda LV skozi srčni cikel v dveh dimenzijah. Sistem se lahko nastavi tako, da avtomatsko najde lokacijo meje endokarda v steni, ali pa ročno označimo dve točki na srčni bazi in eno na apeksu, da označimo polje, ki nas zanima (angl. *region of interest*, ROI). ROI je dinamične narave, saj sledi premikanju srčnega tkiva. Sistem nato izračuna

indeks deformacije vzdolž označenega polja (slika 2) (88).

Algoritem AFI sledi odstotku podaljšanja in krajšanja stene LV v treh vzdolžnih 2D-presekih (apikalna dolga ravnina, ravnina dveh in štirih srčnih votlin) in prikaže rezultate za vsako od teh ravnin. Nato združi rezultate vseh treh ravnin in jih prikaže v obliki tarče (angl. *bull's eye*), ki predstavlja analizo deformacije vsakega



Slika 2. Levo – projekcija štirih srčnih votlin z označenim poljem, ki nas zanima (angl. *region of interest*, ROI) in najvišjim sistoličnim indeksom deformacije. Desno – krivulja z odstotkom indeksa vzdolžne deformacije skozi srčni cikel. 4CH – štiri srčne votline (angl. *4 chambers*), GS – celotna sistolična vrednost za levi ventrikel (angl. *global strain*).



Slika 3. Analiza deformacije levega ventrikla: krivulje, ki prikazujejo odstotek deformacije miokarda skozi srčni cikel, in tarča. 4CH – štiri srčne votline (angl. *4 chambers*), 2CH – dve srčni votlini (angl. *2 chambers*), APLAX – apikalna dolga ravnina (angl. *apical long-axis*), GS – celotna sistolična vrednost za levi ventrikel (angl. *global strain*).

od 17 segmentov miokarda LV, in vrednost globalne longitudinalne deformacije (slika 3) (89).

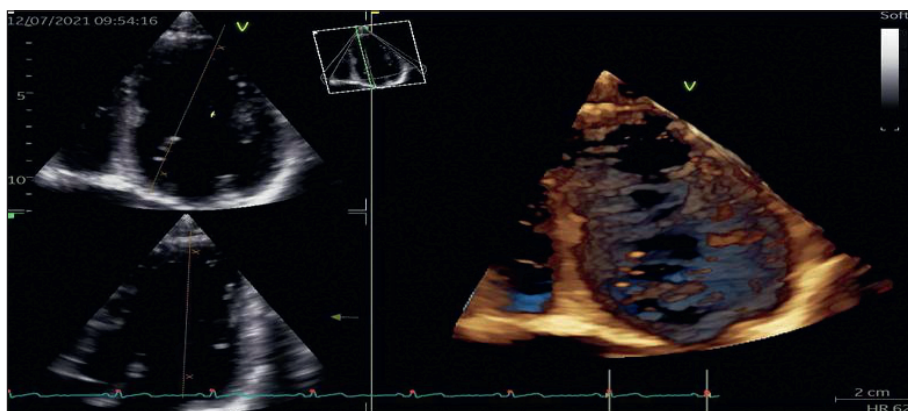
Izračun iztisnega deleža levega ventrikla

S 3D-UZ LV (slika 4) smo lahko s pomočjo ocenjenega končnega diastoličnega volumna (angl. *end-diastolic volume*, EDV) LV in končnega sistoličnega volumna (angl. *end-systolic volume*, ESV) LV izračunali iztisni delež levega ventrikla (angl. *left ventricular*

ejection fraction, LVEF) po naslednji enačbi:
$$\text{LVEF} = ((\text{EDV} - \text{ESV}) / (\text{EDV})) \times 100 \%$$

Statistične metode

Statistično analizo smo izvedli s programom GraphPad Prism, različica 9.4.1. Za analizo zveznih spremenljivk smo uporabili t-test, za analizo opisnih spremenljivk pa Fisherjev eksaktni test. Vrednost p je bila manjša od 0,05, zato smo jo opredelili kot statistično značilno.



Slika 4. UZ levega ventrikla. Levo – dvodimenzionalen UZ levega ventrikla. Desno – tridimenzionalen UZ levega ventrikla.

REZULTATI

Demografski podatki

Demografski podatki preiskovancev so prikazani v tabeli 1.

Simptomatika

Prevalenca simptomov pri bolnikih z dolгим covidom je prikazana v tabeli 2.

Variabilnost srčne frekvence

Tabela 3 prikazuje primerjavo SDNN in okrevanja srčne frekvence (angl. *heart rate recovery*, HRR).

Cikloergometrija

Primerjava nekaterih parametrov cikloergometrije med bolniki z dolгим covidom in kontrolno skupino je prikazana v tabeli 4.

Tabela 1. Demografski podatki preiskovancev. SD – standardna deviacija, CI – interval zaupanja (angl. *confidence interval*), AH – arterijska hipertenzija, KOPB – kronična obstruktivna pljučna bolezen.

Spremenljivka	Bolniki z dolгим covidom	Kontrolna skupina	Vrednost p
Starost [leta]; povprečje ± SD (95-% CI)	45,2 ± 11,5 (42–49)	48,5 ± 11,5 (43–54)	0,293 ^a
Spol [moški/preiskovanci]	22/44 (50 %)	5/20 (25 %)	0,100 ^b
Precepljenost [cepljeni/preiskovanci]	16/44 (36 %)	15/20 (75 %)	0,007 ^b
Pridružene bolezni [oboleli/preiskovanci]:	25/44 (57 %)	8/20 (40 %)	0,283 ^b
• AH	9/44 (20 %)	0/20 (0 %)	0,047 ^b
• dislipidemija	2/44 (4 %)	2/20 (10 %)	0,583 ^b
• respiratorne bolezni (astma, KOPB)	6/46 (14 %)	3/20 (15 %)	1,000 ^b
• ščitnične bolezni	3/44 (7 %)	3/20 (15 %)	0,366 ^b
• malignom	0/44 (0 %)	1/20 (5 %)	0,313 ^b
Kadilec (tudi nekdanji) [kadilci/preiskovanci]	15/44 (34 %)	8/20 (40 %)	0,780 ^b

^a t-test

^b Fisherjev eksaktni test

Tabela 2. Prevalenca simptomov pri bolnikih z dolгим covidom.

Simptom	Prevalenca (%)
Slaba zmogljivost	37/44 (84 %)
Dispneja	34/44 (77 %)
Palpitacije	24/44 (55 %)
Bolečina v prsnem košu	24/44 (55 %)
Kašelj	17/44 (39 %)
Omotica ali vrtoglavica	15/44 (34 %)
Glavobol	8/44 (18 %)
Motnje spomina	6/44 (14 %)

Tabela 3. Primerjava standardne deviacije normalnega do normalnega medutripnega intervala (angl. *standard deviation of the normal to normal inter-beat intervals*, SDNN) in okrevanja srčne frekvence (angl. *heart rate recovery*, HRR). Pri preiskavah, kjer je bilo število preiskovancev različno od tistega iz povzetka, je novo število označeno z N. SD – standardna deviacija, CI – interval zaupanja (angl. *confidence interval*), HR – frekvenca srčnega utripa (angl. *heart rate*).

Spremenljivka	Bolniki z dolgim covidom	Kontrolna skupina	Vrednost p
SDNN 24-urni Holter; povprečje ± SD (95-% CI)	142 ± 41 (130–155) N = 38	153 ± 29 (138–168) (N = 20)	0,679 ^a
HR v mirovanju (5 minut); [utripov/min] povprečje ± SD (95-% CI)	88 ± 2 (84–93) (N = 44)	86 ± 3 (80–92) N = 19	0,607 ^a
SDNN v mirovanju (5 minut); povprečje ± SD (95-% CI)	31,2 ± 15,3 (26,6–35,6) (N = 44)	36,4 ± 15,5 (28,9– 43,9) N = 19	0,227 ^a
SDNN med okrevanjem (5 minut); povprečje ± SD (95-% CI)	9,3 ± 5,2 (7,7–10,8) (N = 44)	11,5 ± 18,0 (9,41–13,5) N = 19	0,111 ^a
HRR v 1. minuti [utripov/min]; povprečje ± SD (95-% CI)	21 ± 9 (18–24) (N = 44)	27 ± 8 (23–31) N = 19	*0,023^a
HRR v 2. minuti [utripov/min]; povprečje ± SD (95-% CI)	35 ± 12 (31–39) (N = 44)	41 ± 9 (37–45) N = 19	0,061 ^a
HRR v 3. minuti [utripov/min]; povprečje ± SD (95-% CI)	42 ± 12 (38–46) (N = 44)	48 ± 10 (43–53) N = 19	0,046 ^a

^at-test

Tabela 4. Primerjava izbranih parametrov cikloergometrije pri bolnikih z dolgim covidom s kontrolno skupino. Pri preiskavah, kjer je bilo število preiskovancev različno od tistega iz povzetka, je novo število označeno z N. VO₂ max – maksimalna aerobna kapaciteta (angl. *maximum aerobic volume*), SD – standardna deviacija, CI – interval zaupanja (angl. *confidence interval*), max HR – maksimalen srčni utrip (angl. *maximum heart rate*).

Spremenljivka	Bolniki z dolgim covidom (N = 44)	Kontrolna skupina (N = 19)	Vrednost p
VO ₂ max [L/min]; povprečje ± SD (95-% CI)	25,1 ± 7,4 (22,8–27,3)	27,2 ± 9,3 (22,8–31,6)	0,330 ^a
Odstotek predvidenega VO ₂ max; povprečje ± SD (95-% CI)	74,4 ± 18,7 % (68,7–80,1 %)	82,7 ± 21,0 % (72,8–92,5 %)	0,120 ^a
Max HR [utripov/min]; povprečje ± SD (95-% CI)	163 ± 17 (158–169)	164 ± 14 (157–170)	0,980 ^a
Odstotek predvidenega max HR; povprečje ± SD (95% CI)	103 ± 10 % (100–106 %)	106 ± 8 % (102–109 %)	0,318 ^a

^at-test

Ultrazvok srca

Primerjava nekaterih parametrov UZ srca med bolniki z dolгим covidom in kontrolno skupino je prikazana v tabeli 5.

Tabela 5. Primerjava vrednosti izbranih parametrov UZ srca bolnikov z dolгим covidom s kontrolno skupino. Pri preiskavah, kjer je bilo število preiskovancev različno od tistega iz povzetka, je novo število označeno z N. EDVi – normaliziran volumen srca (angl. *end-diastolic volume index*), CI – interval zaupanja (angl. *confidence interval*), 3D EF – iztisni delež tridimenzionalne slike (angl. *3-dimensional ejection fraction*).

Spremenljivka	Bolniki z dolгим covidom	Kontrolna skupina	Vrednost p
EDVi [mL/m ²] (95-% CI)	66 ± 1 (63–68)	62 ± 2 (58–67)	0,220 ^a
3D EF (95-% CI)	62,6 ± 0,6 % (61,4–63,8 %) N = 42	62,4 % ± 0,4 % (60,9–64,0 %) N = 20	0,810 ^a
Indeks globalne longitudinalne deformacije (angl. <i>strain</i>) (95-% CI)	–19,4 ± 0,4 (–18,7)–(–20,1) N = 28	–20,5 ± 0,4 (–19,5)–(–21,4) N = 16	0,064 ^a

^a t-test

RAZPRAVA

Demografski podatki

V raziskavo smo vključili osebe, stare med 18 in 70 let. Med skupino z dolгим covidom in kontrolno skupino v povprečni starosti ($p = 0,3$) in spolu ($p = 0,1$) nismo beležili statistično značilnih razlik. Bolniki z dolгим covidom so imeli diagnozo arterijske hipertenzije statistično značilno pogostejše kot kontrolna skupina ($p = 0,047$). V prevalenci drugih pridruženih bolezni nismo beležili razlik med skupinama. Glede na rezultate raziskav Tleyjeha in sodelavcev je arterijska hipertenzija dejavnik tveganja za razvoj dolgega covida pri bolnikih, ki so med procesom prebolevanja okužbe potrebovali bolnišnično zdravljenje (90). Potencialno bi lahko arterijska hipertenzija tudi v vzorcu naše raziskave vplivala na

razvoj dolgega covida, čeprav nihče od vključenih bolnikov ni potreboval bolnišničnega zdravljenja.

Ugotovili smo statistično značilno nižjo precepljenost s cepivom proti SARS-CoV-2 v skupini z dolгим covidom v primerjavi s kontrolno skupino ($p = 0,006$). Rezultat lahko kaže na učinkovitost cepiv pri zaščiti pred okužbo s SARS-CoV-2 in morda ščiti pred razvojem dolgega covida. Upoštevati moramo tudi dejstvo, da so bili kontrolni preiskovanci v raziskavo vključeni kasneje, ko je bil delež precepljenosti med slovenskim prebivalstvom višji.

Skupini se nista statistično značilno razlikovali v deležu kadilcev v posamezni skupini, čeprav je kajenje verjetno dejavnik tveganja za razvoj dolgega covida (91).

Simptomatika

Bolniki z dolгим covidom, vključeni v našo raziskavo, so najpogostejše poročali o slabši zmogljivosti (84 %), dispneji (77 %) ter palpitacijah in bolečini v prsnem košu (55 %). Kašelj (39 %), omotica oz. vrtoglavica (34 %), glavobol (18 %) in motnje spomina (14 %) so bili manj pogosti. Ugotovitev je skladna s preglednim člankom Pavlija in sodelavcev, ki so pregledali 45 relevantnih člankov. Navajajo slabšo fizično zmogljivost oz. utrujenost kot najpogostejši simptom pri bolnikih z dolгим covidom (z incidenco 17,5–72 %), temu pa po pogostnosti sledi dispneja (incidenca 10–40 %) ter ostali redkejši simptomi (bolečina v prsnem košu, olfaktorna/gustatorna disfunkcija, težave z mentalnim zdravjem) (90).

Variabilnost srčne frekvence

Naša druga delovna hipoteza je bila, da je srčna frekvenca v mirovanju (merjena v 5-minutnem intervalu pred obremenitvijo) v povprečju višja v skupini bolnikov z dolгим covidom. Statistično značilno se povprečni srčni frekvenci v 5-minutnem intervalu pred obremenitvijo med skupinama nista razlikovali ($p = 0,6$; t-test), s čimer smo delovno hipotezo ovrgli. Podobno so ugotavljali v turški raziskavi z 99 preiskovanci, kjer med skupino bolnikov z dolгим covidom in kontrolno skupino zdravih niso ugotovili statistično značilne razlike v povprečni srčni frekvenci pri 24-urnih meritvah ($p = 0,424$) (79).

Naša tretja delovna hipoteza je bila, da je HRV v skupini bolnikov z dolгим covidom manjša. Za oceno HRV smo uporabili parameter SDNN. V nobeni od naslednjih spremenljivk se skupini nista statistično značilno razlikovali: 24-urni SDNN ($p = 0,4$), 5-minutni SDNN v mirovanju pred obremenitvijo ($p = 0,81$) in 5-minutni SDNN med okrevanjem po obremenitvi ($p = 0,11$). Nasprotno so v že zgoraj omenjeni turški raziskavi in nekaterih drugih raziskavah ugotovili statistično značilno nižjo vrednost

SDNN v skupini bolnikov z dolгим covidom (79, 81, 84). Kljub temu da razlika med skupinama v naših meritvah SDNN ni bila statistično značilna, so bile vrednosti SDNN nižje v skupini bolnikov z dolгим covidom. Za doseganje statistične značilnosti v omenjenih parametrih bi verjetno potrebovali večji vzorec preiskovancev.

Ugotavljamo statistično značilno razliko v HRR po maksimalni obremenitvi v 1. ($p = 0,02$) in 3. minuti ($p = 0,05$). Skladno z našimi ugotovitvami so Inanc in sodelavci v raziskavi, kjer so primerjali 65 bolnikov najmanj 1 leto po COVID-19 s 57 zdravimi kontrolnimi preiskovanci med aprilom 2020 in 2021, ugotovili statistično značilno večji delež upočasnjene HRR (definiran z razliko med maksimalno srčno frekvenco in srčno frekvenco 1 minuto po maksimalni srčni frekvenci ≤ 12 utripov/min) v skupini preiskovancev po prebolelem COVID-19 (delež 38,5 %, $p \leq 0,001$) (92).

Po koncu fizične aktivnosti nastopita aktivacija parasimpatičnega živčevja in deaktivacija simpatičnega živčevja, vendar njun relativen prispevek k srčni frekvenci še ni popolnoma jasen (93). Glede na prejšnje raziskave na preiskovancih, ki so telovadili z blokado avtonomnega živčevja ali brez nje, so Savin in sodelavci postavili, da takoj po obremenitvi k okrevanju srčne frekvence prispeva deaktivacija simpatičnega živčevja, parasimpatično živčevje pa naj bi imelo večjo vlogo kasneje med okrevanjem po aktivnosti (94). Nasprotno so Imai in sodelavci v raziskavi, v kateri so primerjali atlete s srčnimi bolniki, zaključil, da se takoj po obremenitvi srčna frekvenca zmanjša primarno zaradi parasimpatičnega živčevja (95). To naj bi bilo podprto z dejstvom, da je vrh plazemske koncentracije noradrenalina eno minuto po maksimalni obremenitvi, kar je v skladu z aktivnostjo simpatičnega živčevja tudi takoj po obremenitvi, zato naj bi bilo znižanje srčne frekvence v zgodnji fazi okrevanja odvisno predvsem od reaktivacije

parasimpatičnega živčevja (96). Na podlagi omenjenih raziskav bi lahko sklepali, da je značilno znižan HRR v skupini bolnikov z dolгим covidom posledica kasnejše reaktivacije parasimpatičnega živčevja po obremenitvi, kar bi lahko nakazovalo na avtonomno disfunkcijo po prebolelem COVID-19.

Cikloergometrija

Čeprav se v naši raziskavi izmerjene vrednosti VO_2 max med kohortama niso statistično značilno razlikovale ($p = 0,12$), smo v skupini z dolгим covidom beležili v povprečju nižje vrednosti. Obstaja več raziskav, ki to potrjujejo (82, 87, 97). Verjetno je bila največja omejitev naše raziskave relativno majhno število vključenih preiskovancev, saj bi glede na tendenco predvidenega VO_2 max k nižjim vrednostim v skupini z dolгим covidom pri večjem številu preiskovancev najverjetneje dokazali statistično značilno razliko. V naši raziskavi tudi nismo dokazali statistično značilne razlike v maksimalni srčni frekvenci med obremenitvijo med skupinama ($p = 0,98$). Inanc in sodelavci sto v svoji raziskavi z obremenitvenim testom na tekalni stezi primerjali 65 bolnikov najmanj eno leto po COVID-19 s 57 zdravimi kontrolnimi preiskovanci brez prejetega cepiva proti SARS-CoV-2 in brez prebolelega COVID-19 med aprilom 2020 in 2021. Ugotovili so statistično značilno višji VO_2 max med obremenitvijo pri bolnikih po COVID-19 (158 utripov/min) v primerjavi s kontrolno skupino (151 utripov/min) ($p = 0,026$) (92). Razlike v maksimalni porabi kisika verjetno lahko pripišemo zmanjšani sposobnosti mitohondrijev za uporabo kisika, kar so že pokazali med prebolevanjem okužbe s SARS-CoV-2 (98).

Ultrazvok srca

Potrtili smo delovno hipotezo, da pri bolnikih z dolгим covidom UZ-opredeljivih sprememb ne bomo dokazali. EDV se med

skupinama ni statistično značilno razlikoval, LVEF je bil v obeh skupinah znotraj normalnih vrednosti. Indeks globalne longitudinalne deformacije je bil v skupini bolnikov z dolгим covidom sicer nižji kot pri kontrolni skupini, vendar razlika ni bila statistično značilna ($p = 0,08$). V obeh skupinah so bili rezultati znotraj referenčnih vrednosti. Z rezultati naše raziskave so skladni tudi zaključki že obstoječih raziskav. Danska raziskava na 22 posameznikih z vztrajajočimi srčnimi simptomi z mediano 382 dni po diagnozi COVID-19 ni pokazala nobenih razlik v LVEF ($61,45 \pm 6,59\%$) ter indeksom globalne deformacije miokarda ($-19,80 \pm 3,12\%$) v primerjavi z zdravo kontrolno skupino (99). Po drugi strani so v preglednem članku, ki je zajemal 35 raziskav, ocenjevali srčno-žilne posledice okužbe s SARS-CoV-2 pri 52.609 bolnikih. V 29 raziskavah je bila opravljena objektivna srčna ocena, od tega so v 15 uporabili UZ srca. V srednjeročnem obdobju po okužbi (3–6 mesecev) je bila najpogostejša sprememba zmanjšan indeks globalne longitudinalne deformacije LV, in sicer pri 30 % bolnikov. Avtorji opozarjajo, da je bilo tveganje pristranskosti pri večini raziskav precejšnje. Gre namreč za UZ, kjer igra izrazito vlogo natančna meritev oz. izkušnost UZ-tehnika. COVID-19 naj bi bil sicer povezan predvsem s subkliničnimi miokardialnimi poškodbami v zgodnji fazi in razvojem diastolične disfunkcije v kasnejšem obdobju (100).

Najpomembnejše ugotovitve iz naše raziskave so, da imajo bolniki z dolгим covidom v primerjavi s kontrolno skupino statistično značilno počasnejši HRR po maksimalnem naporu in statistično značilno manjšo verjetnost, da so bili cepljeni proti SARS-CoV-2. Med skupinama nismo ugotovili statistično značilnih razlik v aerobni zmogljivosti, povprečni srčni frekvenci, HRV in izbranih UZ-parametrih.

Glede na zastavljene hipoteze lahko zaključimo:

1. Nismo mogli potrditi hipoteze, da je aerobna zmogljivost pri bolnikih z dolгим covidom zmanjšana.
2. Nismo mogli potrditi hipoteze, da imajo bolniki z dolгим covidom v povprečju višjo srčno frekvenco.
3. Nismo mogli potrditi hipoteze, da imajo bolniki z dolгим covidom zmanjšan HRV.
4. Potrdili smo hipotezo, da pri bolnikih z dolгим covidom ni prisotnih z UZ-preiskavo opredeljenih strukturnih in funkcionalnih sprememb srca.

LITERATURA

1. WHO: Coronavirus disease (COVID-19) [internet]. Geneva: World Health Organization; [citirano 2023 Jan 10]. Dosegljivo na: https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_1
2. CDC: Long COVID or Post- COVID Conditions [internet]. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention; [citirano 2023 Jan 10] Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/long-term-effects/index.html>
3. WHO: Post COVID-19 condition. [internet]. Geneva: World Health Organization; [citirano 2023 Jan 10]. Dosegljivo na: <https://www.who.int/teams/health-care-readiness/post-covid-19-condition>
4. National Institute for Health and Care Excellence (NICE), Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) and Royal College of General Practitioners (RCGP). COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19 [internet]. 2022 [citirano 2023 Jan 10]. Dosegljivo na: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng188/resources/covid19-rapid-guideline-managing-the-longterm-effects-of-covid19-pdf-51035515742>
5. Mantovani A, Morrone MC, Patrono C, et al. Long Covid: Where we stand and challenges ahead. *Cell Death Differ.* 2022; 29 (10): 1891–1900. doi: 10.1038/s41418-022-01052-6
6. WHO: Post Covid-19 condition (Long COVID) [internet]. Geneva: World Health Organization; [citirano 2023 Jan 10]. Dosegljivo na: <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/post-covid-19-condition>
7. Havervall S, Rosell A, Phillipson M, et al. Symptoms and Functional Impairment Assessed 8 Months After Mild COVID-19 Among Health Care Workers. *JAMA.* 2021; 325 (19): 2015–6. doi: 10.1001/jama.2021.5612
8. Greenhalgh T, Knight M, A'Court C, et al. Management of post-acute covid-19 in primary care. *BMJ.* 2020; 370: m3026. doi: 10.1136/bmj.m3026
9. Tenforde MW, Kim SS, Lindsell CJ, et al. Symptom Duration and Risk Factors for Delayed Return to Usual Health Among Outpatients with COVID-19 in a Multistate Health Care Systems Network - United States, March-June 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020; 69 (30): 993–8. doi: 10.15585/mmwr.mm6930e1
10. Carvalho-Schneider C, Laurent E, Lemaignan A, et al. Follow-up of adults with noncritical COVID-19 two months after symptom onset. *Clin Microbiol Infect.* 2021; 27 (2): 258–63. doi: 10.1016/j.cmi.2020.09.052
11. Becker RC. COVID-19 and its sequelae: A platform for optimal patient care, discovery and training. *J Thromb Thrombolysis.* 2021; 51 (3): 587–94. doi: 10.1007/s11239-021-02375-w
12. Subramanian A, Nirantharakumar K, Hughes S, et al. Symptoms and risk factors for long COVID in non-hospitalized adults. *Nat Med.* 2022; 28 (8): 1706–14. doi: 10.1038/s41591-022-01909-w
13. Asadi-Pooya AA, Akbari A, Emami A, et al. Risk Factors Associated with Long COVID Syndrome: A Retrospective Study. *Iran J Med Sci.* 2021; 46 (6): 428–36. doi: 10.30476/ijms.2021.92080.2326
14. Su Y, Yuan D, Chen DG, et al. Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae. *Cell.* 2022; 185 (5): 881–95.e20. doi: 10.1016/j.cell.2022.01.014
15. Mahase E. Long covid could be four different syndromes, review suggests. *BMJ.* 2020; 371: m3981. doi: 10.1136/bmj.m3981

16. Dani M, Dirksen A, Taraborrelli P, et al. Autonomic dysfunction in 'long COVID': Rationale, physiology and management strategies. *Clin Med (Lond)*. 2021; 21 (1): e63–e67. doi: 10.7861/clinmed.2020-0896
17. Del Rio R, Marcus NJ, Inestrosa NC. Potential Role of Autonomic Dysfunction in Covid-19 Morbidity and Mortality. *Front Physiol*. 2020; 11: 561749. doi: 10.3389/fphys.2020.561749
18. Goldstein DS. The extended autonomic system, dyshomeostasis, and COVID-19. *Clin Auton Res*. 2020; 30 (4): 299–315. doi: 10.1007/s10286-020-00714-0
19. Mehndru S, Merad M. Pathological sequelae of long-haul COVID. *Nat Immunol*. 2022; 23 (2): 194–202. doi: 10.1038/s41590-021-01104-y
20. Moran E, Cook T, Goodman AL, et al. Persistent SARS-CoV-2 infection: The urgent need for access to treatment and trials. *Lancet Infect Dis*. 2021; 21 (10): 1345–7. doi: 10.1016/S1473-3099(21)00464-3
21. Yang B, Fan J, Huang J, et al. Clinical and molecular characteristics of COVID-19 patients with persistent SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun*. 2021; 12 (1): 3501. doi: 10.1038/s41467-021-23621-y
22. Zhang L, Richards A, Barrasa MI, et al. Reverse-transcribed SARS-CoV-2 RNA can integrate into the genome of cultured human cells and can be expressed in patient-derived tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2021; 118 (21): e2105968118. doi: 10.1073/pnas.2105968118
23. Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, et al. Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA*. 2020; 323 (15): 1488–94. doi: 10.1001/jama.2020.3204
24. Widders A, Broom A, Broom J. SARS-CoV-2: The viral shedding vs infectivity dilemma. *Infect Dis Health*. 2020; 25 (3): 210–5. doi: 10.1016/j.idh.2020.05.002
25. Long QX, Tang XJ, Shi QL, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med*. 2020; 26 (8): 1200–4. doi: 10.1038/s41591-020-0965-6
26. Avanzato VA, Matson MJ, Seifert SN, et al. Case Study: Prolonged Infectious SARS-CoV-2 Shedding from an Asymptomatic Immunocompromised Individual with Cancer. *Cell*. 2020; 183 (7): 1901–12.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.10.049
27. Galeotti C, Bayry J. Autoimmune and inflammatory diseases following COVID-19. *Nat Rev Rheumatol*. 2020; 16 (8): 413–4. doi: 10.1038/s41584-020-0448-7
28. Casanova JL, Abel L. Mechanisms of viral inflammation and disease in humans. *Science*. 2021; 374 (6571): 1080–6. doi: 10.1126/science.abj7965
29. Cervia C, Zurbuchen Y, Taeschler P, et al. Immunoglobulin signature predicts risk of post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Commun*. 2022; 13 (1): 446. doi: 10.1038/s41467-021-27797-1
30. Phetsouphanh C, Darley DR, Wilson DB, et al. Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection. *Nat Immunol*. 2022; 23 (2): 210–6. doi: 10.1038/s41590-021-01113-x
31. Kell DB, Laubscher GJ, Pretorius E. A central role for amyloid fibrin microclots in long COVID/PASC: Origins and therapeutic implications. *Biochem J*. 2022; 479 (4): 537–59. doi: 10.1042/BCJ20220016
32. Cecconi M, Forni G, Mantovani A. Ten things we learned about COVID-19. *Intensive Care Med*. 2020; 46 (8): 1590–3. doi: 10.1007/s00134-020-06140-0
33. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 383 (2): 120–8. doi: 10.1056/NEJMoa2015432
34. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020; 395 (10234): 1417–8. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5
35. Goshua G, Pine AB, Meizlish ML, et al. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: Evidence from a single-centre, cross-sectional study. *Lancet Haematol*. 2020; 7 (8): e575–e582. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30216-7
36. Libby P, Lüscher T. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease. *Eur Heart J*. 2020; 41 (32): 3038–44. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa623
37. Rambaldi A, Gritti G, Micò MC, et al. Endothelial injury and thrombotic microangiopathy in COVID-19: Treatment with the lectin-pathway inhibitor narsoplimab. *Immunobiology*. 2020; 225 (6): 152001. doi: 10.1016/j.imbio.2020.152001
38. Stravalaci M, Pagani I, Paraboschi EM, et al. Recognition and inhibition of SARS-CoV-2 by humoral innate immunity pattern recognition molecules. *Nat Immunol*. 2022; 23 (2): 275–86. doi: 10.1038/s41590-021-01114-w
39. Chantley M, Islam S, Bindra GK, et al. Neurotoxic amyloidogenic peptides in the proteome of SARS-COV2: Potential implications for neurological symptoms in COVID-19. *Nat Commun*. 2022; 13 (1): 3387. doi: 10.1038/s41467-022-30932-1

40. Wang W, Wang CY, Wang SI, Wei JC. Long-term cardiovascular outcomes in COVID-19 survivors among non-vaccinated population: A retrospective cohort study from the TriNetX US collaborative networks. *EClinicalMedicine*. 2022; 53: 101619. doi: 10.1016/j.eclinm.2022.101619
41. Crea F. European Society of Cardiology guidance for the management of cardiovascular disease during the pandemic and a focus on long COVID. *Eur Heart J*. 2022; 43 (11): 1017–21. doi: 10.1093/eurheartj/ehac087
42. Martínez-Salazar B, Holwerda M, Stüdle C, et al. COVID-19 and the Vasculature: Current Aspects and Long-Term Consequences. *Front Cell Dev Biol*. 2022; 10: 824851. doi: 10.3389/fcell.2022.824851
43. Raman B, Bluemke DA, Lüscher TF, et al. Long COVID: Post-acute sequelae of COVID-19 with a cardiovascular focus. *Eur Heart J*. 2022; 43 (11): 1157–72. doi: 10.1093/eurheartj/ehac031
44. Salem AM, Yar T, Al Eid M, et al. Post-Acute Effect of SARS-CoV-2 Infection on the Cardiac Autonomic Function. *Int J Gen Med*. 2022; 15: 7593–603. doi: 10.2147/IJGM.S382331
45. Aranyó J, Bazan V, Lladós G, et al. Inappropriate sinus tachycardia in post-COVID-19 syndrome. *Sci Rep*. 2022; 12 (1): 298. doi: 10.1038/s41598-021-03831-6
46. Tudoran C, Tudoran M, Cut TG, et al. Evolution of Echocardiographic Abnormalities Identified in Previously Healthy Individuals Recovering from COVID-19. *J Pers Med*. 2022; 12 (1): 46. doi: 10.3390/jpm12010046
47. Li DL, Davogusto G, Soslow JH, et al. Characteristics of COVID-19 Myocarditis With and Without Multisystem Inflammatory Syndrome. *Am J Cardiol*. 2022; 168: 135–41. doi: 10.1016/j.amjcard.2021.12.031
48. Driggin E, Madhavan MV, Bikdeli B, et al. Cardiovascular Considerations for Patients, Health Care Workers, and Health Systems During the COVID-19 Pandemic. *J Am Coll Cardiol*. 2020; 75 (18): 2352–71. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.031
49. Boehmer TK, Kompaniyets L, Lavery AM, et al. Association Between COVID-19 and Myocarditis Using Hospital-Based Administrative Data - United States, March 2020-January 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021; 70 (35): 1228–32. doi: 10.15585/mmwr.mm7035e5
50. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: A retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395 (10229): 1054–62. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3
51. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395 (10223): 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
52. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579 (7798): 270–3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7
53. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, et al. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 2020; 181 (2): 281–92.e6. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058
54. Tan W, Aboulhossn J. The cardiovascular burden of coronavirus disease 2019 (COVID-19) with a focus on congenital heart disease. *Int J Cardiol*. 2020; 309: 70–7. doi: 10.1016/j.ijcard.2020.03.063
55. Zhang H, Penninger JM, Li Y, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: Molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med*. 2020; 46 (4): 586–90. doi: 10.1007/s00134-020-05985-9
56. Cheng Y, Luo R, Wang K, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int*. 2020; 97 (5): 829–38. doi: 10.1016/j.kint.2020.03.005
57. Gu J, Han B, Wang J. COVID-19: Gastrointestinal Manifestations and Potential Fecal-Oral Transmission. *Gastroenterology*. 2020; 158 (6): 1518–9. doi: 10.1053/j.gastro.2020.02.054
58. South AM, Tomlinson L, Edmonston D, et al. Controversies of renin-angiotensin system inhibition during the COVID-19 pandemic. *Nat Rev Nephrol*. 2020; 16 (6): 305–7. doi: 10.1038/s41581-020-0279-4
59. South AM, Diz DI, Chappell MC. COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020; 318 (5): H1084–H1090. doi: 10.1152/ajpheart.00217.2020
60. Zhang C, Zhao YX, Zhang YH, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 attenuates atherosclerotic lesions by targeting vascular cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107 (36): 15886–91. doi: 10.1073/pnas.1001253107
61. Dong B, Zhang C, Feng JB, et al. Overexpression of ACE2 enhances plaque stability in a rabbit model of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008; 28 (7): 1270–6. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.164715
62. Li B, Yang J, Zhao F, et al. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. *Clin Res Cardiol*. 2020; 109 (5): 531–8. doi: 10.1007/s00392-020-01626-9
63. Hitomi H, Kiyomoto H, Nishiyama A. Angiotensin II and oxidative stress. *Curr Opin Cardiol*. 2007; 22 (4): 311–5. doi: 10.1097/HCO.0b013e3281532b53
64. Masi S, Uliana M, Virdis A. Angiotensin II and vascular damage in hypertension: Role of oxidative stress and sympathetic activation. *Vascul Pharmacol*. 2019; 115: 13–7. doi: 10.1016/j.vph.2019.01.004

65. Nakamura S, Imamura T, Okamoto K. Tissue factor in neutrophils: Yes. *J Thromb Haemost.* 2004; 2 (2): 214–7. doi: 10.1111/j.1538-7836.2004.00548.x
66. Ding Y, Wang H, Shen H, et al. The clinical pathology of severe acute respiratory syndrome (SARS): A report from China. *J Pathol.* 2003; 200 (3): 282–9. doi: 10.1002/path.1440
67. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020; 71 (15): 762–8. doi: 10.1093/cid/ciaa248
68. Bansal M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes Metab Syndr.* 2020; 14 (3): 247–50. doi: 10.1016/j.dsx.2020.03.013
69. Amodio G, Moliterno O, Fasano D, et al. PERK-Mediated Unfolded Protein Response Activation and Oxidative Stress in PARK20 Fibroblasts. *Front Neurosci.* 2019; 13: 673. doi: 10.3389/fnins.2019.00673
70. Caggiano R, Cattaneo F, Moliterno O, et al. miR-128 Is Implicated in Stress Responses by Targeting MAFG in Skeletal Muscle Cells. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 9308310. doi: 10.1155/2017/9308310
71. Guo T, Fan Y, Chen M, et al. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol.* 2020; 5 (7): 811–8. doi: 10.1001/jamacardio.2020.1017
72. Mogensen TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clin Microbiol Rev.* 2009; 22 (2): 240–73. doi: 10.1128/CMR.00046-08
73. Blagova O, Varionchik N, Zaidenov V, et al. Anti-heart antibodies levels and their correlation with clinical symptoms and outcomes in patients with confirmed or suspected diagnosis COVID-19. *Eur J Immunol.* 2021; 51 (4): 893–902. doi: 10.1002/eji.202048930
74. Baum P, Do L, Deterding L, et al. Cardiac function in relation to functional status and fatigue in patients with post-COVID syndrome. *Sci Rep.* 2022; 12 (1): 19575. doi: 10.1038/s41598-022-24038-3
75. Breitbart P, Koch A, Schmidt M, et al. Clinical and cardiac magnetic resonance findings in post-COVID patients referred for suspected myocarditis. *Clin Res Cardiol.* 2021; 110 (11): 1832–40. doi: 10.1007/s00392-021-01929-5
76. Cramer GAG, Bielecki M, Züst R, et al. Reduced maximal aerobic capacity after COVID-19 in young adult recruits, Switzerland, May 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25 (36): 2001542. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.36.2001542
77. Singh I, Joseph P, Heerdt PM, et al. Persistent Exertional Intolerance After COVID-19: Insights From Invasive Cardiopulmonary Exercise Testing. *Chest.* 2022; 161 (1): 54–63. doi: 10.1016/j.chest.2021.08.010
78. Tiwari R, Kumar R, Malik S, Raj T, Kumar P. Analysis of Heart Rate Variability and Implication of Different Factors on Heart Rate Variability. *Curr Cardiol Rev.* 2021; 17 (5): e160721189770. doi: 10.2174/1573403X16999201231203854
79. Asarcikli LD, Hayiroglu Mİ, Osken A, et al. Heart rate variability and cardiac autonomic functions in post-COVID period. *J Interv Card Electrophysiol.* 2022; 63 (3): 715–21. doi: 10.1007/s10840-022-01138-8
80. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation.* 1996; 93 (5): 1043–65.
81. Kurtoglu E, Afsin A, Aktaş İ, et al. Altered cardiac autonomic function after recovery from COVID-19. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2022; 27 (1): e12916. doi: 10.1111/anec.12916
82. Liviero F, Scapellato ML, Folino F, et al. Persistent Increase of Sympathetic Activity in Post-Acute COVID-19 of Paucisymptomatic Healthcare Workers. *Int J Environ Res Public Health.* 2023; 20 (1): 830. doi: 10.3390/ijerph20010830
83. Shah B, Kunal S, Bansal A, et al. Heart rate variability as a marker of cardiovascular dysautonomia in post-COVID-19 syndrome using artificial intelligence. *Indian Pacing Electrophysiol J.* 2022; 22 (2): 70–6. doi: 10.1016/j.jpej.2022.01.004
84. Marques KC, Silva CC, Trindade SDS, et al. Reduction of Cardiac Autonomic Modulation and Increased Sympathetic Activity by Heart Rate Variability in Patients With Long COVID. *Front Cardiovasc Med.* 2022; 9: 862001. doi: 10.3389/fcvm.2022.862001
85. Soliński M, Pawlak A, Petelczyc M, et al. Heart rate variability comparison between young males after 4–6 weeks from the end of SARS-CoV-2 infection and controls. *Sci Rep.* 2022; 12 (1): 8832. doi: 10.1038/s41598-022-12844-8
86. Xia H, Lazartigues E. Angiotensin-converting enzyme 2: Central regulator for cardiovascular function. *Curr Hypertens Rep.* 2010; 12 (3): 170–5. doi: 10.1007/s11906-010-0105-7
87. Xiao L, Haack KK, Zucker IH. Angiotensin II regulates ACE and ACE2 in neurons through p38 mitogen-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2013; 304 (11): C1073–C1079. doi: 10.1152/ajpcell.00364.2012
88. Hansen G, Langeland S, Snare S, et al. Evaluation of left ventricular longitudinal global and segmental strain- AFI 2.0. GE Healthcare [internet]. 2019 [citirano 2023 Jan 30].

89. Phillip S, Friedman Z, Harrison E. Automated Function Imaging (AFI). Ge Healthcare [internet]. 2006 [citirano 2023 Jan 30].
90. Tleyjeh IM, Saddik B, AlSwaideh N, et al. Prevalence and predictors of Post-Acute COVID-19 Syndrome (PACS) after hospital discharge: A cohort study with 4 months median follow-up. *PLoS One*. 2021; 16 (12): e0260568. doi: 10.1371/journal.pone.0260568
91. de Granda-Orive JI, Solano-Reina S, Jiménez-Ruiz CA. Are Smoking and Vaping Risk Factors of Developing Long and Persistent Post-COVID-19?. *Open Respir Arch*. 2022; 4 (4): 100195. doi: 10.1016/j.opresp.2022.100195
92. Inanc IH, Sabanoglu C. Autonomic dysfunction and metabolic disorders as the possible sequelae of COVID-19 infection. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2022; 26 (15): 5587-95. doi: 10.26355/eurrev_202208_29431
93. Pierpont GL, Adabag S, Yannopoulos D. Pathophysiology of exercise heart rate recovery: A comprehensive analysis. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2013; 18 (2): 107-17. doi: 10.1111/anec.12061
94. Savin WM, Davidson DM, Haskell WL. Autonomic contribution to heart rate recovery from exercise in humans. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1982; 53 (6): 1572-5. doi: 10.1152/jappl.1982.53.6.1572
95. Imai K, Sato H, Hori M, et al. Vagally mediated heart rate recovery after exercise is accelerated in athletes but blunted in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1994; 24 (6): 1529-35. doi: 10.1016/0735-1097(94)90150-3
96. Perini R, Orizio C, Comandè A, et al. Plasma norepinephrine and heart rate dynamics during recovery from submaximal exercise in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1989; 58 (8): 879-83. doi: 10.1007/BF02332222
97. Barbagelata L, Masson W, Iglesias D, et al. Cardiopulmonary Exercise Testing in Patients with Post-COVID-19 Syndrome. *Med Clin (Barc)*. 2022; 159 (1): 6-11. doi: 10.1016/j.medcli.2021.07.007
98. Ajaz S, McPhail MJ, Singh KK, et al. Mitochondrial metabolic manipulation by SARS-CoV-2 in peripheral blood mononuclear cells of patients with COVID-19. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2021; 320 (1): C57-C65. doi: 10.1152/ajpcell.00426.2020
99. Wood G, Kirkevang TS, Agergaard J, et al. Cardiac Performance and Cardiopulmonary Fitness After Infection With SARS-CoV-2. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9: 871603. doi: 10.3389/fcvm.2022.871603
100. Ramadan MS, Bertolino L, Zampino R, et al. Cardiac sequelae after coronavirus disease 2019 recovery: A systematic review. *Clin Microbiol Infect*. 2021; 27 (9): 1250-61. doi: 10.1016/j.cmi.2021.06.015