Procjena moždane vazoreaktivnosti transkranijskim kolor dopplerom i testom zadržavanja daha u bolesnika nakon preboljele infekcije virusom SARS-COV-2

Marčić, Marino

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:098006

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

MARINO MARČIĆ

PROCJENA MOŽDANE VAZOREAKTIVNOSTI TRANSKRANIJSKIM KOLOR DOPPLEROM I TESTOM ZADRŽAVANJA DAHA U BOLESNIKA NAKON PREBOLJELE INFEKCIJE VIRUSOM SARS-COV-2

DOKTORSKI RAD

Split, 2022.

Zahvaljujem mentorici Katarini Vukojević, mojoj obitelji i prijateljima.

SADRŽAJ

1.	**UVOD**	1
1.1.	SARS-CoV-2 virus i COVID 19 pandemija	1
1.2.	Čimbenici rizika za razvoj cerebrovaskularne bolesti	11
1.3.	Transkranijska dopler sonografija (TCD) i transkranijska dopler sonografija kodirana bojom (TCCD)	14
1.4.	Moždana vazoreaktivnost i test zadržavanja daha	16
2.	**CILJ RADA I HIPOTEZE**	19
3.	**ISPITANICI I POSTUPCI**	20
3.1.	Ispitanici	20
3.2.	Postupci	21
3.3.	Statistička raščlamba	25
4.	**REZULTATI**	26
4.1.	Demografski podatci i klinički parametri	26
4.2.	Ispitivanja 36 dana nakon infekcije SARS-CoV-2 virusom	29
4.3.	Ispitivanja 180 dana nakon infekcije SARS-CoV-2 virusom	38
5.	**RASPRAVA**	44
6.	**ZAKLJUČCI**	54
7.	**LITERATURA**	55
8.	**SAŽETAK**	67
9.	**SUMMARY**	68
10.	**DODATAK**	69
11.	**ŽIVOTOPIS**	71

Popis tablica i slika:

Slika 1. Struktura SARS-CoV-2 virusa i ACE2 receptora (stranica 3.)

Slika 2. Izraženost ACE2 receptora u u različitim organskim sustavima (stranica 5.)

Slika 3. Način ulaza SARS-CoV-2 virusa u stanicu i replikacija virusne čestice (stranica 6.)

Tablica 1. Težina kliničke slike respiracijske SARS-CoV-2 infekcije prema SZO (stranica 8.)

Tablica 2. Neurološki simptomi povezani sa SARS-CoV-2 infekcijom (stranica 10.)

Tablica 3. Kriteriji za uključenje i isključenje u studiju (stranica 24.)

Tablica 4. Prikaz broja (%) ispitanika prema kvalitativnim podacima i aritmetička sredina ± SD kvantitativnih podataka u odnosu na ispitivane skupine (ispitanici nakon SARS-CoV-2 infekcije i ispitanici kontrolne skupine) (stranica 27.)

Tablica 5. Prikaz simptoma u skupini ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije (stranica 28.)

Tablica 6. Prikaz aritmetičkih sredina tri mjerenja brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju i ±SD (95% CI) prema ispitivanim parametrima (stranica 30.)

Tablica 7. Prikaz aritmetičkih sredina i ±SD (95% CI) brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u mirovanju i nakon zadržavanja daha (stranica 32.)

Tablica 8. Prikaz medijana (IQR) promjena brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na skupine ispitanika (stranica 34.)

Tablica 9. Usporedba brzina protoka u mirovanju i nakon testa zadržavanja disanja u skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije u odnosu na spol (stranica 37.)

Tablica 10. Prikaz broja ispitanika prema kvalitativnim kliničkim podacima i aritmetička sredina ± SD kvantitativnih podataka 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije (stranica 39)

Tablica 11. Prikaz aritmetičkih sredina brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju ±SD (95%CI) u mirovanju 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije (stranica 40.)

Tablica 12. Prikaz aritmetičkih sredina brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju ±SD (95% CI) nakon testa zadržavanja daha 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije (stranica 41.)

Tablica 13. Prikaz medijana (IQR) promjena brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na vrijeme proteklo od početka SARS-CoV-2 infekcije u ispitanika (stranica 42.)

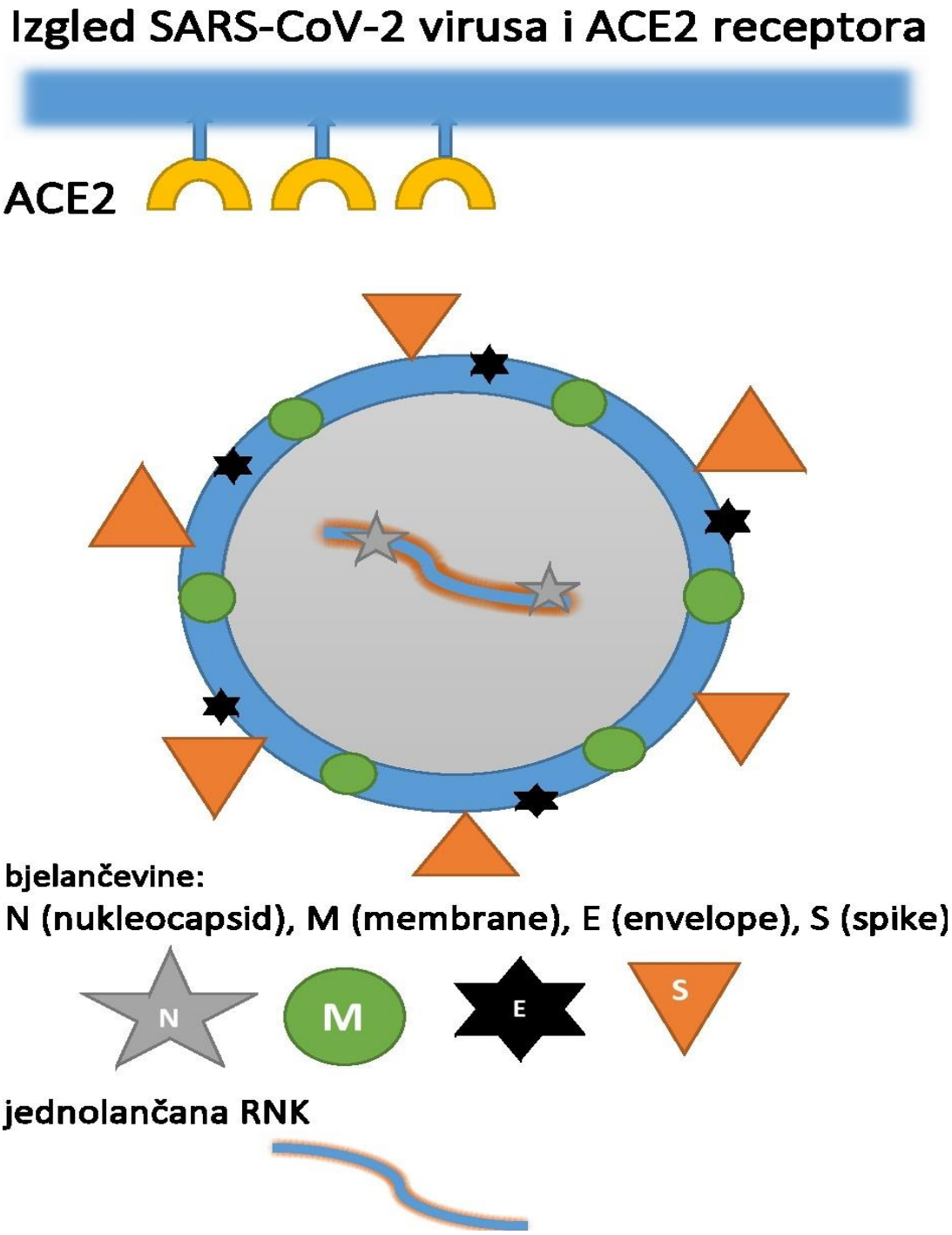
Slika 4. Aspekti borbe protiv COVID-19 pandemije (stranica 53.)

1. UVOD

1.1. SARS-CoV-2 virus i COVID-19 pandemija

Akutna respiratorna infekcija koronavirusom 19 (*engl*. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2- SARS-CoV-2) goruć je globalni zdravstveni problem od konca 2019. godine. Do kraja listopada 2021. godine, pandemija uzrokovana ovim virusom, rezultirala je s više od 250 milijuna ljudi zaraženih širom svijeta te s više od 5 milijuna umrlih od posljedica infekcije, ali i razvojem brojnih komplikacija koje su se razvile nakon akutne faze bolesti (1). COVID-19 (*engl.* Corona virus disease-19) je najveća i najteža pandemija nakon pandemije gripe koja je poharala Europu 1918. godine. Respiracijske virusne infekcije najčešće su bolesti ljudi i u mnogim zemljama vodeći su uzrok morbiditeta i mortaliteta (2). One uzrokuju značajne probleme u javnom zdravstvu, kako medicinske tako i ekonomske prirode. Virusi predstavljaju najrasprostranjenije patogene prisutne u respiratornom traktu (3). Procjenjuje se da postoji oko 200 različitih virusa (uključujući virus gripe, koronaviruse, rinoviruse, adenoviruse, metapneumoviruse, ortopneumoviruse) koji mogu zaraziti ljudski dišni put. Dojenčad, djeca i starije osobe, predstavljaju najranjiviju populaciju u kojoj virusi uzrokuju 95%, odnosno 40% svih respiracijskih bolesti (4). Koronavirusi, a među njima i virus SARS-CoV-2, spadaju u red Nidovirales, porodicu Coronaviride, potporodicu Orthocoronavirinae (5). Naziv „koronavirus" dolazi od latinske riječi *corona*, čije je značenje „kruna" ili „aureola", a odnosi se na karakterističnu izgled virusnih čestica (viriona). One imaju obod koji podsjeća na aureolu, krunu ili koronu sunca. Koronavirusi su prvi put otkriveni 1930. godine kao uzročnici akutne respiracijske infekcije pripitomljenih pilića-virus infektivnog bronhitisa (IBV) (6). U četrdesetim godinama prošlog stoljeća izolirana su dva životinjska koronavirusa, virus mišjeg hepatitisa (MHV) i transmisivni gastroenteritis virus (TGEV). Koronavirusi su skupina virusa koji uzrokuju bolesti prvenstveno u sisavaca i ptica (u krava i svinja koronavirusi izazivaju proljev, a u kokoši bolest gornjih dišnih puteva) te su prvenstveno zoonoze. Prvi sojevi humanih korona virusa (HCoV) izolirani su sredinom 1960-ih godina u pacijenata koji su imali bolesti gornjih dišnih putova. Uglavnom su se vezali za blaže respiracijske kliničke slike sve do pojave SARS-CoV-1 virusa koji je uzrokovao teški akutni respiracijski sindrom (SARS) i koji se u obliku epidemije pojavio 2002. godine. Izvor zaraze bili su šišmiši, a od posljedica infekcije je umrlo 774 bolesnika (7). U jesen 2012. godine, osobe koje su putovale s Arapskog poluotoka u Ujedinjeno Kraljevstvo bile su pogođene bliskoistočnim respiracijskim sindromom (*engl.* Middle East Respiratory Syndrome-MERS), teškom infekcijom donjih dišnih putova koja je

nalikovala SARS-u, ali je u nekih bolesnika infekcija dovela i do gastrointestinalnih simptoma te zatajenja bubrega. Molekularno sekvenciranje ubrzo je pokazalo da je tu novu epidemiju izazvao novi soj koronavirusa MERS-CoV koji je također najvjerojatnije potekao od šišmiša prije nego što je zarazio posrednički rezervoar (dromedarska deva). Zoonotski prijenos na ljude učinio je ovaj virus izrazito virulentnim te je bio karakteriziran velikim mortalitetom među zaraženim bolesnicima (od posljedica infekcije je umrlo oko 400 bolesnika, ili 16% zaraženih) (7). U imunokompetentnih osoba HCoV uglavnom su povezani s infekcijom gornjih dišnih putova: rinitisom, laringitisom, faringitisom, kao i otitisom (8). Budući da su visoko oportunistički patogeni, HCoV mogu se proširiti i na donje dišne putove, posebno u imunokompromitiranih osoba, te mogu biti povezani s težim oblicima bolesti, poput bronhitisa, bronhiolitisa, upale pluća, pogoršanja prije postojeće bronhalne astme i sindroma respiratornog distresa. U ljudskim dišnim putevima infekcija HCoV može dovesti do poremećaja nazalnog epitela, a značajna količina virusa također se oslobađa i sa bazolateralne strane epitelne stanice. Iako su HCoV infekcije u većini slučajeva ograničene na dišne putove, virus SARS-CoV-2 može proći kroz bazalnu epitelnu barijeru i doći do krvotoka ili limfe te se širiti prema brojnim drugim tkivima, uključujući širenje prema živčanom tkivu. Virus se među ljudima prenosi putem respiracijskih kapljica i aerosola, najčešće od osobe do osobe koje su u bliskom kontaktu (9). SARS-CoV-2 virus je građen od membrane na kojoj se nalazi više membranskih bjelančevina te jednostrukog lanca pozitivne RNK kiseline. On spada u RNK viruse, a zbog velikog genoma od 30000 kd (kilo daltona) jedan je najvećih poznatih RNK virusa (10). Slika 1. prikazuje strukturu SARS-CoV-2 virusne čestice i receptora angiotenzin konvertirajućeg enzima (*engl.* Angiotensin Converting Enzyme-ACE2).



Slika 1. Struktura SARS-CoV-2 virusa i ACE2 receptora.

SARS-CoV-2 virus sastoji se od pozitivne jednolančane RNK koja kodira dva velika gena: ORF1a i ORF1b. Ta dva velika gena kodiraju šesnaest nestrukturnih te četiri strukturne bjelančevine: nukleokapsidna (N) bjelančevina, membranska (M) bjelančevina, spike (S) bjelančevina i bjelančevina virusne ovojnice (E). Kapsida je bjelančevinasta ljuska unutar koje se nalazi nuklearni kapsid ili N-bjelančevina koja prekriva genom virusne jednolančane pozitivne RNK i koja ima vitalnu ulogu u njegovoj replikaciji i transkripciji. N-terminal N

bjelančevine veže se na genomske i subgenomske RNK u virionima i time pospješuje virusnu replikaciju i transkripciju. Kada uđe u tijelo, virus se veže na receptore domaćina i ulazi u stanice putem endocitoze ili stapanjem sa membranom. Bjelančevina S, koji je smještena na površini virusa, najvažnija je za vezivanje i prodor u stanicu domaćina. Ova bjelančevina je sastavljena od dvije funkcionalne podjedinice (S1 i S2), među kojima je S1 podjedinica odgovorna za vezivanje za receptor stanice domaćina, a S2 podjedinica ima ulogu u stapanju virusne membrane i stanične membrane domaćina (11). .

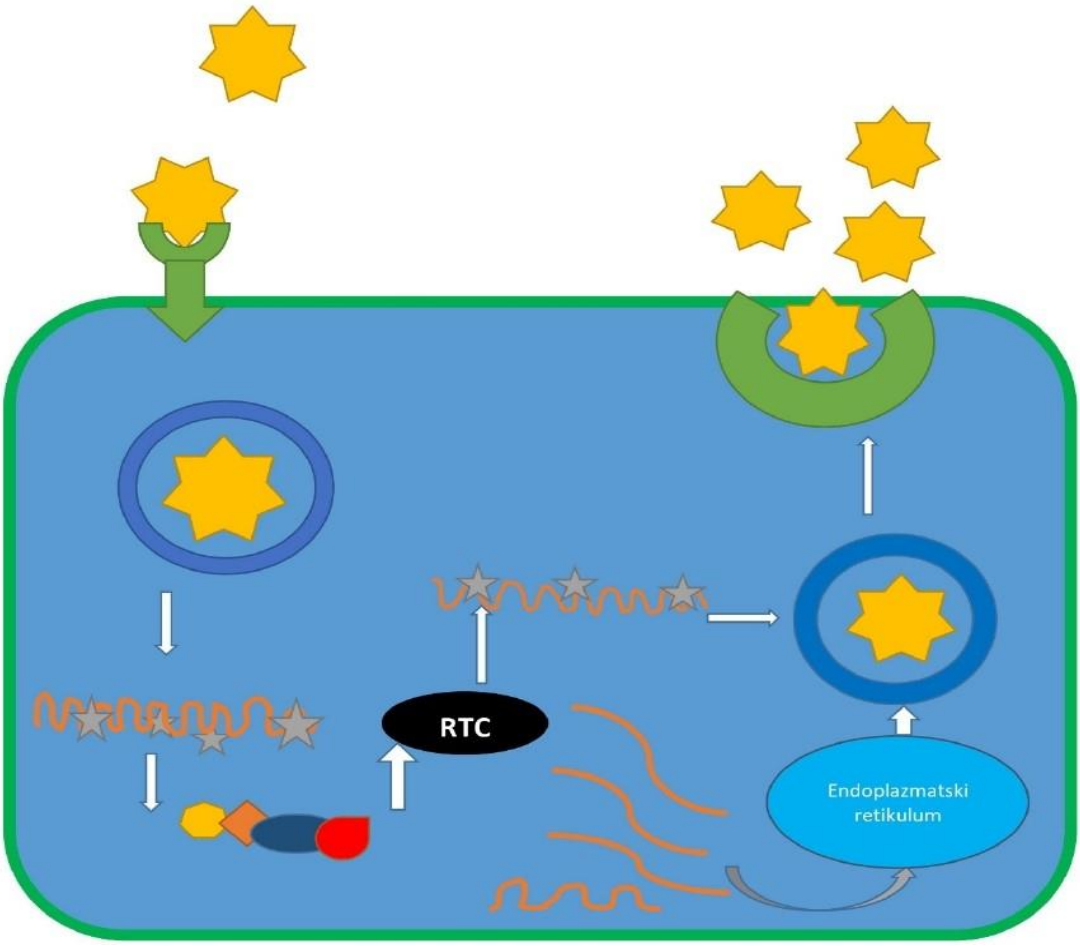
ACE2 receptor je identificiran kao funkcionalni receptor za SARS-CoV-2 virus i u velikom broju se nalazi na epitelnim stanicama plućnog tkiva, na površini proksimalnih i distalnih tubula bubrega, brojnim stanicama kardiovaskularnog tkiva (endokard, miokard, periciti), na površini endotelnih stanica gotovo svih krvnih žila te stanicama glatkih mišića (12). Nalazi se i na stanicama retine, štitaste žlijezde, želuca, tankog i debelog crijeva, gušterače (čak i na β stanicama), na stanicama reproduktivnih organa te na koži. Ovaj receptor se u značajno većem broju nalazi u muškaraca i značajno raste s životnom dobi, a prekomjerna izraženost humanog ACE2 receptora povezana je s težim oblicima bolesti. Pronađeno je više od dvadeset mutacija u regiji koja kodira mjesto vezanja bjelančevine S virusa SARS-CoV-2 s ACE2 receptorom, što sugerira da se ovaj koronavirus postupno razvijao te prilagođavao ljudskim domaćinima (13). Izraženost ACE2 receptora u različitim organskim sustavima ljudskog tijela prikazana je na Slici 2.



Slika 2. Izraženost ACE2 receptora u u različitim organskim sustavima.

Na ACE2 receptor domaćina virus se veže pomoću bjelančevine S, odnosno preko S1 podjedinice, te se tako aktivira i stabilizira i S2 podjedinica. To uzrokuje konformacijske promjene bjelančevine što dovodi do stapanja virusne i stanične membrane domaćina. Nakon ulaska u virusnu stanicu, oslobađa se virusni sadržaj unutar stanice. Uz pomoć RNK polimeraze, virus se podvrgava replikaciji i stvaranju drugog lanca RNK (transkripcija).

Novonastala RNK služi za produkciju novih niti RNK koje će nastaviti sintetizirati nove bjelančevine u staničnoj citoplazmi. Virusna N bjelančevina veže se za novu genomsku RNK, a bjelančevina M virusu olakšava integraciju u stanični endoplazmatski retikulum. Novonastali nukleokapsidi inkludiraju se u membranu endoplazmatskog retikuluma te se transportiraju u lumen, odakle se transportiraju putem Golgijevih vezikula do stanične membrane, a zatim egzocitozom u izvanstanični prostor. Novostvorene virusne čestice spremne su za napad na susjedne epitelne stanice, ali i na prijenos infektivnog materijala u okolinu putem respiratornih kapljica i aerosola (14). Slika 3. prikazuje način ulaska virusa i njegovu replikaciju u stanici domaćina.



Slika 3. Način ulaza SARS-CoV-2 virusa u stanicu i replikacija virusne čestice.

Posebno važna karika u patofiziologiji SARS-CoV-2 infekcije je citokinska oluja (15). Taj se pojam odnosi na prekomjernu proizvodnju upalnih citokina sa širokim spektrom biološke aktivnosti iz različitih tkiva i stanica (uglavnom imunoloških stanica), a posljedica je gubitka negativnih povratnih informacija na imunološki sustav. Ti proupalni i protuupalni citokini potiču pozitivne povratne informacije na druge imunološke stanice i nastavljaju ih regrutirati na mjesta upale, uzrokujući eksponencijalni rast upale, ali i oštećenje organa. To je neprekidno

i ekstremno aktiviranje autoimunog sustava koje kaskadno uzrokuje pojačanje upalnog odgovora (16). Glavni citokini koji su uključeni u taj proces su interleukini (IL), interferoni (IFN), faktor nekroze tumora (*engl.* Tumor Necrosis Factor, TNF), čimbenici koji stimuliraju koloniju (*engl.* Colonian Stimulation Factor, CSF), obitelj kemokina te čimbenici rasta (*engl.* Growth Factor, GF). Dijele se na proupalne čimbenike (poput IL-1β, IL-6, IL-12, TNF i IFN-γ) i protuupalne čimbenike (poput IL-4, IL-10, IL-13, i TGF-β) na temelju njihovih funkcija. Citokinska oluja osnovni je uzrok akutnog respiracijskog distres sindroma (ARDS), sustavnog upalnog odgovora i multiorganskog zatajenja u bolesnika sa SARS-CoV-2 virusnom infekcijom. Ozbiljnost SARS-CoV-2 infekcije povezana je isto tako i sa izrazitim smanjenjem broja B stanica, posebice CD8+, CD4 + stanica, stanica prirodnih ubojica (*engl.* Natural Killers-NK), kao i smanjenjem broja eozinofila, monocita i bazofila.

Neurološke manifestacije kod infekcije SARS-CoV-2 virusom mogu se povezati s nespecifičnim komplikacijama sistemske bolesti, direktnom upalom živčanog tkiva ili upalnim procesom neuroendotelnih stanica (17). Virus SARS-CoV-2, disregulirajući sustav renin-angiotenzinskog sustava (RAS) te djelujući na ACE2 receptore, uzrokuje oštećenje mikrocirkulacije. Virus također direktno napada moždano tkivo uzrokujući upalni proces u neuronima, glijalnim stanicama, ali i difuznu upalu u stanicama endotela. Sve to rezultira poremećajem krvno-moždane barijere, endotelnom disfunkcijom i poremećenom mikrocirkulacijskom funkcijom, u najtežim slučajevima s mogućnošću stvaranja mikrotromboza (18). Dodatni čimbenik razvoju mikrotromboza je komplementom inducirana koagulopatija koja se vrlo često nađe u bolesnika sa SARS-CoV-2 virusnom infekcijom (19,20). Svi ovi patološki mehanizmi virusne infekcije uzrokuju promjenu vazomotorne reaktivnosti cerebralnih krvnih žila, a dodatni čimbenik u razvoju infekcije je i molekularna mimikrija koja može dodatno pogoršati oštećenje brojnih organa, pa tako i mozga te uvelike pogoršati kliničku sliku (21). Današnje studije pokazuju da progresija SARS-CoV-2 infekcije u sistemsku bolest (difuzna mikrovaskularna oštećenja, difuzna tromboza, diseminirana intravaskularna koagulacija) može ovisiti o autoimunim fenomenima molekularne mimikrije povezane s bjelančevinama toplinskog urušaja (*engl.* heat shock proteins-HSP). Utvrđena je u studijama sličnost između antigenih epitopa SARS-CoV-2 virusa i antigenskih epitopa bjelančevina toplinskog urušaja 60 i 90, a obje bjelančevine su značajno povezane s autoimunim bolestima (22).

Virus SARS-CoV-2 različito djeluje na različite ljude. U većine zaraženih osoba razvije se blaga ili umjerena bolest u kojoj nema potrebe za diferentnom terapijom ili bolničkim liječenjem. Najčešći simptomi su povišena tjelesna temperatura, suhi kašalj, umor. Manje

uobičajeni simptomi su bolovi u mišićima, grlobolja, proljev, konjunktivitis, glavobolja, gubitak osjeta okusa ili mirisa, osip ili promjena boje prstiju na rukama ili nogama. Teški simptomi mogu se razviti u smislu otežanog disanje ili gubitak daha, boli ili pritiska u prsima, gubitak sposobnosti govora ili kretanja. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO) (*engl.* World Health Organization-WHO), respiratorni simptomi se dijele na 5 stupnjeva: asimptomatski, blagi, umjereni, teški i kritični oblik bolesti. U tablici 1. su prikazani stupnjevi COVID-19 infekcije prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (23).

Tablica 1. Težina kliničke slike respiracijske SARS-CoV-2 infekcije prema SZO.

Asimptomatski	Nema kliničkih simptoma Uredna RTG snimka prsnog koša Pozitivan PCR test brisa nosa
Blaga bolest	Vrućica, grlobolja, suhi kašalj, malaksalost i bolovi u tijelu Mučnina, povraćanje, bolovi u trbuhu, proljev
Umjereno teška bolest	Simptomi upale pluća (dugotrajna vrućica i kašalj) bez hipoksemije Značajne lezije na MSCT-u visoke rezolucije
Teška bolest	Upala pluća s hipoksemijom (SpO_2 <92%)
Kritično stanje	Akutni respiracijski distres sindrom, cirkulacijski šok, poremećaj zgrušavanja, encefalopatija, zatajenje srca i akutno bubrežno zatajenje

Najčešći neurološki simptomi povezani s blagom SARS-CoV-2 infekcijom javljaju se u oko 45% slučajeva i uključuju disfunkciju mirisa (anosmija) i okusa (disgeuzija), glavobolje, vrtoglavice, mialgije i slabost (24). Neurološki simptomi javili su se u čak do 73% hospitaliziranih bolesnika s SARS-CoV-2 infekcijom, a uglavnom su to bile glavobolje, mialgije i poremećaj svijesti, premda se tu javljaju i teži oblici neuroloških bolesti (25). Kliničke manifestacije SARS-CoV-2 virusne infekcije sa strane središnjeg i perifernog živčanog sustava su izrazito brojne: od nespecifične encefalopatije koja je predstavljala između 13% i 40% svih

neuroloških manifestacija do postinfektivnih sindroma koji uključuju akutni demijelinizirajući encefalomijelitis (ADEM), akutnu nekrotizirajuću encefalopatiju (ANE), Bickerstaffov encefalitis, generalizirani mioklonus, akutni transverzalni mijelitis, druge oblike encefalitisa (uključujući limbički encefalitis), akutne cerebrovaskularne bolesti, uključujući ishemijske moždane udare (između 1,3% i 4,7% bolesnika s SARS-CoV-2 infekcijom), hemoragijske moždane udare, cerebralno-vensku trombozu i stražnju reverzibilnu encefalopatiju (26). Manifestacije perifernog živčanog sustava (PNS) koje su zabilježene u tih bolesnika bile su sljedeće: Guillain-Barréov sindrom i varijante uključujući Miller Fisher sindrom, kranijalni polineuritis i diplegiju lica, izoliranu okulomotornu neuropatiju te miopatija kritične bolesti (27). Zahvaćenost središnjeg živčanog sustava najčešće je povezana s težim oblicima bolesti i lošijom prognozom, ali čak i pacijenti s blagim respiratornim simptomima mogu imati značajne i dugotrajne neurološke simptome (24,27). U tablici 2. prikazani su neurološki simptomi, manifestacije i komplikacije bolesti povezane sa SARS-CoV-2 infekcijom (24-27).

Tablica 2. Neurološki simptomi, bolesti i komplikacije povezani sa SARS-CoV-2 infekcijom

Neurološki simptomi	**Neurološke bolesti i komplikacije**
Poremećaj okusa (disgeuzija)	Moždani udar
Poremećaj njuha (anosmia)	Epilepsija/epilepsijski napad
Mialgija	Tromboza cerebralnih venskih sinusa
Glavobolje	Meningitis, encefalitis, meningoencefalitis
Poremećaj stanja svijesti	Guillan–Barré sindrom
Vrtoglavica	Miller Fisher sindrom/ Bickerstaff's encefalitis
Mučnina i povraćanje	Akutni mijelitis
Neuralgija	Posteriorni reverzibilni encefalopatijski sindrom (PRES)
Ataksia	Akutna hemoragizacijska nekrotizirajuća encefalopatija
Mioklonus	Akutni demijelinizirajući encefalomijelitis (ADEM)
Diplopija	Posthipoksična nekrotizirajuća leukoencefalopatija
Gubitak vida	CNS vaskulitis
Stupor	Akutni cerebelitis
Meningizam	Poremećaj pokreta
Disegzekutivni sindrom	Neuropatija kritične bolesti
Sindrom ukočenog uda	Rabdomioliza
Poremećaj bulbomotorike	Miopatija kritične bolesti
	Nekrotizirajući autoimuni miozitis (NAM)
	Poremećaj spavanja

1.2. Čimbenici rizika za razvoj cerebrovaskularne bolesti

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji moždani udar se definira kao naglo nastali neurološki poremećaj uzrokovan poremećajem cirkulacije u mozgu što dovodi do nedovoljne opskrbe određenih dijelova mozga kisikom i hranjivim tvarima (28). Zbog nedostatka kisika i hranjivih tvari dolazi do oštećenja i odumiranja živčanih stanica u zahvaćenim dijelovima mozga što se manifestira oštećenjem funkcija ovisno o dijelu mozga koji je pogođen. Moždani udar je prvi uzrok invaliditeta i drugi uzrok smrtnosti u Republici Hrvatskoj (29). Moždani udar može biti ishemijski (uzrokovan stvaranjem ugruška koji okludira arteriju i onemogućuje protok krvi kroz istu) ili hemoragijski (uzrokovan rupturom krvne žile i ekstravazacijom krvi u okolno tkivo). Oko 85% moždanih udara su ishemijski koji mogu biti posljedica tromboze (stvaranje ugruška u oštećenoj arteriji koja mozak opskrbljuje krvlju) ili embolije (krvni ugrušak koji je nastao na drugom mjestu krvnom strujom dolazi do moždane arterije uz posljedični nastanak okluzije) (30). Trombotski moždani udar rezultat je aterosklerotske opstrukcije velikih cervikalnih i cerebralnih arterija s ishemijom u cijelom ili dijelu teritorija okludirane arterije. To može biti zbog okluzije na mjestu aterosklerotskog plaka ili zbog embolije ugruška s mjesta gdje se plak nalazi na distalniju moždanu arteriju (arterijsko-arterijska embolizacija) (31). Embolički moždani infarkt je posljedica embolije krvnog ugruška u cerebralnim arterijama koji dolaze iz drugih dijelova arterijskog sustava, na primjer iz srčanih lezija, bilo na mjestu zalistaka ili srčanih šupljina. Poremećaj srčanog ritma uzrokuje stazu krvi te omogućuje stvaranje ugrušaka u srčanim komorama, kao što se događa kod fibrilacije atrija (32) koja je najčešći uzrok embolijskih moždanih udara. Lakunarni moždni udar nastaju u opskrbnom teritoriju malih, penetrantnih arterija, prvenstveno zbog lokalne bolesti ovih žila, uglavnom povezane s kroničnom hipertenzijom (33). Oko 15% moždanih udara su hemoragijski: intracerebralni hematom nastaje kada se krv iz krvne žile izlije u okolno tkivo mozga, a subarahnoidalno krvarenje nastaje kada se krv izlije u likvorske prostore između moždanih ovojnica i mozga. Najčešći uzrok oštećenja krvnih žila u mozgu koji dovodi do moždanog udara je ateroskleroza. Ateroskleroza je bolest koja dovodi do stvaranja naslaga masnoća, vezivnog tkiva, ugrušaka, kalcija i drugih tvari u stijenci krvne žile što pak uzrokuje sužavanje, začepljenje lumena i slabljenje stijenke krvne žile (34). Moždani udar povezan je s vrlo visokom stopom smrtnog ishoda, u dvije trećine bolesnika s preboljelim moždanim udarom zaostaje različit stupanj neurološkog deficita, a trećina bolesnika trajno je onesposobljena i potpuno je ovisna o tuđoj pomoći (35).

Čimbenici rizika za moždani udar su brojni i mogu se kategorizirati kao nepromjenjivi i promjenjivi. Starost, spol i rasa, odnosno etnička pripadnost, nepromjenjivi su čimbenici rizika za ishemijski i hemoragijski moždani udar, dok su arterijska hipertenzija, pušenje, hiperlipidemija i tjelesna neaktivnost među nekim od češćih čimbenika rizika na koje se može utjecati (36). Nedavno opisani čimbenici rizika i okidači moždanog udara uključuju upalne poremećaje, infekcije, onečišćenje okoliša i srčane atrijalne poremećaje neovisne o fibrilaciji atrija (37). Monogenski poremećaji mogu uzrokovati rijetke nasljedne poremećaje kojima je moždani udar primarna manifestacija. Genetski čimbenici, posebno oni koji su u značajnoj interakciji s okolinom, mogu se barem dijelom mijenjati. Multicentrična studija parova (*engl.* case control) studija *Interstroke*, otkrila je da deset promjenjivih čimbenika rizika objašnjava 90% rizika od moždanog udara (38). Istraživači su uključili 3000 pacijenata s moždanim udarom (od toga je bilo 2337 ispitanika sa ishemijskim, a 663 sa hemoragijskim moždanim udarom) i utvrdili da hipertenzija, pušenje, omjer opsega struka i bokova, neadekvatna prehrana, neredovita tjelesna aktivnost, dijabetes melitus, konzumacija alkohola, psihosocijalni stres i depresija, srčane bolesti te omjer apolipoproteina B i A1 su najznačajnije povezani s rizikom od ishemijskog moždanog udara (38).

Razine upalnih biomarkera povezane su s povećanim rizikom od moždanog udara, baš kao što su povezane s rizikom od drugih kardiovaskularnih bolesti i ukupne smrtnosti. C-reaktivni protein, izmjeren pomoću testa visoke osjetljivosti (*engl.* high sensitive hsCRP), jedan je od markera koji je dobro proučen. HsCRP je postao upalni marker izbora u kliničkim ispitivanjima zbog svoje dosljedne povezanosti s kardiovaskularnim događajima, dugog poluvijeka i stabilnosti prilikom primjene (39). Još nisu posve jasni razlozi povezanosti upale s rizikom od moždanog udara. Davno je prepoznato da ateroskleroza ima karakter kronične upale, a plak koji sadrži visoku razinu aktiviranih makrofaga i upalnih medijatora može dovesti do povišene razine upalnih markera (39,40). Danas je jasno da sistemske infekcije, čak i one blaže, mogu potaknuti akutni moždani udar u bolesnika s vaskularnim čimbenicima rizika (41), te nam nameću pitanje može li imunizacija biti korisna kao strategija prevencije moždanog udara. Isto tako se danas zna za ulogu kronične infekcije niskog stupnja ili „zaraznog tereta" u stvaranju upalnog miljea koji predisponira bolesnike za razvoj moždanog udara (42). Poznato je da mnoštvo različitih infekcija može izravno pogodovati razvoju moždanog udara, uključujući bakterijske infekcije (sifilis i tuberkuloza su klasični primjeri), gljivične infekcije (kriptokok, aspergilus, mukormikoza), parazitske infekcije (najčešće kod neurocisticerkoze), ali i brojne virusne infekcije (43). Kronične virusne infekcije, poput infekcije virusom HIV-a, infekcije parvovirusima, humanim citomegalovirusima, virusom gripe, virusom hepatitisa C, varicella

zoster virusom te herpes simpleks virusom (tip 1 i 2), mogu doprinijeti razvoju ateroskleroze, ali i cerebrovaskularne bolesti (44). Sve se to može povezati s vaskulitisom, posebice arteritisom malih krvnih žila, ubrzanom arterogenezom, pojačanom agregabilnosti trombocita, koagulopatijom i mogućim embolizmom. Promjene koje se dešavaju kod virusnih infekcija su uglavnom na malim krvnim žilama mozga, a samo ponekad promjene se mogu dokazati ultrasonografski na ekstrakranijskim krvnim žilama kao što su karotidna ili vertebralna arterija ili angiografskim snimanjima intrakranijskih krvnih žila Willisova kruga (45).

Ako kroničnu infekciju, dokazanu serološkim testovima za nekoliko uobičajenih bakterijskih i virusnih infekcija (Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, Hepatitis C virus, Herpes simplex virus 1 i 2 i Citomegalovirus), uklopimo u konvencionalne čimbenike rizika za moždani udar pojedinog pacijenta, dobije se značajno veći dugotrajni rizik za moždani udar (46). Iako je svaka pojedinačna infekcija pozitivno, ali neznačajno, povezana s rizikom od moždanog udara, nakon prilagođavanja na druge čimbenike rizika, ponderirani indeks zaraznog opterećenja dovodi do povećanja rizika za sve oblike moždanog udara (47). Slične rezultate pokazale su studije ako bi se uz rizik infekcije dodali i drugi parametri kao što su upalni biomarkeri, debljina i ulceracija karotidnog plaka ili kognitivni status ispitanika (46,48). Nedavno istraživanje također je pokazalo da je infekcija virusom humane imunodeficijencije (HIV) povezana s umjereno povećanim rizikom od ishemijskog i hemoragijskog moždanog udara, čak i u doba visoko aktivne antiretrovirusne terapije. Mehanizmi za ovo povećanje rizika i dalje su neizvjesni no čini se da je rizik veći među onima s dokazima veće imunosupresije, poput nižeg broja (<200 stanica/mm^3) broja CD4 + T-stanica i većeg broja kopija HIV-1 RNK (49). HIV može izravno oštetiti endotel, a postoje dokazi da se u bolesnika s HIV-om koji imaju dugotrajne infekcije i veće virusno opterećenje, mijenja stijenka arterija (relativno stanjivanje arterijskog zida, ispupčenje stijenke). Postoji veliki interes za identificiranje dodatnih modificiranih čimbenika rizika od moždanog udara. Serološka i epidemiološka ispitivanja na bolesnicima s bolestima koronarnih arterija i moždanim udarom pružila su dokaze o povezanosti rizika sa serološkim dokazima prethodnih infekcija različitim patogenima, nekoliko je ovih organizama identificirano u uzorcima aterosklerotskog tkiva, a neki su na životinjskim modelima bili sposobni inducirati aterosklerozu (50). Ipak, niti jedan zarazni uzročnik nije sam odgovoran za razvoj ateroskleroze ili pojavu moždanog udara, već se vjerojatno radi o mehanizmu podržavanja kronične upale (51).

Učinkovito liječenje bolesnika koji imaju cerebrovaskularnu bolest ovisi o točnoj dijagnozi. Mnoga stanja uzrokuju kliničke simptome koji oponašaju cerebrovaskularne poremećaje i često se isključuju tek neuroradiološkom i angiološkom obradom ili

laboratorijskim nalazima. Dijagnoza cerebrovaskularnih poremećaja temelji se na prisutnosti čimbenika rizika za vaskularne bolesti kod pojedinog bolesnika, vremenskim obilježjima nastanaka simptoma, prisutnosti istodobnih stanja koja mogu imitirati cerebrovaskularnu bolest te kliničkom tijeku razvoja neuroloških simptoma i znakova.

1.3. Transkranijski kolor doppler (TCD) i transkranijski doppler kodiran bojom (TCCD)

Transkranijski kolor doppler (*engl.* Transcranial Color Doppler, TCD) i transkranijski doppler kodiran bojom (*engl.* Transcranial Color Coded Doppler, TCCD) svoj princip rada temelje na Dopplerovu efektu (52). Prema tom principu, ultrazvučni valovi emitirani iz doplerske sonde prenose se preko koštanog prozora kranijuma i reflektiraju od eritrocita koji se gibaju unutar moždanih krvnih žila. Razlika u frekvenciji između emitiranih i reflektiranih valova, koja se naziva „dopplerova frekvencija pomaka", izravno je proporcionalna brzini pomicanja crvenih krvnih stanica, odnosno brzini protoka krvi (53). Budući da je protok krvi unutar krvne žile laminaran, dobiveni Dopplerov signal zapravo predstavlja mješavinu različitih doplerovih pomaka frekvencije tvoreći spektralni prikaz raspodjele brzina pojedinih eritrocita na monitoru. Transkranijska doppler sonografija može se izvoditi na dvije vrste uređaja, standardni (slijepi) transkranijalni doppler (TCD) i transkranijalni doppler kodiran bojom (TCCD). Standardni TCD ne prikazuje živu sliku struktura koje se ispituju, već prikazuje samo doplerov signal, dakle intrakranijske arterije se identificiraju neizravnim parametrima kao što su: dubina volumena uzorka, položaj sonde, smjer protoka i reakcija na kompresije pojedine krvne žile. Transkranijalna doppler sonografija kodirana bojom (TCCD), za razliku od „slijepe", konvencionalne transkranijalne dopplerske sonografije (TCD), omogućuje ispitivaču prikaz intrakranijskih parenhimskih struktura te vizualizaciju bazalnih moždanih arterija te mjerenje brzina protoka na točno određenom mjestu insonirane arterije. To mjerenja brzina protoka TCCD-om čini pouzdanijim od mjerenja dobivenih konvencionalnim TCD-om. Spektralna analiza može se koristiti za dobivanje parametara brzina protoka krvi, kao i nekoliko drugih karakteristika protoka unutar insonirane krvne žile (54). Specifični parametri dobiveni ovom spektralnom analizom uključuju vršnu sistoličku brzinu (*engl.* Peak Systolic Velocity, PSV), krajnju dijastoličku brzinu (*engl.* End Diastolic Velocity, EDV), srednju brzinu (*engl.* Mean Velocity, MV) te indekse pulsatilnosti (*engl.* Pulsatility Index, PI) i index otpora (*engl.* Resistance Index, RI) (55). Brojne fiziološke varijable mogu utjecati na brzinu protoka krvi izmjerenu TCCD-om. Najvažnije od ovih varijabli su dob, spol, hematokrit, viskoznost krvi,

razina ugljičnog dioksida, tjelesna temperatura, krvni tlak i mentalna ili motorička aktivnost. Stoga je važno imati na umu da se nakon insonacije TCCD-om, za potrebe istraživanja, sve izmjerene razlike u brzini protoka krvi trebaju tumačiti u kontekstu ovih varijabli (56). Sva ispitivanja trebaju se provesti na ispitanicima u stanju mirovanja-osoba mora mirno ležati, ne smije govoriti, ne smije obavljati nikakvu motoričku aktivnost te mora imati uredne vitalne parametre. Pokazalo se da i parcijalni tlak CO_2 ima velik utjecaj na brzinu cerebralnog krvotoka (57). Izmjerena brzina krvotoka također može biti veća u osoba s višim sistemskim krvnim tlakom unatoč urednom autoregulacijskom sustavu. Ovaj je odnos posebno važan u bolesnika sa subarahnoidalnim krvarenjem (*engl.* Subarachnoid Hemorrhage, SAH) koji se prate zbog cerebralnog vazospazma što se očituje povišenom brzinom cerebralnog krvotoka. Transkranijska dopplerska sonografija kodirana bojom (TCCD) služi se transtemporalnim, transorbitalnim i transforaminalnim prozorom u prikazu intrakranijskih struktura i cerebralne vaskulature. Upotrebljavaju se sonde niske frekvencije (2-2,5 MHz), a velike snage i prodornosti. Rabe se sektorske sonde, kako bi se omogućio prikaz šireg polja u dubljim slojevima (58). Superponirani Dopplerski signal kodiran bojom omogućuje prikaz protoka u bazalnim cerebralnim arterijama, venama, aneurizmama, krvožilnim malformacijama ili dobro vaskulariziranim tumorima (59). Bojom kodiran prikaz krvnih žila omogućuje postavljanje osjetljivog uzorka na točno određenom mjestu, a to omogućuje korekciju kuta insonacije što je od iznimne važnosti za točno mjerenje brzina protoka. Kod temporalne insonacije bolesnik leži na leđima, blago podignute glave, koja je blago zakrenuta lijevo ili desno, a sonda se naslanja okomito na temporalni prozor, paralelno s orbitomentalnom granicom. Brzina protoka krvi i promjene tih brzina tijekom srčanog ciklusa predstavljaju osnovne podatke koje analizira dopler sonografija. Brzina protoka krvi određuje se pomoću računalnog procesora koji je integriran u sonografski uređaj. Obradom razlika frekvencija u emitiranim i primljenim ultrazvučnim valovima koje se reflektiraju od eritrocita u krvnim žilama (Dopplerov pomak) i koristeći dopplerovu formulu, dobije se ultrazvučni doplerski signal. Važno je imati na umu da izračunata brzina protoka krvi može biti točna samo ako je doppler sonda postavljena tako da je ultrazvučni snop u smjeru krvotoka (60). Ako je ultrazvučni snop zraka usmjeren pod kutom većim od 0° prema krvnoj žili, stvarna brzina protoka krvi jednaka je podijeljenoj izmjerenoj brzini kosinusnom funkcijom kuta između ultrazvučnog snopa i duge osi insonirane krvne žile. Funkcija kosinusa kreće se od 1 (kada je kut insonacije jednak nuli) do 0 (kada je kut insonacije 90 stupnjeva). Prema Lepiću i autorima (60), u oko 20% ispitivanih segmenata srednje moždane arterije (*engl*. Middle Cerebral Artery, MCA) kutevi insonacije bili su niži od 30°, a u ostalih 80% bili su između 30° i 55° te kod 5% ispitanika kut insonacije može biti veći od 60°. Ovi

podaci jasno ukazuju da se često može dogoditi pogreška u mjerenju brzina protoka krvi ako se ne korigira kut insonacije. U našem ispitivanju radili smo korekciju kuta insonacije za svakog ispitanika od 30-50°, a uređaj na kojem smo proveli istraživanje ima mogućnost i automatske korekcije kuta insonacije što značajno olakšava rad i omogućuje točniju interpretaciju parametara brzina protoka. Srednja moždana arterija je arterija koja se najviše proučavala ovim metodama, a u njenoj insonaciji koristi se kako konvencionalni TCD, tako i suvremenija TCCD sonografija (61). TCCD se može primijenjivati u različitim kliničkim okruženjima, uključujući izvanbolničke uvjete, hitnu pomoć, uvjete kirurške struke, intenzivnu njegu i u raznih hospitaliziranih bolesnika. Najčešće neurološke bolesti kod kojih se upotrebljava TCCD su subarahnoidalno krvarenje, ishemijski i hemoragijski moždani udar (62), a često se koristi i kod traumatske ozljede mozga. Međutim, TCCD se koristi i izvan neurološke patologije za bolesti poput anemije srpastih stanica. Može se koristiti za procjenu cerebralnog hemodinamskog stanja tijekom kardiovaskularnog ili neurokiruškog perioperativnog razdoblja. U svim tim primjenama TCCD se može koristiti za otkrivanje stenoza cerebralnih krvnih žila, procjenu cerebrovaskularne reaktivnosti, prisutnost kardijalnih desno lijevih šantova, neinvazivnu procjenu cerebralne perfuzije i intrakranijalnog tlaka, procjenu promjera ovojnice vidnog živca, procjenu pomaka struktura medijalne linije, procjenu hidrocefalusa i prisutnosti stranih predmeta. TCCD ima visoku točnost u ispitivanju zastoja cerebralne cirkulacije i često se koristi kao bitan paraklinički test u dijagnozi moždane smrti. Ostale indikacije za TCCD uključuju procjenu kolateralnog krvotoka i embolizacije tijekom karotidne endarterektomije, procjenu uzorka i opsega kolateralne cirkulacije u teškoj stenozi ili okluziji intrakranijskih arterija, procjenu postojanja održanog foramena ovale i paradoksalne embolije, procjenu arteriovenskih malformacija i proučavanje njihovih opskrbnih arterija i hemodinamskih uzoraka, procjenu težine stenoze u arterijama Willisovog kruga te za procjenu disekcije moždanih arterija (63).

1.4. Moždana vazoreaktivnost i test zadržavanja daha

Moždana autoregulacija osigurava konstantnost moždane perfuzije unatoč promjenama krvnog tlaka, sve dok srednji krvni tlak ostaje u rasponu između 50-170 mmHg (64). Statički i dinamički miogeni mehanizmi korigiraju nagle promjene krvnog tlaka. Neurogeni utjecaji simpatičkih, noradrenergičkih vlakana moduliraju prvenstveno proksimalne segmente cerebralnih arterija velikog promjera, ali i male žile promjera 15-20 μm. Parasimpatički, vazodilatacijski impulsi manje utječu na ove krvne žile (65). Monoaminergički centri moždanog debla kao što su jezgra *nucleus dorsalis raphe*, *nucleus locus coeruleus* i *nucleus*

reticularis pontis oralis također utječu na tonus krvnih žila. Metaboličke, lokalne parenhimske i endotelne supstance imaju velik utjecaj na tonus cerebralnih žila (66). Posebno su važni dušikov oksid, peptid povezan s genom za kalcitonin (*engl.* Calcitonin Gen Related Peptide, CGRP), tvar P, endotelin, kalijevi kanali i neurotransmiteri kao što su histamin, bradikinin, arahidonska kiselina, prostanoidi, leukotrieni, slobodni radikali i serotonin (67). Ispitivanje moždane autoregulacije uglavnom se temelji na izazivanju kratkotrajnih promjena perfuzijskog tlaka izazvanim lijekovima kao što su angiotenzin, acetazolamid, fenilefrin ili natrijev nitroprusid ili izazovnim testovima kao što je test zadržavanja daha (68). Endotel moždanih krvnih žila osjetljiv je na promjene arterijskog parcijalnog tlaka ugljičnog dioksida ($PaCO_2$). Povećani parcijalni tlak CO_2 ($PaCO_2$) uzrokuje arteriolarnu vazodilataciju što rezultira povećanom brzinom u manjim, ali i većim cerebralnim arterijama (koje se insoniraju u studijama pa tako i u našem ispitivanju). Smanjenje parcijalnog tlaka CO_2 rezultira smanjenom brzinom moždanog protoka krvi uslijed arteriolarne vazokonstrikcije. Promjene u ventilaciji (hiperventilacija i hipoventilacija koju možemo izazvati zadržavanjem daha) ili upotreba lijekova kao što je acetazolamid također mogu izazvati promjene brzina cerebralnog krvotoka na način da mijenjaju parcijalni tlak CO_2 (69). Funkcionalne moždane arterije sposobne su održavati stalnu moždanu opskrbu krvlju putem mehanizama autoregulacije, a unatoč promjenama u perfuziji (70). Transkranijska kolorom obojena dopler sonografija (TCCD) je neinvazivna, točna i sigurna procjena protoka kroz intrakranijske arterije, posebice procjena brzina protoka i hemodinamskih parametara (71). TCCD pruža informacije o sistoličkoj, dijastoličkoj i srednjoj brzini protoka krvi (PSV, EDV, MV) kroz velike intrakranijske arterije (srednju, prednju i stražnju moždanu arteriju) te daje podatke o indeksu otpora (RI) i indeksu pulsatilnosti (PI) (72,73). U testovima vazodilatacijske stimulacije, pomoću udisanja CO_2 može se postići hiperkapnija, kao i testom zadržavanja daha ili primjenom acetazolamida (tzv. Diamox test) (74,75). Na taj način potiče se vazodilataciju krvnih žila u mozgu i povećava se brzina protoka kroz moždane krvne žile (76). Settakis G. i autori su zaključili da se čini da su testovi zadržavanja daha i hiperventilacije praktična i sigurna alternativa primjeni acetazolamida ili metodi udisanja CO_2 u procjeni cerebralne hemodinamike (77). U našem istraživanju koristili smo test zadržavanja daha zbog njegove jednostavnosti, sigurnosti za pacijenta te mogućnosti ponavljanja testa (78). Kako su u svom radu zaključili Sam K. i autori, poremećena moždana vazoreaktivnost povezana je sa suptilnim promjenama u integritetu moždanog tkiva, posebice bijele tvari mozga (79). Promjene koje mogu biti vidljive na specifičnim tehnikama snimanja mozga, posebice u slučaju magnetske rezonance mozga (*engl*. Magnetic Resonance, MR), mogu pridonijeti razvoju ili progresiji bolesti bijele tvari (80).

Istraživanje Staszewskog J. i suradnika procjenjivalo je moždane i vanmoždane vazodilatacijske odgovore u skupini ispitanika sa lakunarnim moždanim udarima, vaskularnom demencijom i parkinsonizmom te su autori zaključili da je oštećena moždana vazoreaktivnost u direktnoj korelaciji s lezijama bijele tvari, atrofijom mozga i povećanim perivaskularnim prostorima (81).

2. CILJ RADA I HIPOTEZE

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi vazoreaktivnost krvnih žila mozga u bolesnika koji su preboljeli blagi oblik SARS-CoV-2 infekcije i koji su imali blage neurološke simptome uz pomoć transkranijskog kolorom obojenog dopplera (TCCD) te testa zadržavanja daha 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije. Nadalje, istražile su se promjene brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u fazi mirovanja i nakon testa zadržavanja daha u bolesnika koji su preboljeli SARS-CoV-2 infekciju i usporedile s promjenama brzina protoka u istim uvjetima u kontrolnoj skupini ispitanika.

Sekundarni cilj bio je utvrditi vazoreaktivnost krvnih žila mozga u bolesnika koji su preboljeli blagi oblik SARS-CoV-2 infekcije i koji su imali blage neurološke simptome uz pomoć transkranijskog kolorom obojenog dopplera (TCCD) te testom zadržavanja daha 180 dana od početka infekcije SARS-CoV-2 virusom.

Tercijarni cilj našeg istraživanja je bio procijeniti indeks zadržavanja daha (*engl.* breath-holding indeks, BHI) i usporediti vrijednosti BHI u bolesnika koji su preboljeli SARS-CoV-2 infekciju s vrijednostima BHI u kontrolnoj skupini ispitanika.

Hipoteza istraživanja je da bolesnici nakon preboljele infekcije SARS-CoV-2 virusom imaju poremećenu vazoreaktivnost moždanih krvnih arterija koja se očituje kao smanjeno povećanje brzina protoka na transkranijskom kolorom obojenom doppleru nakon testa zadržavanja daha u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika koji nisu imali SARS-CoV-2 virusnu infekciju te da nakon 180 dana od početka infekcije nema značajnijih promjena ispitivanih parametara.

3. ISPITANICI I POSTUPCI

3.1. Ispitanici

Analizom elektroničke baze podataka Klinike za neurologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu i Kliničkog bolničkog centra Split pronašli smo 456 bolesnika koji su tražili pomoć na Klinici za neurologiju, odjelu Poliklinike za neurologiju, zbog nespecifičnih neuroloških simptoma kao što su glavobolja, gubitak osjeta mirisa i okusa, vrtoglavica i slabost od siječnja do ožujka 2021. Među njima pronašli smo 185 pacijenata koji su, prema dostupnoj bazi podataka, imali infekciju SARS-CoV-2 i 72 koji su je imali unutar 60 dana od dana pozitivnog PCR testa (*engl*. Polymerase Chain Reaction, PCR). Bolesnici su klasificirani kao blagi, umjereni ili teški oblik SARS-CoV-2 virusne infekcije na temelju kriterija SZO, a njih 66 je zadovoljilo kriterij blagog oblika bolesti SARS-CoV-2. Samo 54 bolesnika je bilo bez značajnih čimbenika rizika za cerebrovaskularnu bolest. Među njima je 49 bolesnika bilo prikladno za naše istraživanje jer nisu bili stariji od 62 godine niti mlađi od 32 godine. Iz studije smo isključili bolesnike mlađe od 32 godine života zbog moguće povećane elastičnosti krvnih žila u mozgu koja daje velike brzine protoka, dok smo starije od 62 godine isključili iz istraživanja zbog povećanog otpora i povećane tvrdoće krvnih žila. Samo 34 pacijenta pristalo je sudjelovati u našoj studiji i potpisali su informirani pristanak. Među njima je 28 bolesnika imalo dobar insonacijski prozor kroz desnu sljepoočnu kost kako bi TCCD mogao prikupiti podatke o brzini protoka kroz srednju moždanu arteriju. Troje pacijenata odustalo je od studije iz osobnih razloga. U roku od 2 tjedna ispitanici su kontaktirani telefonom. Prije prikupljanja bilo kakvih podataka, svih 25 pacijenata potpisalo je pojedinačni obrazac za informirani pristanak. Zatim su pozvani na prvi razgovor kada su prikupljeni demografski podaci, obavljen neurološki pregled i somatski pregled. Tada su svim ispitanicima izmjerene tjelesna težina i visina, krvni tlak, elektrokardiogam i učinjen ultrazvuk krvnih žila vrata. Tada je napravljen TCCD prema protokolu studije. Pronašli smo kontrolnu skupinu među zdravstvenim radnicima i postdiplomskim studentima. Ukupno smo uključili 25 ispitanika u kontrolnu skupinu. Osnovni uvjet bio je da nisu imali infekciju SARS-CoV-2, da su bili negativni na PCR u realnom vremenu (*engl.* Real Time Polymerase Chain Reaction-RTPCR) testu, brzom antigenskom testu ili serološkom testu na IgG i IgM antitijela na virus SARS-CoV-2. Također, nisu imali značajne čimbenike rizika za cerebrovaskularnu bolest. Kao i ispitanicima iz skupine koja je preboljela SARS-CoV-2 virusnu infekciju, i ispitanicima kontrolne skupine izmjereni su tjelesna težina i visina, krvni tlak, zabilježili smo im EKG, učinili smo ultrazvuk krvnih žila vrata i TCCD kako je zahtijevao protokol studije.

S obzirom da je naše ispitivanje uključivalo kontrolnu skupinu, potrebno je bilo odrediti optimalnu veličinu uzorka. Analize smo temeljili na glavnom ishodu istraživanja, a to je promjena brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju (PSV, EDV, MV) nakon testa zadržavanja daha, odnosno aritmetičkih sredina tih varijabli. Varijabilnost parametara procijenili smo pilot studijom na 8 ispitanika. Na temelju pilot studije, da bismo dokazali statistički značajnu razliku aritmetičkih sredina promjena brzina protoka T testom za nezavisne varijable, za skupinu bolesnika nakon SARS-CoV-2 infekcije i kontrolnu skupinu, izračunali smo da nam je potreban uzorak od 25 ispitanika po skupini što se tiče vrijednosti MV, uz $p<0.05$ i za snagu istraživanja od 80% (aritmetička sredina MV u skupini ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije je 17, a u kontrolnoj skupini je 24.8 uz standardnu devijaciju 7.5). Za vrijednosti PSV i EDV, da bi smo također dokazali značajnu razliku aritmetičkih sredina promjena brzina T testom za nezavisne varijable, uz $p<0.05$ i snagu istraživanja od 80%, potrebna nam je veličina uzorka koja je manja od 25 ispitanika u svakoj skupini (za PSV 18 ispitanika, za EDV 16 ispitanika), pa smo temeljem ovih izračuna odlučili da u svakoj skupini uključimo po 25 ispitanika.

3.2. Postupci

Proveli smo presječnu opservacijsku studiju. Od svih sudionika dobiven je pisani informirani pristanak. Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Split odobrilo je ovo istraživanje u ožujku 2021. godine. Istraživanje je provedeno u skladu sa smjernicama Helsinške deklaracije, Zakonu o zaštiti prava pacijenata (NN 169/04), Zakonu o provedbi Opće uredbe o zaštiti podataka (NN 42/18), Hrvatskom kodeksu medicinske etike i deontologije (NN 55/08, 139/15) Ispitnu skupinu od 25 ispitanika činili su bolesnici koji su imali blage respiratorne simptome infekcije SARS-CoV-2 koju su preboljeli unazad 25-50 dana od dana početka respiratornih simptoma. Kriterij za težinu kliničke slike SARS-CoV-2 infekcije preuzeli smo od Svjetske zdravstvene organizacije, objavljene u travnju 2020. godine (WHO, Disease, COVID-19, technical guidance on COVID-19). Bolesnici u našem ispitivanju su imali blage neurološke simptome nakon infekcije poput disfunkcije mirisa i okusa, vrtoglavice, glavobolje, umora i mialgije.

Kontrolna skupina bila je 25 zdravih dobrovoljaca (studenti postdiplomskih studija ili zdravstveni radnici) koji nisu imali simptome SARS-CoV-2 bolesti ili znakove inaparentne infekcije i koji su bili negativni na PCR testu u realnom vremenu, brzom antigenskom testu ili koji su bili serološki negativni. Svi su ispitanici pregledani u ožujku 2021. godine. Svi sudionici bili su odrasli bijelci, u dobi od 33 do 62 godine. Podaci sudionika su uključili: dob, spol, visinu,

težinu, indeks tjelesne mase, povijest pušenja, povijest konzumacije alkohola, količinu umjerene fizičke aktivnosti koja se tjedno provodi u minutama. Prikupljeni su nadalje i podatci o redovitom uzimanju zabranjenih droga, te boluju li ispitanici od arterijske hipertenzije, šećerne bolesti, hiperlipidemije, koronarne bolest srca, fibrilacije atrija i cerebrovaskularne bolesti (Prilog 2). Isključili smo sve pretile ispitanike (indeks tjelesne mase veći od 30), ispitanike s anamnezom nekontrolirane hipertenzije, nereguliranog dijabetes melitusa, prijašnje cerebrovaskularne bolesti, hematološke bolesti, atrijske fibrilacije, kronične bolesti srca ili aktivne maligne bolesti, značajnije konzumacije alkohola (više od 7 alkoholnih pića tjedno) ili stenoze vertebrobazilarne arterije ili vanjske karotidne arterije za više od 20%. Isključili smo sve pacijente koji koriste antikoagulantne ili vazodilatacijske lijekove, hormonsku nadomjesnu terapiju, β-blokatore i blokatore kalcijevih kanala. Količina tjelesne aktivnosti procijenjena je pomoću međunarodnih upitnika za fizičku aktivnost i izražava se u minutama umjerene tjelesne aktivnosti tjedno. Svim ispitanicima napravili smo somatski i neurološki status, elektrokardiogram, mjerenje krvnog tlaka, ultrazvuk ekstrakranijskih karotidnih i vertebralnih arterija, transkranijsku kolorom obojenu dopplersku sonografiju s testom zadržavanja daha. Sva ultrazvučna mjerenja izvršili smo pomoću ultrazvučnog sustava Hitachi Aloka Arietta 70 (frekvencijski pretvarač 2,0 MHz). Svi testovi provedeni su nakon radnog vremena, u tihoj i mirnoj sobi, a isključeni su mogući izvori smetnji zvuka i svjetlosti. Pacijent je bio u ležećem položaju. TCCD je obavljen prvo u fazi mirovanja koja je trajala 5 minuta, a nakon toga sudionici zadržavaju dah koliko god su mogli. Nakon razdoblja zadržavanja daha ispitanik je normalno disao 5 minuta. Ponavljan je postupak zadržavanja daha tri puta za svakog ispitanika. Jedan dio ispitanika, njih 19 iz skupine koja je preboljela SARS-CoV-2 virusnu infekcije, pristao je da se ponovno pregleda i testira 180 dana nakon početka infekcije. Sva su mjerenja obavljena po protokolu kojeg smo koristili i za testiranje nakon prosječno 36 dana nakon infekcije SARS-CoV-2 virusom. Signali brzina moždanog krvotoka praćeni su pomoću pulsne sonde od 2,0 MHz na dubini od 52–64 mm kroz desni temporalni prozor. Insonirali smo desnu prednju, srednju i stražnju moždanu arteriju, a sva smo mjerenja obavljali na srednjoj moždanoj arteriji (MCA). Mjerenja u našem istraživanju uključivala su vršnu sistoličku brzinu (PSV), krajnju dijastoličku brzinu (EDV) i srednju brzinu (MV), indeks otpora (RI) i indeks pulsatilnosti (PI) srednje cerebralne arterije (MCA). Kontinuirano smo mjerili vrijednosti PSV, EDV, MV, RI i PI na desnoj MCA tijekom razdoblja odmora i zadržavanja daha. Posebno smo se usredotočili na brzine na početku testa zadržavanja daha i na samom kraju razdoblja zadržavanja daha. Brzine u mirovanju zabilježili smo kao PSVrest, EDVrest, MVrest, RIrest i PIrest, a na kraju razdoblja zadržavanja daha kao PSVmax, EDVmax, MVmax, RImax i PImax.

Također smo izmjerili duljinu vremena zadržavanja daha za svakog ispitanika (*engl.* Breath Holding Time, BHT). Vaskularna reaktivnost određena je izračunavanjem indeksa zadržavanja daha (*engl.* Breath Holding Index, BHI) kao postotak povećanja brzine u odnosu na početne vrijednosti u mirovanju (PSVmax / PSVrest) podijeljen s vremenom zadržavanja daha (BHT). Pri procjeni količine fizičke aktivnosti, koristili smo IPAQ (*eng*. International Physical Activity Questionnaire) upitnik za fizičku aktivnost ispitanika (Prilog 1).

Tablica 3. Kriteriji za uključenje i isključenje u studiju.

Kriteriji za uključenje	Kriteriji za isključenje
Ispitanici	
Dob od 33 do 65 godina	Mlađi od 33 godina i stariji od 65 godina
Blagi oblik SARS-CoV-2 infekcije prema SZO	Teški ili kritični oblik SARS-CoV-2 plućne infekcije prema SZO
Nespecifični neurološki simptomi poput disfunkcije mirisa i okusa, vrtoglavice, glavobolje, vrtoglavice ili umora	Poremećaj svijesti, akutna cerebrovaskularna bolest (ishemijski moždani udar, cerebralno krvarenje, subarahnoidalno krvarenje), akutna encefalopatija, encefalitis ili meningitis, polineuropatija, demijelinizirajući spektar bolesti i epilepsijski napadaji
Infekcija SARS-CoV od 30 do 60 dana prije snimanja TCCD-a	Više od 60 dana između početka zaraze i snimanja TCCD-a
Liječenje SARS-CoV-2 infekcije isključivo suportivnom terapijom	Upotreba antibiotika, kortikosteroida, kisika za infekciju SARS-CoV-2
Dijagnoza je potvrđena pozitivnim rezultatom PCR testa u stvarnom vremenu brisevima nosa/ždrijela	Povijest nekontrolirane hipertenzije, neregulirani dijabetes melitus, cerebrovaskularna bolest, hematološka bolest, atrijalna fibrilacija, kronična bolest srca ili aktivna maligna bolest
	Ozbiljna konzumacija alkohola (više od 10 pića tjedno)
	Stenoza ekstrakranijske vertebralne arterije >20%
Kontrolna skupina	Stenoza ekstrakranijske karotidne arterije >20%.
Za kontrolnu skupinu negativni PCR SARS-CoV-2 test te negativni serološki test na SARS-CoV-2 antitijela IgG i IgM	Poznata okluzivna bolest intrakranijalnih cerebralnih arterija
Nikada nije imao simptome SARS-CoV-2 infekcije	Korištenje antikoagulantnih lijekova, vazodilatacijskih lijekova, hormonske nadomjesne terapije, β-blokatora, blokatora kalcijevih kanala

3.3. Statistička analiza

Sve ispitivane kvantitativne varijable (vršna sistolička brzina-PSV, krajnja dijastolička brzina- EDV, srednja brzina-MV, indeks otpora-RI i indeks pulsatilnosti-PI) imale su normalnu razdiobu prema Kolmogorov-Smirnov testu ($p>0,05$), kako u skupini ispitanika nakon preboljele infekcije SARS-CoV-2 infekcije tako i u kontrolnoj skupini.

Za numeričke varijable korišten je Shapiro-Wilkov test kako bi se naznačilo odstupanje od normalne raspodjele. Numeričke varijable prikazane su srednjom vrijednosti (Q1-Q3) ili srednjom vrijednosti ± SD. Analiza razlika numeričkih varijabli između ispitivane i kontrolne skupine provedena je T-testom neovisnih uzoraka ili Mann-Whitney U testom. Statistički značajna razlika kategorijskih varijabli izračunata je $\chi 2$ testom.

Razlike koje postoje između tri uzastopna mjerenja nakon testa zadržavanja daha smo dokazali korištenjem tzv. repeated measure ANOVA (korekcija F za Greenhouse-Geisser epsilon).

Analiza razlika između mjerenja numeričkih varijabli provedena je T-testom uparenih uzoraka, a podatci su analizirani sa SPSS Statistics 20 statističkim programom. Statistička značajnost postavljena je na $p<0,05$, a svi intervali pouzdanosti dani su na razini od 95%.

4. REZULTATI

4.1. Demografski podatci i klinički parametri

U našem ispitivanju ukupno je bilo 50 ispitanika, 25 je bilo u skupini koji su imali nespecifične neurološke simptome nakon infekcije SARS-CoV-2 virusom, te 25 ispitanika u kontrolnoj skupini. U skupini koja je preboljela SARS-CoV-2 virusnu infekciju bilo je 16 muškaraca (64%) te 9 žena (36%), dok je u kontrolnoj skupini bilo 17 muškaraca (68%) i 8 žena (32%). U obje skupine je bilo 7 ispitanika koji su se liječili zbog šećerne bolesti te 3 ispitanika koji su se liječili zbog povišenog krvnog tlaka. Jedan je ispitanik imao povišene lipide u krvi. Iz svake skupine po jedan ispitanik pio je više od 7 alkoholnih pića tjedno (manje od 10 pića tjedno zbog čega nisu isključeni iz studije). U obje skupine ukupno 7 ispitanika su bili pušači. Skupine su usklađene po spolu ($\chi 2$=0,089; p= 0,765), dobi (T=0,388; p=0,699), indeksu tjelesne mase ITM (T=0,717; p=0,477), sistoličkom arterijskom tlaku (T=1,7; p=0,099) i dijastoličkom arterijskom tlaku (T=1,5; p=0,129). U Tablici 4. prikazani su demografski podaci i neki od kliničkih parametara.

Tablica 4. Prikaz broja (%) ispitanika prema kvalitativnim podacima i aritmetička sredina ± SD kvantitativnih podataka u odnosu na ispitivane skupine (ispitanici nakon SARS-CoV-2 infekcije i ispitanici kontrolne skupine).

		Skupine ispitanika		
		Nakon SARS-CoV-2 infekcije	Kontrolna skupina	p
spol	M	16 (64)	17 (68)	0,765*
	Ž	9 (36)	8 (32)	
diabetes mellitus		4 (16)	3 (12)	
hipertenzija		3 (12)	1 (4)	
hiperlipidemija		1 (4)	0 (0)	
alkohol		1 (4)	1 (4)	
pušenje		4 (16)	3 (12)	
dob (godine)		46,6±8,5	45,7±7,4	0,699**
ITM (kg/m2)		25,6±2,9	25±2,8	0,477**
RR sistolički (mmHg)		126,7±11,6	120,8±13,1	0,099**
RR dijastolički (mmHg)		78,4±9,6	74,6±7,9	0,129**
fizička aktivnost (minute umjerene aktivnosti tjedno)		179,3±25	182±15	0,639**

*χ2 test; **T test

Simptomi bolesti u skupini ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije

U skupini ispitanika nakon infekcije SARS-CoV-2, nespecifične neurološke simptome su imali svi ispitanici i to: anosmiju 14 (56%) ispitanika, disgeuziju 14 (56%) ispitanika, vrtoglavicu 10 (40%) ispitanika, glavobolju 17 (68%) ispitanika, umor je bio simptom u 18 ispitanika (72%), a mialgija je bila prisutna u 14 (56%) ispitanika studije. Nitko od ispitanika nije imao simptome moždanog udara, epileptički napadaj, meningoencefalitis, poremećaj stanja svijesti, demijelinizacijsku bolest ili akutni poliradikuloneuritis. Prema općim simptomima bolesti, svi ispitanici su imali povišenu temperaturu 25 (100%), kašalj 20 (80%), grlobolju 10 (40%) ispitanika, gastrointestinalne simptome 2 (8%), 4 (16%) osip. Nitko od ispitanika nije imao dispneju. Ni jedan od ispitanika nije bio hospitaliziran zbog simptoma povezanih s

infekcijom virusom SARS-CoV-2. Simptomi u skupini ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije prikazani su u Tablici 5.

Tablica 5. Prikaz simptoma u skupini ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije.

Simptomi u skupini ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije	
Neurološki simptomi	N
Anosmia	14 (56%)
Disgeuzija	14 (56%)
Vrtoglavica	10 (40%)
Glavobolja	17 (68%)
Umor	18 (72%)
Mialgija	14 (56%)
Opći simptomi infektivne bolesti	
Povišena tjelesna temperatura	25 (100%)
Kašalj	20 (80%)
Grlobolja	10 (40%)
Gastrointestinalni simptomi	2 (8%)
Osip	4 (16%)
Dispneja	0 (0%)

4.2. Ispitivanje 36 dana nakon početka infekcije SARS-CoV-2 virusom

4.2.1. Usporedba vrijednosti brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju nakon tri uzastopna testa zadržavanja daha

Svakom ispitaniku mjerili smo brzine protoka krvi kroz srednju moždanu arteriju u stanju mirovanja i tri puta nakon testa zadržavanja daha. Mjerili smo najvišu brzinu u sistoli (PSVrest, PSVmax), brzinu na kraju dijastole (EDVrest, EDVmax), srednju brzinu (MVrest, MVmax) te indekse otpornosti (RIrest, RImax) i pulsatilnosti (PIrest, PImax).

Između tri ponovljena mjerenja nakon zadržavanja daha u kontrolnoj skupini nismo dokazali statistički značajnu razliku za vrijednosti PSVmax ($F=1,8$; $p=0,189$), EDVmax ($F=1,5$; $p=0,240$), MVmax ($F=1,7$; $p=0,204$), te PImax ($F=2,7$; $p=0,110$). Postojala je statistički značajna razlika RImax ($F=4,9$; $p=0,020$). Razliku tri mjerenja činile su vrijednosti RImax mjerenja nakon drugog i trećeg testa zadržavanja daha u odnosu na mjerenje nakon prvog testa zadržavanja daha. Razlika je iznosila -0,009 (95% CI -0,015 do -0,002).

Između tri ponovljena mjerenja nakon zadržavanja daha u skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 virusne infekcije dokazana je statistički značajna razlika:

-za PSVmax ($F=6,9$; $p=0,007$), a razliku čini mjerenje nakon prvog i drugog testa zadržavanja daha ($p=0,032$), razlika je iznosila -4,2 (95% CI -8 do -0,3) te mjerenje nakon prvog i trećeg testa zadržavanja daha, a razlika je iznosila -3,7 ($p=0,028$, 95% CI -7 do -0,3).

-za EDVmax ($F=116$; $p<0,001$), a razliku su predstavljala mjerenja nakon prvog i drugog testa zadržavanja daha [razlika je iznosila -10,6 (95% CI -13 do -8,4), mjerenja nakon prvog i trećeg testa zadržavanja zraka razlika je iznosila -8,8 (95% CI -11 do -6,5), te mjerenja nakon drugog i trećeg testa zadržavanja daha razlika je iznosila 1,7 (95% CI 0,68 do 2,7).

-za MVmax ($F=8,2$; $p=0,002$), a razliku je predstavljalo mjerenje nakon prvog i drugog testa zadržavanja daha i iznosila je 0,92 (95% CI 0,12 do 1,7) te mjerenja nakon prvog i trećeg testa zadržavanja daha koja je iznosila 1,8 (95% CI 0,58 do 3).

Između tri ponovljena mjerenja nakon zadržavanja daha u skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije nisu dokazane statistički značajne razlike za RImax ($F=1,24$; $p=0,293$) te PImax ($F=0,554$; $p=0,491$).

Zbog gore navedenog, napravili smo aritmetičku sredinu tri mjerenja nakon testa zadržavanja daha u ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 virusne infekcije i nju smo uspoređivali s kontrolnom skupinom (Tablica 6.).

4.2.2. Usporedba vrijednosti brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u mirovanju i nakon testa zadržavanja daha između ispitivanih skupina

Vrijednosti brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na skupine ispitanika su prikazane u Tablici 6.

Tablica 6. Prikaz aritmetičkih sredina tri mjerenja brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju i ±SD (95% CI) prema ispitivanim parametrima.

	Skupina ispitanika		
	36 dana nakon SARS-CoV-2 infekcije	Kontrolna skupina	p*
Ispitanici u mirovanju (vrijednost ±SD)			
PSVrest (cm/s)	107±12,7	120±5,5	<0,001
EDVrest (cm/s)	51,9±4,6	56,5±5,5	0,002
MVrest (cm/s)	72,1±7,3	81,3±7,5	<0,001
RIrest	0,53±0,02	0,55±0,04	0,003
PIrest	0,77±0,07	0,78±0,05	0,396
Ispitanici nakon testa zadržavanja daha (vrijednost ±SD)			
PSVmax (cm/s)	122±11,3	162±7,8	<0,001
EDVmax (cm/s)	69,3±3,5	81±5,5	<0,001
MVmax (cm/s)	94,7±8,6	110,1±5	<0,001
RImax	0,53±0,02	0,51±0.01	<0,001
PImax	0,78±0,08	0,76±0.04	0,300

*T test za nezavisne uzorke

4.2.3. Usporedba brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u mirovanju između skupine ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije i kontrolne skupine

U periodu mirovanja ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije imali su statistički značajno niže sve izmjerene parametre brzina protoka u odnosu na kontrolnu skupinu osim PI:

-PSVrest (T=4,5; p<0,001), razlika aritmetičkih sredina iznosila je 12,5 (95% CI 6,8 do 18)

-EDVrest (T=3,2; p=0,002), razlika aritmetičkih sredina iznosila je 4,6 (95% CI 1,7 do 7,5)

-MVrest (T=4,4; p<0,001), razlika aritmetičkih sredina iznosila je 9,2 (95% CI 5 do 13,5)

-RIrest (T=3,1; p=0,003), razlika aritmetičkih sredina iznosila je 0.03 (95% CI 0,01 do 0,05)

U ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 virusne infekcije, nismo dokazali statistički značajnu razliku vrijednosti PIrest u mirovanju u odnosu na vrijednosti PIrest kontrolne skupine (T=0,856; p=0,396), Tablica 6.

4.2.4. Usporedba brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju nakon testa zadržavanja daha između skupine ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije i kontrolne skupine

Nakon testa zadržavanja daha, parametri brzine bili su viši nego u razdoblju mirovanja za obje skupine ispitanika, ali je skupina ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije imala statistički značajno niže sve izmjerene parametre brzine protoka u odnosu na kontrolnu skupinu, osim PI:

-PSVmax (T=14,3; p<0,001), razlika aritmetičkih sredina iznosila je 39,4 (95% CI 34 do 45)

-EDVmax (T=9,1; p<0,001), razlika aritmetičkih sredina iznosila je 12 (95% CI 9 do 14,6)

-MVmax (T=7,7; p<0,001), razlika aritmetičkih sredina iznosila je 15,4 (95% CI 11 do 19)

-RImax (T=3,6; p=0,001), razlika aritmetičkih sredina iznosila je 0,015 (95% CI 0,006 do 0,023).

U skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, nije dokazana statistički značajna razlika vrijednost PImax nakon zadržavanja daha u odnosu na kontrolnu skupinu (T=1,05; p<0,300), Tablica 6.

Prosječna vrijednost vremena zadržavanja daha u obje skupine iznosila je 37±4 sekunda (minimum 29 do maksimum 47 sekunda). U skupini ispitanika nakon preboljele SARS-CoV-2 infekcije prosječno vrijeme zadržavanja daha iznosilo je 37±4 sekunda, a u kontrolnoj skupini

36±4 sekunda (T=0,951; p=0,346) te nije dokazana statistički značajna razlika među skupinama, Tablica 6.

4.2.5. Promjena vrijednosti brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju između mjerenja u mirovanju i mjerenja nakon testa zadržavanja daha

Brzine protoka kroz srednju moždanu arteriju u mirovanju i nakon zadržavanja daha u ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije i ispitanika kontrolne skupine prikazani su u Tablici 7.

Tablica 7. Prikaz aritmetičkih sredina i ±SD (95% CI) brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u mirovanju i nakon testa zadržavanja daha.

Ispitanici nakon preboljele SARS-CoV2 virusne infekcije				
	mirovanje	nakon testa zadržavanja daha	razlika	p*
PSV	107±12,7	122±11,3	14,9±6,1	<0,001
EDV	51,9±4,6	69,3±3,5	17±2,8	<0,001
MV	72,1±7,3)	94,7±8,6	22,7±4,6	<0,001
RI	0,53±0,02	0,53±0,02	0,008±0,02	0,033
PI	0,77±0,07	0,78±0,08	0,02±0,05	0,325
Kontrolna skupina				
	mirovanje	nakon testa zadržavanja daha	razlika	p*
PSV	120±5,5	162±7,8	41,8±6,7	<0,001
EDV	56,5±5,5	81±5,5	24,8±7,5	<0,001
MV	81,3±7,5	110,1±5	28,8±7,4	<0,001
RI	0,55±0,04	0,51±0,01	0,03±0,45	<0,001
PI	0,78±0,05	0,76±0,04	0,02±0,06	0,032

*T test za zavisne uzorke

4.2.6. Usporedba brzine protoka kroz srednju moždanu arteriju u mirovanju i nakon zadržavanja daha u skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije

U skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 virusne infekcije, vrijednosti brzina protoka nakon testa zadržavanja daha u odnosu na vrijednosti tijekom mirovanja bile su statistički značajno veće i to za:

-PSV, aritmetička sredina porasta vrijednosti PSV nakon testa zadržavanja daha u odnosu na vrijednosti tijekom mirovanja iznosila je 14,9 ($T=12,2$; $p<0,001$)

-EDV, aritmetička sredina porasta vrijednosti EDV nakon testa zadržavanja daha u odnosu na vrijednosti tijekom mirovanja iznosila je 17 ($T=31,5$; $p<0,001$)

-MV, aritmetička sredina porasta vrijednosti MV nakon testa zadržavanja daha u odnosu na vrijednosti tijekom mirovanja iznosila je 23 ($T=24,7$; $p<0,001$)

-RI, aritmetička sredina porasta vrijednosti RI nakon testa zadržavanja daha u odnosu na vrijednosti tijekom mirovanja iznosila je 0,008 ($T=2,3$; $p=0,033$)

U skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, vrijednosti PI nakon zadržavanja daha nisu bile statistički značajno veće nego u mirovanju ($T=1,0$; $p=0,325$), Tablica 7.

4.2.7. Usporedba brzine protoka kroz srednju moždanu arteriju u mirovanju i nakon zadržavanja daha u kontrolnoj skupini ispitanika

U kontrolnoj skupini ispitanika, vrijednosti brzine protoka su nakon testa zadržavanja daha bile statistički značajno veće nego vrijednosti u mirovanju i to za:

-PSV, aritmetička sredina porasta vrijednosti PSV nakon testa zadržavanja daha u odnosu na vrijednosti tijekom mirovanja iznosila je 41,8 ($T=31$; $p<0,001$)

-EDV, aritmetička sredina porasta vrijednosti EDV nakon testa zadržavanja daha u odnosu na vrijednosti tijekom mirovanja iznosila je 24,8 ($T=16,5$; $p<0,001$)

-MV, aritmetička sredina porasta vrijednosti MV nakon testa zadržavanja daha u odnosu na vrijednosti tijekom mirovanja iznosila je 28,8 ($T=19,4$; $p<0,001$).

U kontrolnoj skupini ispitanika, vrijednosti RI su nakon testa zadržavanja daha bile statistički značajno manje nego vrijednosti u mirovanju ($T=4,1$; $p<0,001$, Tablica 7), kao i vrijednosti PI ($T=2,3$; $p=0,032$), Tablica 7.

4.2.8. Usporedba promjena brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na ispitivane skupine

Brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na skupine ispitanika, odnosno medijane promjena brzina prikazana je u Tablici 8.

Tablica 8. Prikaz medijana (IQR) promjena brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na skupine ispitanika.

	Skupine ispitanika		
	36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije	Kontrolna skupina	p*
Razlika vrijednosti nakon testa zadržavanja daha prema vrijednosti u mirovanju (apsolutni iznosi)			
PSV (cm/s)	17 (13-19)	42 (37-46)	<0,001
EDV (cm/s)	18 (16-19)	24 (20-29)	<0,001
MV (cm/s)	23 (20-27)	29 (23-33)	0,003
RI	0,007 (0,003-0,02)	-0,03 (-0,07 do -0,01)	<0,001
PI	0,017 (0-0,02)	-0,03 (-0,05 do 0,01)	0,012
Relativna promjena vrijednosti nakon testa zadržavanja daha prema vrijednosti u mirovanju (%)			
PSV	14 (11-19)	34 (32-39)	<0,001
EDV	32 (30-38)	44 (35-50)	<0,001
MV	31 (26-38)	36 (25-41)	0,222
RI	1,4 (-0,6 do 3,9)	-5 (-12 do -2)	<0,001
PI	2,3 (0-3,3)	-4 (-6 do 1,4)	0,013
Indeks.zadržavanja daha (*eng.* BHI)	0,426 (0,28-0,57)	0,98 (0,81-1,12)	<0,001

*Mann Whitney U test

Povećanje apsolutne vrijednosti PSV u kontrolnoj skupini u odnosu na skupinu ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije bilo je gotovo 2,5 puta veća (p <0,001, Tablica 8).
Povećanje apsolutne vrijednosti EDV bilo je 1,3 puta veće u kontrolnoj skupini u odnosu na ispitanike 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije. Razlika medijana iznosila je 6 (95% CI 2,1-9,9) (z=4,1; p<0,001, Tablica 8).
Povećanje apsolutne vrijednosti MV u kontrolnoj skupini bilo je 1,3 puta u odnosu na ispitanike 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije. Razlika medijana iznosila je 6 (95% CI 1,8 do 10) (z=2,9; p=0,003, Tablica 8).

Promjena apsolutne vrijednosti RI u skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije bila je veća nakon testa zadržavanja daha nego u mirovanju, dok je u kontrolnoj skupini bila manja nakon testa zadržavanja daha nego u mirovanju. Razlika medijana ovih dviju promjena RI iznosila je -0,037 (95% CI 0,01 do 0,07) (z=3,7; p<0,001, Tablica 8).

Promjena apsolutne vrijednosti PI u skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije bila je veća nakon testa zadržavanja daha nego u mirovanju, dok je u kontrolnoj skupini bila manja nakon testa zadržavanja daha nego u mirovanju. Razlika medijana ovih dviju promjena PI iznosila je 0,047 (95% CI 0,02 do 0,08) (z=2,5; p=0,012, Tablica 8).
Nakon testa zadržavanja daha, relativna povećanja brzina protoka u kontrolnoj skupini bila su statistički značajno veća nego u skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije i to za:
-PSV, i to je 2,4 puta veći porast relativne vrijednosti PSV, razlika medijana iznosi 20 (95% CI 15,4 do 23,04) (z=6,1; p<0,001).
-EDV, i to je 1,4 puta veći porast relativne vrijednosti EDV, razlika medijana iznosi 6 (95% CI 0,38 do 13,54) (z=4,0; p<0,001).
-MV, i to je 1,2 puta veći porast relativne vrijednosti MV, razlika medijana iznosi 5 (95% CI 1,1 do 11), ali razlika nije statistički značajna (z=1,2; p=0,222), Tablica 8.
Promjena relativne vrijednosti RI u skupini ispitanika 36 dana nakon SARS-CoV-2 infekcije bila je veća nakon zadržavanja daha nego u mirovanju, dok je u kontrolnoj skupini bila manja nakon testa zadržavanja daha nego u mirovanju. Razlika medijana ovih dviju promjena RI iznosila je 6,4 (95% CI 2 do 11) (z=3,8; p<0,001, Tablica 8).
Promjena relativne vrijednosti PI u skupini ispitanika 36 dana nakon SARS-CoV-2 infekcije bila je veća nakon zadržavanja daha nego u mirovanju, dok je u kontrolnoj skupini bila manja nakon testa zadržavanja daha nego u mirovanju. Razlika medijana ovih dviju promjena PI iznosi 6,3 (95% CI 2 do 10) (z=2,5; p=0,013).

Iz ovih parametra izračunali smo indeks zadržavanja daha (BHI). Indeks zadržavanja daha je u kontrolnoj skupini bio 0.98 (najmanja vrijednost je bila 0,81, a najveća vrijednost je bila 1,12), a u ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije je bio 0,426 (najmanja vrijednost je bila 0,28, a najveća vrijednost je bila 0,57). Indeks zadržavanja daha bio je statistički značajno veći u ispitanika kontrolne skupine u usporedbi s ispitanicima 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije. Srednja razlika bila je 0,55 (95% CI 0,41 do 0,69) ($z = 6$; $p<0,001$).

4.2.9. Korelacija brzine protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na dob i spol ispitanika u svakoj ispitivanoj skupini

Nismo dokazali statistički značajnu povezanost ispitivanih brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na dob ispitanika u obje ispitivane skupine. Pearsonov koeficijent korelacije za dob iznosio je:

-za PSV, r=-0,048, p=0.743

-za EDV, r=0,115, p=0.428

-za MV, r=-0,252, p=0.078

-za RI, r=-0,031, p=0.832

-za PI, r=-0,075, p=0.643.

U odnosu na spol ispitanika, u skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 virusne infekcije, nismo dokazali statistički značajnu povezanost između ispitivanih brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju:

- u razdoblju mirovanja ni za jedan ispitivani parametar (PSVrest, p=0,244; EDVrest, p=0,935; MVrest, p=0,673; RIrest, p=0,879; PIrest, p=0,822)

- nakon testa zadržavanja daha ni za jedan ispitivani parametar (PSVmax, p= 0,260; EDVmax, p= 0,918; MVmax, p=0,708; RImax, p=0,732; PImax, p=0,536).

Brzina protoka u mirovanju i nakon testa zadržavanja daha u grupi ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije u odnosu na spol prikazana je u Tablici 9.

Tablica 9. Usporedba brzina protoka u mirovanju i nakon testa zadržavanja disanja u skupini ispitanika 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije u odnosu na spol.

	muškarci	žene	t*	p*
	Brzine protoka tijekom perioda mirovanja			
PSVrest (cm/s)	105±13	111±10	1,191	0,244
EDVrest (cm/s)	52,5±5	52,4±4	0,082	0,935
MVrest (cm/s)	71,6±7,2	72,9±7,9	0,427	0,673
RIrest	0,52±0,03	0,52±0,03	0,154	0,879
PIrest	0,77±0,07	0,76±0,07	0,228	0,822
	Brzine protoka nakon testa zadržavanja daha			
PSVmax (cm/s)	120,3±11,4	125,7±10,9	1,15	0,260
EDVmax (cm/s)	69±3,7	69,4±3,4	0,104	0,918
MVmax (cm/s)	95,2±8,6	93,8±8,9	0,379	0,708
RImax	0,53±0,015	0,53±0,024	0,347	0,732
PImax	0,77±0,08	0,79±0,08	0,628	0,536

*T test za nezavisne uzorke

4.2.10. Korelacija promjena u parametrima brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u relaciji s vremenom od pojave simptoma

Medijan vremena od pojave simptoma infekcije virusom SARS-CoV-2 i mjerenja TCCD-a bio je 36 dana (minimalno 28 dana, maksimalno 50 dana). Nismo dokazali statistički značajnu povezanost parametara brzine protoka kroz srednju moždanu arteriju s vremenom od početka infekcije virusom SARS-CoV-2. Spearmanovi koeficijenti korelacije za PSV, EDV, MV, RI i PI bili su manji od 0,4, $p>0,05$.

4.3. Mjerenje vrijednosti brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije

Za dio ispitanika iz skupine koja je preboljela SARS-CoV-2 infekciju ponovili smo mjerenja 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije. Koristili smo isti protokol kao i kod mjerenja koja smo proveli u prvom dijelu istraživanja što je bilo 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije. Mjerili smo iste parametre u razdoblju mirovanja i nakon testa zadržavanja daha (PSV, EDV, MV, RI, PI). Iz baze ispitanika, od ukupno 25 ispitanika koji su testirani u prosjeku 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, 19 ispitanika se javilo na testiranje 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije. Prosječno vrijeme nakon početka SARS-CoV-2 infekcije bilo je 182 dana (minimum 174, maksimum 189 dana od početka SARS-CoV-2 infekcije). U Tablici 10. prikazani su demografski podatci i neki od kliničkih parametara tih ispitanika. Imali smo 12 muških ispitanika (63%) te 7 žena (37%). U ovom dijelu ispitivanja 3 ispitanika imali su šećernu bolest, 3 ispitanika je imalo povišen krvni tlak, a jedan je ispitanik imao hiperlipidemiju (Tablica 10).

Tablica 10. Prikaz broja ispitanika prema kvalitativnim kliničkim podacima i aritmetička sredina ± SD kvantitativnih podataka 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, N (%).

Ispitanici koji su testirani nakon 180 dana od početka SARS-CoV-2 infekcije, N=19		
Spol	M	12 (63) *
	Ž	7 (36) *
Diabetes melitus		3 (16)
Arterijska hipertenzija		3 (16)
Hiperlipidemija		1 (5)
Konzumacija alkohola		0 (0)
Pušenje		2 (10)
Dob (godine)		47±9**
Indeks tjelesne mase ITM (kg/m2)		26±3,2**
RR sistolički (mmHg)		127±12**
RR dijastolički (mmHg)		77±9,7**

*χ2 test; **T test

Aritmetičke sredine brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju ±SD (95% CI) u mirovanju 36 dana i 180 dana od početka infekcije kod ispitanika koji su preboljeli SARS-CoV-2 infekciju prikazane su u Tablici 11.

Tablica 11. Prikaz aritmetičkih sredina brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju ±SD (95%CI) u mirovanju 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije.

Brzine protoka u mirovanju u skupini ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije				
	36 dana	180 dana	Razlika	p*
PSVrest (cm/s)	109±12	110±11	-0,83±2,4	0,156
EDVrest (cm/s)	53±4	54±4	-1,2±1,1	<0,001
MVrest (cm/s)	72±7,4	73±6,6	-1,5±2,9	0,066
RIrest	0,525±0,027	0,53±0,03	-0,01±0,02	0,070
PIrest	0,78±0,07	0,78±0,06	-0,009±0,02	0,028

*T test za zavisne uzorke

Nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima RIrest (t=1,9; p=0,07), PSVrest (t=1,5; p=0,156) i MVrest (t=1,4, p=0,066) između mjerenja 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, Tablica 11.

Vrijednosti PIrest statistički su značajno više za 0,009 kod mjerenja 180 dana nakon početka infekcije u odnosu na mjerenje 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije (t=2,4; p=0,028).

Vrijednosti EDVrest bile su značajno više prilikom vremenskog proteka od 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije u odnosu na mjerenje učinjeno36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije (t=4,9; p<0,001, Tablica 11).

U Tablici 12. prikazane su aritmetičke sredine brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju ±SD (95%CI) nakon testa zadržavanja daha 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije.

Tablica 12. Prikaz aritmetičkih sredina brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju ±SD (95% CI) nakon testa zadržavanja daha 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije.

Brzine protoka nakon testa zadržavanja daha u skupini ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije				
	nakon 36 dana	nakon 180 dana	razlika	p*
PSVmax (cm/s)	125±10	126±9,6	-1,4±2,7	0,065
EDVmax (cm/s)	70±3,5	70±3,5	-0,05±1,1	0,837
MVmax (cm/s)	94±8,8	93±7,6	1,2±3	0,118
RImax	0,53±0,02	0,54±0,02	-0,006±0,01	0,028
PImax	0,78±0,08	0,79±0,06	-0,008±0,03	0,286

*T test za zavisne uzorke

Nema statistički značajne razlike u vrijednostima za PSVmax (t=1,1, p=0,065), EDVmax (t=0,21; p=0,837), MVmax (t=1,6; p=0,118), PImax (t=1,1; p=0,286) nakon testa zadržavanja daha između mjerenja 36 dana i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, Tablica 12. Vrijednosti RI bile su značajno više nakon testa zadržavanja daha kod mjerenja nakon 180 dana u odnosu na mjerenje nakon 36 dana (T=2,4; p=0,028, Tablica 12).

Usporedba promjena ispitivanih brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na vrijeme proteklo od početka SARS-CoV-2 infekcije

Medijani (IQR) promjena brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na vrijeme proteklo od početka SARS-CoV-2 infekcije u ispitanika prikazani su u Tablici 13.

Tablica 13. Prikaz medijana (IQR) promjena brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u odnosu na vrijeme proteklo od početka SARS-CoV-2 infekcije u ispitanika.

	nakon 36 dana	nakon 180 dana	p*
Razlika vrijednosti nakon zadržavanja daha i vrijednosti u mirovanju (apsolutni iznosi)			
PSV (cm/s)	18 (13-19)	17 (11-20)1	0,471
EDV (cm/s)	17 (16-19)	16 (13-18)	0,010
MV (cm/s)	23 (20-28)	21 (18-24)	0,004
RI	0 (-0,003-0,02)	0.01 (-0,02-0,02)	0,615
PI	0,017 (0-0,02)	0,007 (-0,02-0,03)	0,206
Relativna promjena vrijednosti nakon testa zadržavanja daha prema vrijednosti u mirovanju (%)			
PSV	14.4(11-20)	16 (9-19)	0,811
EDV	34 (26-37)	29 (21-37)	0,007
MV	31 (26-38)	26 (22-34)	0,005
RI	0 (-0.61 do3.9)	1.9 (-3 do 3.7)	0,691
PI	2.3 (0 do 3.3)	0.88 (-2.6 do 4.8)	0,199

*Wilcoxon signed-rank test

U ispitanika koji su preboljeli SARS-CoV-2 infekciju, između mjerenja 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, nije bilo statistički značajne razlike u promjenama PSV, kako apsolutnih vrijednosti (Z=0,721; p=0,471), tako i relativnih vrijednosti PSV (Z=0,240; p=0,811), Tablica 13.

U ispitanika koji su preboljeli SARS-CoV-2 infekciju, između mjerenja 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, nije bilo statistički značajne razlike u promjenama EDV, kako apsolutnih vrijednosti (Z=2,6; p=0,010), tako i relativnih vrijednosti (Z=2,7; p=0,007), Tablica 13.

U ispitanika koji su preboljeli SARS-CoV-2 infekciju, između mjerenja 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, došlo je do statistički značajne razlike u promjenama MV,

kako apsolutnih vrijednosti Z=2,9; p=0,004), tako i relativnih vrijednosti (Z=2,8; p=0,005), Tablica 13.

Nije dokazana statistički značajna razlika u promjenama apsolutnih vrijednosti RI (Z=0,503; p=0,615) kao ni relativnih vrijednosti RI (Z=0,398; p=0,691) između mjerenja 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2infekcije, Tablica 13.

Također, nismo našli statistički značajnu razliku u promjenama apsolutnih vrijednosti PI (Z=1,26; p=0,206) kao ni relativnih vrijednosti PI (Z=1,28; p=0,199), između mjerenja 36 i 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 virusne infekcije, Tablica 13.

5. RASPRAVA

U našem istraživanju dokazali smo da pacijenti nakon blage infekcije SARS-CoV-2 virusom i nespecifičnih neuroloških simptoma imaju oštećenu moždanu vazoreaktivnost. Promjene moždane vazoreaktivnosti zabilježili smo 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 virusne infekcije, a promjene su se zadržale i 180 dana nakon početka infekcije. Ispitanici nakon SARS-CoV-2 virusne infekcije imaju u odnosu na kontrolnu skupinu značajno niži indeks zadržavanja daha što je jasan i nedvosmislen podatak kliničarima. Sve ispitivane vrijednosti brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju u mirovanju bile su u ispitanika nakon SARS-CoV-2 virusne infekcije značajno niže nego u kontrolnoj skupini ispitanika koji nisu imali SARS-CoV-2 infekciju. To se posebice odnosi na vršnu brzinu u sistoli (PSV), završnu brzinu u dijastoli (EDV) te na srednju brzinu protoka (MV). Sve ispitivane vrijednosti brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju nakon testa zadržavanja daha bile su u ispitanika nakon SARS-CoV-2 virusne infekcije značajno niže nego u kontrolnoj skupini ispitanika, a indeksi pulsatilnosti (PI) te rezistencije (RI) bili su veći. U skupini bolesnika nakon SARS-CoV-2 virusne infekcije došlo je do povećanja svih ispitivanih brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju nakon testa zadržavanja daha u odnosu na vrijednosti u mirovanju, ali značajno manje u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika. Značajna razlika između dviju skupina ispitanika bila je u veličini maksimalne vršne sistolne brzine (PSVmax), maksimalne krajnje dijastoličke brzine (EDVmax) i maksimalne srednje brzine (MVmax) na kraju razdoblja zadržavanja daha. Kontrolna skupina ispitanika je imala veće vrijednosti PSVmax, EDVmax i MVmax u odnosu na ispitanike nakon SARS-CoV-2 infekcije kod kojih su ispitivani parametri bili smanjeni. Ispitanici su nakon SARS-CoV-2 infekcije imali manji indeks zadržavanja daha (BHI) koji smo izračunali prema formuli: postotak povećanja brzine u odnosu na osnovne vrijednosti u mirovanju podijeljen s vremenom zadržavanja daha (BHT). Ti podaci izravno su ukazali na oslabljenu vazoreaktivnost ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije i slabiji vazodilatacijski odgovor na hiperkapniju koju smo izazivali testom zadržavanja daha. U obje skupine nije bilo značajnih aterosklerotskih promjena na karotidnim arterijama niti su se one razlikovale u čimbenicima rizika za cerebrovaskularnu bolest. Bitno je za istaknuti da su naši ispitanici imali blagi oblik respiratorne SARS-CoV-2 infekcije i isto tako blage, nespecifične neurološke simptome. Bolesnici koji imaju težu kliničku sliku, kako respiratornu tako i neurološku, mogu imati i teži poremećaj moždane vazoreaktivnosti te se temeljem naših rezultata može pretpostaviti da bi s težim stupnjem bolesti ta razlika mogla biti veća, ali su potrebne daljnje studije koje će to dokazati.

Jedan dio ispitanika iz skupine nakon SARS-CoV-2 virusne infekcije testirali smo 180 dana nakon početka infekcije. Cilj nam je bio provjeriti kakvo je stanje moždane vazoreaktivnosti nakon tog produženog perioda, odnosno provjeriti je li došlo do oporavka brzina protoka na normalne vrijednosti. Ukupno smo testirali 19 ispitanika (76%) od onih koji su imali SARS-CoV-2 infekciju i blage neurološke simptome. Protokol kontrolnog ispitivanja nije se razlikovao od protokola koji smo koristili za ispitivanje u prvoj fazi, prosječno 36 dana nakon infekcije. Uzeli smo iste parametre brzine za svakog ispitanika (PSV, EDV, MV, PI, RI), te proveli tri ispitivanja u fazi mirovanja i tri puta nakon testa zadržavanja daha. Što se tiče faze mirovanja, parametri brzine PSV, MV, RI nisu se značajno promijenili 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije u odnosu na parametre brzina mjerene 36 dana nakon početka infekcije. PI indeks se značajno povećao, kao i EDV. Što se tiče promjene parametara nakon testa zadržavanja daha, svi parametri brzina protoka osim indeksa rezistencije (RI), nisu se statistički značajno razlikovali u odnosu na mjerenja koja smo obavili 36 dana nakon početka infekcije. Izolirano i blaže pogoršanje RI u ovom dijelu ispitivanja nema kliničku značajnost jer se indeks rezistencije izvodi iz ostalih parametara (razlika vrijednosti PVS i EDV podijeljena sa vrijednošću PSV), vrijednosti do 0.75 nisu klinički značajne, a i promjene u apsolutnoj vrijednosti od 0.006 nisu velike (82). Sve ovo govori u prilog da se parametri vazoreaktivnosti nisu statistički značajno promijenili u duljem kontrolnom periodu 180 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije, te ostaje za istražiti u kojoj se mjeri i u kojem vremenskom periodu uočene promjene vazoreaktivnosti oporavljaju ili ostaju kao dugoročna posljedica SARS-CoV-2 infekcije.

Anatomska i funkcionalna organizacija moždanog krvotoka ima samo jednu zadaću: održavati perfuzijski tlak u mozgu konstantnim i tako osigurati kontinuiranu i dostatnu dopremu kisika, hranjivih tvari i energije za moždanu aktivnost. Povezanost moždanih krvnih žila u Willisov krug omogućuje perfuziju mozga čak i u stanjima kad pojedina krvna žila nije protočna, a sustav kapilarnih mreža i anastomoza omogućuje fiziološku rezervu (83). Upravo dilatacija malih krvnih žila omogućuje mozgu da se u stanjima povećane potrebe za energijom, posredno poveća protok kroz bazalne krvne žile Willisova kruga. Današnjim neuroradiološkim metodama nije moguće dobro procijeniti moždanu vazoreaktivnost već je najpogodnija metoda za to upravo TCCD (84). Prateći brzine protoka kroz bazalne krvne žile mozga, posredno možemo procijeniti ukupno stanje tog velikog vaskularnog bazena, odnosno stanje vaskularne rezerve. Test zadržavanja daha kojim induciramo hiperkapniju, odnosno hipoksiju, djeluje u smislu dilatacije moždanih krvnih žila i ubrzanja protoka kroz iste. Srednja moždana arterija je pogodna za ispitivanje parametara brzine jer značajan dio protoka kroz moždane arterije upravo

ide kroz tu krvnu žilu. Vazoreaktivnost krvnih žila izravno nam daje podatke u stvarnom vremenu o kompenzacijskim mogućnostima mreže moždanih arterija u slučajevima povećane potrebe, ali i daje uvid u moguće oštećenje endotela koje može nastati iz bilo kojeg razloga i kada to povećanje brzina protoka nije adekvatno (85, 86).

Kako je to u svojoj studiji pokazao Al-Ramadan CM. i suradnici, brojne su akutne i kronične neurološke komplikacije COVID-19 infekcije (87). Romero-Sanchez F. i suradnici u svojoj su studiji pokazali da su neurološke manifestacije vrlo česte u hospitaliziranih bolesnika s infekcijom SARS-CoV-2 i da je više od polovice (57,4%) razvilo neki neurološki simptom (88). Nespecifični simptomi bili su prisutni uglavnom u ranim fazama i u manje teškim slučajevima, a anosmija i disgeuzija često su bile prva klinička manifestacija SARS-CoV-2 infekcije. Ozbiljne neurološke komplikacije su rjeđe, ali mogu uzrokovati smrt u oko 4,1% pacijenata (88). Hernandez-Fernandez F. i suradnici pokazali su u svojoj studiji da je poremećaj endotela primarni mehanizam oštećenja u pacijenata koji su imali cerebrovaskularnu bolest povezanu sa SARS-CoV-2 infekcijom (89). Trombotska mikroangiopatija, gubitak vazoreaktivnosti, povećana predispozicija krvarenja i povećana hiperkoagulabilnost zajedno sa sistemskim komplikacijama infekcije mogu biti uzrok lošoj kliničkoj prognozi tih pacijenata. Pacijenti sa SARS-CoV-2 koji su imali cerebrovaskularnu bolest imali su nepovoljan klinički ishod (73,9% njih ima modificiranu Rankinovu ocjenu 4–6) i visoku stopu smrtnosti (34,8%) (89). Starost je bila jedini neovisni prediktivni čimbenik loše prognoze i bila je velika učestalost okluzije velikih žila (58,8%), a neočekivano je mnogo moždanih udara bilo u vertebrobazilarnom slivu (35,3%) (89). Chen X. i suradnici (90) proučavali su učestalost neuroloških simptoma i komplikacija u bolesnika s SARS-CoV-2 i zaključili da su glavobolja, vrtoglavica, disfunkcije okusa i mirisa najčešći neurološki simptomi s ukupnom učestalošću većom od 4% proučavane populacije. U našem istraživanju nije bilo moguće utvrditi stvarnu prevalenciju blagih neuroloških simptoma jer se baza podataka temeljila na ambulantnoj praksi i nije odražavala nužno učestalost neuroloških komplikacija pacijenata s SARS-CoV-2 u naših ispitanika. Kao i u drugim studijama (87, 89), najčešći neurološki simptomi i u našoj studiji su bili glavobolja, anosmija, disgeuzija, umor, mialgija i vrtoglavica.

Oštećenje cerebralne vazoreaktivnosti u bolesnika nakon preboljele SARS-CoV-2 infekcije može biti posljedica poremećaja regulacije sustava renin-angiotenzinski sustav (RAS) kao posljedica djelovanja SARS-CoV-2 virusa na ACE2 receptore (91). Virus također može uzrokovati izravnu infekciju endotelne stanice i difuznu upalu endotela. U konačnici ovo rezultira endotelnom disfunkcijom i poremećenom mikrocirkulacijskom funkcijom, u najtežim slučajevima uz poremećaj stvaranja mikrocirkulacijskih tromba (92). Naše istraživanje u

ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije jasno je pokazalo da oštećena cerebrovaskularna reaktivnost ima negativne učinke na cerebrovaskularnu hemodinamiku i može u budućnosti povećati rizik za razvoj cerebrovaskularnih bolesti. Značajno je da u našem istraživanju ispitanici koji su imali SARS-CoV-2 virusnu infekciju nisu imali značajne čimbenike rizika za cerebrovaskularne bolesti. Oštećena vazoreaktivnost može dovesti do smanjenja vaskularnog kapaciteta i vaskularne rezerve, posebno u uvjetima povećane potražnje i povećanog protoka kroz moždane krvne žile kao što je i inducirana hiperkapnija koju smo izazivali testom zadržavanja daha. Slabiji odgovor na hiperkapniju nakon testa zadržavanja daha u pacijenata nakon infekcije SARS-CoV-2 može nastati uslijed zatajenja mehanizama s pomoću kojih intrakranijalnie krvne žile odgovaraju na zahtjevnije metaboličke potrebe.

U našoj studiji za ispitivanje moždane vazoreaktivnosti koristili smo TCCD. Ako želimo procijeniti protok kroz moždane arterije, najbolja i najsigurnija metoda upravo je TCCD, koji je neinvazivan, siguran za pacijenta i jednostavan za ponavljanje. Više je načina upotrebe TCCD-a u kliničkoj praksi: često se koristi za praćenje vazospazma nakon subarahnoidalnog krvarenja, za procjenu okluzivne cerebrovaskularne bolesti te za otkrivanje mikroembolijskih signala. Također se može koristiti za identificiranje bolesnika s iscrpljenom cerebrovaskularnom rezervom, odnosno procjenu cerebralne autoregulacije (59,93). U prethodnim studijama pokazalo se da je TCCD dobra metoda za procjenu vazoreaktivnosti mozga u studijama za pacijente s cerebrovaskularnim bolestima (94,95), kognitivnim oštećenjima (96) ili nakon infekcije virusom hepatitisa C (97). Ova su istraživanja pokazala da smanjenje vazodilatacijskog kapaciteta dovodi do smanjenja vaskularne prilagodljivosti i može biti predispozicija za razvoj cerebrovaskularne bolesti. Chow FC. i suradnici su ispitivali moždanu vazoreaktivnost u bolesnika s infekcijom virusom HIV-a (98), ali slične studije još nisu objavljene na pacijentima sa SARS-CoV-2 infekcijom, jednim dijelom zato što je pandemija ovim virusom tek počela 2020. godine. TCCD u kombinaciji s testom zadržavanja daha donosi dodanu vrijednost tim pacijentima jer inducirana hiperkapnija značajno povećava osjetljivost na vazoreaktivni poremećaj. Nijedna dostupna metoda snimanja moždanih arterija, poput MSCT, MR ili konvencionalne cerebralne angiografije, nije u stanju procijeniti cerebralnu vazoreaktivnost te time ukazati na smanjenu vaskularnu rezervu. Skupina pacijenta nakon preboljele SARS-CoV-2 virusne infekcije u budućnosti može biti ozbiljno izložena riziku za cerebrovaskularnu bolest, posebno ako dodatne studije potvrde kronični značaj zabilježenih promjena moždane vazoreaktivnosti. Kako su neurološke komplikacije koje se razvijaju nakon COVID-19 infekcije izrazito učestale (99), to predstavlja i mogući značajni javnozdravstveni problem.

Moždana vazoreaktivnost također može biti oslabljena i u nekim neurodegenerativnim bolestima. Urbanova BS. i suradnici u svojoj studiji su pokazali da se u pacijenata sa Alzheimerovom bolešću može naći smanjeni cerebrovaskularni rezervni kapacitet i promijenjena vazoreaktivnost kao znak mikroangiopatije čak i bez ozbiljne osnovne ateroskleroze te da se ta promjena može detektirati pomoću TCCD koristeći i test zadržavanja daha (100). Shim Y. i suradnici su otkrili u svojoj studiji da mikroangiopatija može biti osnovni mehanizam nastanka oštećenja vazoreaktivnosti u pacijenata s Alzheimerovom bolešću i pokazali da postoji povezanost između oštećene funkcije cerebralne mikrovaskulature i kognitivnih oštećenja (101). Castillo-Torres SA. i suradnici u svom su istraživanju pokazali da su pacijenti s Parkinsonovom bolešću skloni pokazivati smanjenu cerebrovaskularnu rezervu i promijenjenu moždanu vazoreaktivnost i korelirali su to sa kognitivnim oštećenjima i lezijama bijele tvari na magentskoj rezonanci (MR) mozga (102).

Pandemija virusa SARS-CoV-2 značajno je promijenila rad cjelokupnog zdravstvenog sustava, također i neurološke ambulante, a sigurno je i više pacijenata koji imaju nespecifične neurološke simptome i koje treba pregledati neurolog. U našem istraživanju takvi bolesnici nisu bili registrirani u bolničkom sustavu u vrijeme kad smo uključili ispitanike u svoje istraživanje. Također, prošlo je kratko vrijeme od pojave simptoma SARS-CoV-2 u naših ispitanika, tako da dugoročne posljedice oslabljene vazoreaktivnosti tek treba istražiti sustavnim longitudinalnim praćenjem. Jedan od ograničavajućih čimbenika studije je sam TCCD kao metoda procjene vazoreaktivnosti mozga jer kvaliteta nalaza uvelike ovisi o kvaliteti insonacijskog prozora sljepoočne kosti kroz koji se insonira srednja moždana arterija. Hemodinamski učinak zadržavanja daha nešto je slabiji od učinka udisanja ugljičnog dioksida ili injekcije acetazolamida, ali ova metoda indukcije hiperkapnije je značajno sigurnija za ispitanike. Sva ispitivanja TCCD-a u našem istraživanju obavio je jedan ispitivač koji ima petnaest godina iskustva u radu s TCCD-om, pa smo tako izbjegli moguću međuljudsku razliku ovisnu o iskustvu ispitivača.

Liječenje SARS-CoV-2 infekcije, ali i neuroloških komplikacija izazvanih infekcijom izuzetno je kompleksno. Osnovni lijekovi korišteni u dosadašnjim istraživanjima u liječenju bolesnika mogu se podijeliti u pet skupina: protuupalni lijekovi, antivirusni lijekovi, antikoagulantna terapija, potporna terapija kisikom te simptomatska terapija (103). Naši ispitanici nisu dobivali kortikosteroidnu terapiju jer su imali blaži oblik bolesti, a ista može zamaskirati neurološku simptomatologiju te je primjena takve terapije bila isključujući kriterij. Sistemska primjena niskih doza kortikosteroida i danas čini temelj uspješnog liječenja, a studije su pokazale da deksametazon može smanjiti stopu smrtnosti u kritično bolesnih pacijenta s

SARS-CoV-2 infekcijom u dnevnoj dozi od 80 mg do 120 mg (104, 105). Već od početne faze pandemije, velika većina, posebice hospitaliziranih bolesnika, dobivala je sistemske kortikosteroide zbog utvrđenih dokaza o učinkovitosti upotrebe steroida u liječenju sistemskog upalnog odgovora (104-106). To se posebice odnosi na bolesnike koji su mehanički ventilirani nakon respiratornog zatajenja. Više randomiziranih ispitivanja pokazala su određenu korist od upotrebe kortikosteroida, uključujući smanjenje ukupne smrtnosti i skraćenje dužine bolničkog liječenja (104,105) Treba naglasiti da je randomizirana klinička studija RECOVERY (Randomized Evaluation of Covid-19 Therapy) pokazala da je terapija deksametazonom rezultirala nižom 28-dnevnom smrtnošću u bolesnika s COVID-19 koji su primali invazivnu mehaničku ventilaciju ili samo kisik, ali ne i u onih koji nisu imali respiratornu potporu (105).

Nadomjesna terapija kisikom gotovo je osnova liječenja hospitaliziranih bolesnika. Studije su u više navrata pokazale korist iste, odnosno značajno manji rizik od smrti u ventiliranih bolesnika, ali i svih drugih pacijenata koji primali terapiju kisikom, bilo putem visoko protočnog sustava dostave kisika ili putem nosne kanile (107).

Danas se zna da antivirusni lijekovi djeluju u različitim fazama virusnog ciklusa, djelujući tako da inhibiraju ulazak virusa u stanicu domaćina, inhibiraju virusnu aktivaciju i replikaciju. Od antivirusnih lijekova najčešće je korišten remdesivir, analog adenozina koji blokira RNK polimerazu (108). Remdesivir djeluje inhibirajući replikaciju virusa putem analoga adenozina koji se ugrađuje u virusnu RNK, što rezultira inhibicijom daljnje replikacije virusa i ranim prekidom virusnog ciklusa (108). Koristio se u liječenju i drugih virusnih infekcija kao što su Ebola virus, SARS, MERS (109). Drugi analozi nukleotida kao što su favipiravir (analog nukleozida), ribavirin (analog gvanozina), galidesivir (analaog adenozina), sofosbuvir (analog pirimidina), alovudin (analog timidin dideoksinukleozida) i zidovudin (analog timidina) rjeđe su se koristili, a isto tako su se rjeđe ispitivali u kliničkim studijama koje su istraživale mogućnosti liječenja SARS-CoV-2 infekcije. Ostali antivirusni lijekovi, kao oseltamivir (inhibitor neuraminidaze), ganciklovir i klorokin fosfat, mogu tek blaže smanjiti simptome SARS-CoV-2 virusa (110).

Gavriatopoulou M. i suradnici su pokazali da klorokin fosfat (antimalarijsko sredstvo), ima antivirusno i protuupalno djelovanje te može spriječiti pogoršanje upale pluća (111). Klorokin-hidroksiklorokin (CQ/HCQ) često su koristio tijekom početne faze pandemije zbog njegove sposobnosti da inhibira ulazak virusa, spriječi endocitozu, smanji disregulaciju imunološkog sustava i smanji moguću citokinsku oluju (111). Međutim, rani podaci iz kliničkih ispitivanja nisu pokazali jasne koristi od uporabe klorokin fosfata u liječenju SARS-CoV-2 virusne infekcije. Isto tako, kombinacija hidroksiklorokina i azitromicina, koja se

upotrebljavala na početku pandemije, nije se pokazala učinkovitom u liječenju SARS-CoV-2 virusne infekcije (112).

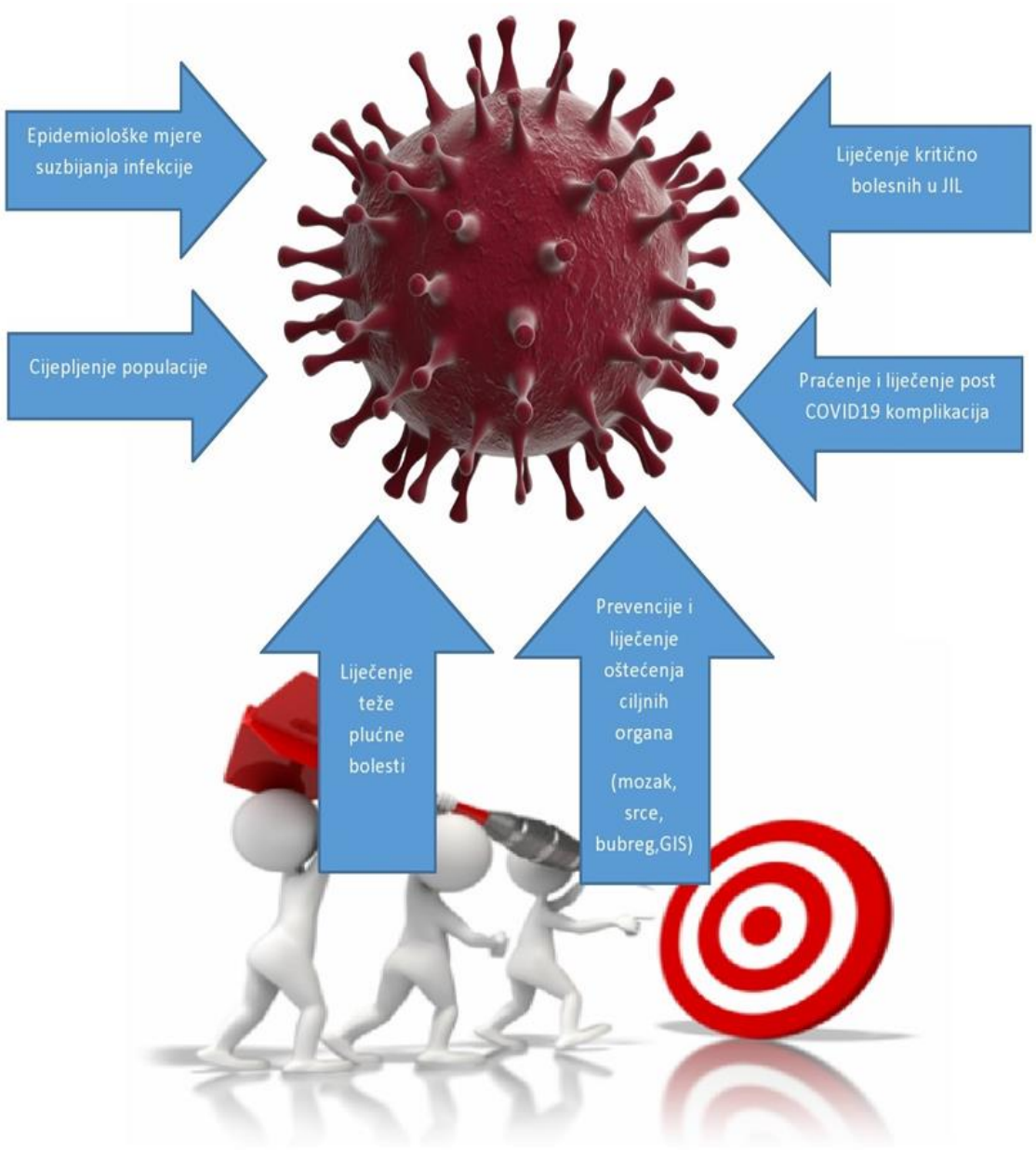
Više kliničkih studija sugerira da sindrom oslobađanja citokina ili citokinska oluja, kod koje dolazi do oslobađanja IL-1, IL-6, IL-12 i IL-18 zajedno s TNFa, igra važnu ulogu u kliničkoj manifestaciji infekcije COVID-19, ali je i uzročnik teških kliničkih slika (112). Teška limfopenija s hiperaktiviranim proupalnim T stanicama i smanjenim regulatornim T stanicama često se opažaju u kritično bolesnih pacijenata, što upućuje na važnost korištenja imunosupresivne terapije za kontrolu sindroma preaktiviranog oslobađanja citokina (112). Lijekovi poput tocilizumaba djeluju vezanjem na stanične i topive receptore IL-6, inhibirajući klasičnu signalizaciju i trans-signalizaciju, što rezultira poboljšanim ishodima pacijenata sa značajnom upalom pluća (113). Tocilizumab može prevenirati limfopeniju, smanjiti potrebu za kisikom, spriječiti teške promjene parenhima pluća i smanjuje duljinu hospitalizacije (113). Anti TH-17 terapija se uvodi, budući da su TH-17 limfociti izraženo povišeni u takvih pacijenta. Adalimumab (TNF-α) (114) i CMAB806 (IL-6) spadaju u kliničke antagoniste usmjerene na citokine, ali još uvijek su u fazi istraživanja.

ACE2 je receptor odgovoran za ulazak SARS-CoV-2 u stanicu domaćina, jer sa na njega veže S bjelančevina virusa. Teoretski bi protutijelo koje blokira S bjelančevinu blokiralo ulazak virusa u stanicu te bi mogao smanjiti razinu angiotenzina II i IL-6 u bolesnika s ARDS-om, no lijekovi koji bi djelovali na navedeni način su još u fazi istraživanja. U fazi istraživanja su i monoklonska protutijela te genska terapija. Ciljanje na virusni genom uz pomoć jednostruke pozitivne RNA može inhibirati virusnu replikaciju. U posljednje vrijeme se često spominju modulatori imunog odgovora. Tu spadaju mezenhimalne, zametne stanice (MSC) (115) koje se relativno lako mogu dobiti iz masnog tkiva, koštane srži ili posteljice te među ostalim imaju potencijal sprječavanja imunološki posredovanih posljedica SARS-CoV-2 infekcije i obnavljanje oštećenih tkiva stvaranjem trofičkih čimbenika i protuupalnih molekula (prostaglandin 2, indoleamin 2,3-dioksigenaza, transformirajući faktor rasta- β, HLA-G5, IL-10, dušikov oksid i faktor nekroze tumora (TNF). Protuupalno djelovanje MSC-a može se iskoristiti za liječenje steroidno rezistentne infekcije i teških upala pluća. Upala plućnog tkiva i endotelna disfunkcija mogu dovesti do stvaranja mikrotromba koja se klinički može očitovati kao duboka venska tromboza, plućna embolija ili trombotične arterijske komplikacije (npr. ishemija udova, ishemijski moždani udar, infarkt miokarda) (116). Produljena tromboprofilaksa mora se individualizirati na temelju rizika i koristi bolesnika. Heparin niske molekularne težine (*engl.* low-molecular weight heparin, LMWH) povezan je sa smanjenjem ukupne smrtnosti od 28 dana u odnosu na subkutano davanje manjih doza heparina u liječenju komplikacija SARS-

CoV-2 infekcije (117). Varfarin i izravni oralni antikoagulanti nisu lijekovi odabira zbog poremećaja funkcije jetre kroz koju se metaboliziraju i koja je često prisutna u težim oblicima SARS-CoV-2 infekcije (118). Lezija jetre može dovesti do nepredvidivih razina lijeka u serumu. Subkutani LMWH je preferirano sredstvo za profilaktičku antikoagulaciju, ali se u bolesnika s bubrežnom insuficijencijom može uzeti u obzir apiksaban. Pacijenti s kliničkim ili radiološkim znakovima trombotskih zbivanja moraju dobiti terapijske doze antikoagulacije (poželjno sredstvo subkutano LWMH) (118, 119), ali kad god je to moguće, treba razmotriti i mehaničku profilaksu tromboembolije ako postoji klinička kontraindikacija za antikoagulantnu terapiju (120). Naši ispitanici zbog blage kliničke slike nisu imali potrebe za ovom terapijom. Vitamin C, zbog svojih antioksidativnih svojstava, može biti dodatna terapija u SARS-CoV-2 bolesnika te su u tijeku klinička ispitivanja u raznim centrima za procjenu ishoda ranog liječenja vitaminom C u bolesnika s različitim kliničkim manifestacijama (121). Sve je više dokaza koji upućuju na to da je nedostatak vitamina D povezan s rizikom od infekcije (122) Ovaj vitamin djeluje kao modulator imunološkog sustava pružajući učinkovitu fizičku barijeru i jačajući stečeni i urođeni imunitet. Danas se sve više predlaže profilaktička primjena vitamina D u bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom (122). Ni jedan od ispitanika koji je uključen u našu studiju nije koristio ni vitamin C ni vitamin D.

Liječenje neuroloških komplikacija SARS-CoV-2 infekcije, većim je dijelom simptomatsko. Naši ispitanici su uglavnom koristili blage simptomatske lijekove kao što su analgetici i antivertiginozni lijekovi. Nekoliko pristupa liječenju korišteno je za liječenje teških neuroloških simptoma povezanih s SARS-CoV-2 infekcijom, kao što su intravenski imunoglubulini za liječenje akutnog poliradikuloneuritisa (123), intravenski ili oralni steroidi i plazmafereza za autoimuni encefalitis i akutni mijelitis te antiepileptički lijekovi za liječenje konvulzivnih napadaja (124). Nema još randomiziranih kliničkih studija koje bi ukazale na moguću prednost pojedinog analgetika kod liječenja post COVID glavobolje, kao što ne postoje ni smjernice za liječenje vrtoglavice nakon SARS-CoV-2 infekcije. Poremećaji okusa i njuha tek su u manjoj mjeri dugotrajni, tako da nema preporuka za adekvatnu terapiju, mada bolesnici često posežu za preparatima kombinacije vitamina B skupine. Bitno pitanje koje se nameće je i potreba za antiagregacijskom terapijom u pacijenata nakon infekcije SARS-CoV-2 koji imaju oštećenu cerebralnu vazoreaktivnost. Tu pristup mora biti strogo individualan. U praksi ovaj individualni pristup znači pronalaženje bolesnika koji uz oštećenu vazoreaktivnost imaju i druge potencijalne čimbenike rizika za cerebrovaskularne bolesti. Ovaj individualan pristup pacijentu koristit će pojedinom pacijentu, zajednici, ali i globalnom zdravstvenom sustavu. Potrebne su nam dodatne studije procjene moždane vazoreaktivnosti nakon COVID-19

infekcije, a buduće studije trebale bi uključiti veći broj pacijenata. Duže longitudinalno praćenje ovih bolesnika može nam dati uvid u reverzibilnost promjena uzrokovanih SARS-CoV-2 virusom. U svim budućim ispitivanjima trebalo bi uključiti i bolesnike s težim kliničkim slikama, kako respiratornim tako i neurološkim. Borba protiv COVID-19 pandemije mora sadržavati više aspekata (Slika 4.). Elementarna sastavnica su epidemiološke mjere koje su se pokazale učinkovite već u početcima pandemije i bez kojih ni druge mjere neće biti učinkovite (125). Cijepljenje što većeg dijela populacije, posebice imunokompromitiranih osoba, pokazalo se u studijama kao najbolji način smanjenja broja teško oboljelih i smrtnosti nakon SARS-CoV-2 infekcije (126). O liječenju težih oblika plućne bolesti smo govorili u prethodnom odlomku, a naša studija je pokazala kako oštećenja ciljnih organa, u našem slučaju mozga, nisu rijetka i mogu se očekivati i kod blažih oblika bolesti. Veliki ukupan broj oboljelih doveo je do velikog broja kritično bolesnih pacijenta koji su liječeni u jedinicama intenzivnog liječenja (127) kao i brojnih post COVID-19 komplikacija (128).



Slika 4. Svi aspekti borbe protiv COVID-19 pandemije

6. ZAKLJUČCI

Neurološke manifestacije nakon infekcije SARS-CoV-2 sve se češće dijagnosticiraju, ali patofiziološki mehanizmi još nisu do kraja rasvijetljeni i nisu u potpunosti razumljivi. Liječnici bi neurološke simptome poput vrtoglavice, encefalitisa, konvulzivnih napadaja, gubitka okusa i mirisa trebali uzeti u obzir kao jasan znak virusnog neurotropizma i invazije središnjeg živčanog sustava. Dugoročni učinak neuroinvazivne prirode SARS-CoV-2 virusa može povećati rizik od cerebrovaskularnih i neurodegenerativnih bolesti. U ovoj studiji pokazali smo da su bolesnici s blagom SARS-CoV-2 infekcijom imali značajno niže prosječne vršne sistoličke, krajnje dijastoličke i srednje vrijednosti brzine protoka kroz srednju moždanu arteriju na kraju postupka zadržavanja daha u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika koja nije imala SARS-CoV-2 infekciju. Također, vrijednosti indeksa zadržavanja daha (BHI) bile su značajno niže u skupini bolesnika s blagom SARS-CoV-2 infekcijom nego u zdravoj kontrolnoj skupini ispitanika. To svakako može biti znak oštećene vazoreaktivnosti cerebralnih arterija. Moždani vazoreaktivni poremećaj upućuje na oštećeni vazoregulatorni mehanizam mozga, te može ukazati na predispoziciju za preuranjenu cerebrovaskularnu bolest i bez drugih čimbenika rizika, te u konačnici za degenerativne procese mozga koji mogu pratiti infekcije. Takve bi bolesnike trebalo i pravovremeno prepoznati, pravilno odabrati i liječiti prema najboljim mogućnostima kako bi se smanjio moguć negativan utjecaj na javnozdravstveni sustav. Potrebne su dodatne studije kako bi se utvrdila povezanost neuroloških simptoma nakon infekcije SARS-CoV-2 virusom različitog stupnja bolesti i promjena u vazoreaktivnosti srednje moždane arterije. Otvara se i mogućnost pronalaska biomarkera oštećenja moždane vazoreaktivnosti, osim danas dostupne metode TCCD-a koja se uobičajeno koristi za procjenu protoka kod značajnih stenoza arterija, za dokazivanje moždane smrti i subarahnoidalnog krvarenja.

7. LITERATURA

1. World Health Organization (WHO), Coronavirus COVID-19 Dashboard https://covid19.who.int/, pristupljeno 8.studeni 2021. god.

2. Barreto ML, Teixeira MG, Carmo EH. Infectious diseases epidemiology. J Epidemiol Community Health. 2006;60(3):192-5. doi: 10.1136/jech.2003.011593.

3. Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branchat Galveston;1996. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7627/ , pristupljeno 10.studeni 2021.

4. Pellett PE, Mitra S, Holland TC. Basics of virology. Handb Clin Neurol. 2014;123:45-66. doi: 10.1016/B978-0-444-53488-0.00002-X.

5. Desforges M, Le Coupanec A, Dubeau P. Human coronaviruses and other respiratory viruses: underestimated opportunistic pathogens of the central nervous system? Viruses. 2019;12:12. doi: 10.3390/v12010014.

6. Shahrajabian MH, Sun W, Cheng Q. Product of natural evolution (SARS, MERS, and SARS-CoV-2); deadly diseases, from SARS to SARS-CoV-2. Hum Vaccin Immunother. 2021;17(1):62-83. doi: 10.1080/21645515.2020.1797369.

7. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. Nat Rev Microbiol. 2016; 14 (8):523-34. doi: 10.1038/nrmicro. 2016.81.

8. Shrestha GS, Khanal S, Sharma S, Nepal G. COVID-19: Current Understanding of Pathophysiology. J Nepal Health Res Counc. 2020;18(3):351-359. doi: 10.33314/jnhrc. v18i3.3028.

9. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 Pathophysiology: A Review. Clin. Immunol. 2020;215:108427. doi: 10.1016/j.clim.2020.108427.

10. Yao H, Song Y, Chen Y. Molecular Architecture of the SARS-CoV-2 Virus. Cell. 2020;183(3):730-8. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.018.

11. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. Front Cell Infect Microbiol. 2020;10:587269. doi: 10.3389/fcimb.2020.587269.

12. Gross LZF, Sacerdoti M, Piiper A, Zeuzem S, Leroux AE, Biondi RM. ACE2, the Receptor that Enables Infection by SARS-CoV-2: Biochemistry, Structure, Allostery and Evaluation of the Potential Development of ACE2 Modulators. ChemMedChem. 2020;15(18):1682-90. doi: 10.1002/cmdc.202000368.

13. Devaux CA, Rolain JM, Raoult D. ACE2 receptor polymorphism: Susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and COVID-19 disease outcome. J Microbiol Immunol Infect. 2020;53(3):425-35. doi: 10.1016/j.jmii.2020.04.015.

14. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. Nat Rev Microbiol. 2021;19(3):155-70. doi: 10.1038/s41579-020-00468-6.

15. Olbei M, Hautefort I, Modos D. SARS-CoV-2 Causes a Different Cytokine Response Compared to Other Cytokine Storm-Causing Respiratory Viruses in Severely Ill Patients. Front Immunol. 2021;12:629193. doi: 10.3389/fimmu.2021.629193.

16. Song P, Li W, Xie J, Hou Y, You C. Cytokine storm induced by SARS-CoV-2. Clin Chim Acta. 2020;509:280-7. doi: 10.1016/j.cca.2020.06.017.

17. Iadecola C, Anrather J, Kamel H. Effects of COVID-19 on the Nervous System, Cell. 2020;08:028. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.028.

18. Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H. Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host–Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanisms. ACS Chem Neurosci. 2020;11:995–8. doi: 10.1021/acschemneuro.0c00122.

19. Levi, M, Thachil J, Iba T, Levy, JH. Coagulation Abnormalities and Thrombosis in Patients with COVID-19. Lancet Haematol. 2020;7:438–40. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30145-9.

20. Iba T, Connors JM, Levy JH. The coagulopathy, endotheliopathy, and vasculitis of COVID-19. Inflamm Res. 2020;69(12):1181-9. doi: 10.1007/s00011-020-01401-6.

21. Burgio S, Conway de Macario E, Macario AJ, Cappello F. SARS-CoV-2 in patients with cancer: possible role of mimicry of human molecules by viral proteins and the resulting anti-cancer immunity. Cell Stress Chaperones. 2021;26(4):611-6. doi: 10.1007/s12192-021-01211-7.

22. Li C, Chu H, Liu X, Chiu MC, Zhao X, Wang D, et al. Human coronavirus dependency on host heat shock protein 90 reveals an antiviral target. Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):2663-72. doi: 10.1080/22221751.2020.1850183.

23. Parasher A.COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. Postgrad Med J. 2021;97(1147):312-20. doi: 10.1136/postgradmedj-2020-138577.

24. Paterson RW, Brown RL, Benjamin L, Nortley R, Wiethoff S, Bharucha T, et al. The Emerging Spectrum of COVID-19 Neurology: Clinical, Radiological and Laboratory Findings. Brain 2020;143:3104–20. doi: 10.1093/brain/awaa240.

25. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients with Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. JAMA Neurol. 2020;77:683–90. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.1127.

26. Guerrero JI, Barragán LA, Martínez JD. Central and peripheral nervous system involvement by COVID-19: a systematic review of the pathophysiology, clinical manifestations, neuropathology, neuroimaging, electrophysiology, and cerebrospinal fluid findings. BMC Infect Dis 21.2021;515. doi: 10.1186/s12879-021-06185-6. PMID: 34078305.

27. Andalib S, Biller J, Di Napoli M, Moghimi N, McCullough LD, Rubinos CA, et al. Peripheral Nervous System Manifestations Associated with COVID-19. Curr Neurol Neurosci Rep. 2021;21(3):9. doi: 10.1007/s11910-021-01102-5.

28. World Health Organization. The World Health Report: 2012: Reducing risks, promoting healthy life. 2012., pristupljeno studeni 2021.

29. Kadojić D, Demarin V, Dikanović M, Lusić I, Tuskan-Mohar L, Trkanjec Z, et al. Incidence of Stroke and Transient Ischemic Attack in Croatia: A Population Based Study. Coll Antropol. 2015;39(3):723-7.

30. Caplan LR, Searls DE, Hon FK. Cerebrovascular disease. Med Clin North Am. 2009;93(2):353-69. doi: 10.1016/j.mcna.2008.09.004.

31. Sacco RL, Rundek T. Cerebrovascular disease. Curr Opin Neurol. 2012;25(1):1-4. doi: 10.1097/WCO.0b013e32834f89b1.

32. Murtagh B, Smalling RW. Cardioembolic stroke. Curr Atheroscler Rep. 2006;8(4):310-6. doi: 10.1007/s11883-006-0009-9.

33. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. Stroke. 1993;24(1):35-41. doi: 10.1161/01.str.24.1.35.

34. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2012;32:2045–51. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.179705.

35. Bustamante A, García-Berrocoso T, Rodriguez N, Llombart V, Ribó M, Molina C, et al. Ischemic stroke outcome: A review of the influence of post-stroke complications within the different scenarios of stroke care. Eur J Intern Med. 2016;29:9-21. doi: 10.1016/j.ejim.2015.11.030.

36. Boehme AK, Esenwa C, Elkind MS. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. Circ Res. 2017;120(3):472-95. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308398.

37. Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. Circulation. 2020;141(9):e139-e596. doi: 10.1161/CIR.0000000000000757.

38. O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, et al. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (The Interstroke study): A case-control study. Lancet. 2010; 376(9735):112-23. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60834-3.

39. Lackland DT, Elkind MS, D'Agostino R Sr., Dhamoon MS, Goff DC Jr., Higashida RT, et al. Inclusion of stroke in cardiovascular risk prediction instruments: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke. 2012;43(7):1998-2027. doi: 10.1161/STR.0b013e31825bcdac.

40. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2013;127(1):e6-e245. doi: 10.1161/CIR.0b013e31828124ad.

41. Garkowski A, Zajkowska J, Moniuszko A, Czupryna P, Pancewicz S. Infectious causes of stroke. Lancet Infect Dis. 2015;15(6):632. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00020-1.

42. Elkind MS, Ramakrishnan P, Moon YP, Boden-Albala B, Liu KM, Spitalnik SL, et al. Infectious burden and risk of stroke: the northern Manhattan study. Arch Neurol. 2010;67(1):33-8. doi: 10.1001/archneurol.2009.271.

43. Miller EC, Elkind MS. Infection and Stroke: an Update on Recent Progress. Curr Neurol Neurosci Rep. 2016;16(1):2. doi: 10.1007/s11910-015-0602-9.

44. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, Wang F. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and the risk of future myocardial infarction and stroke. Circulation.1998;98:2796–9. doi: 10.1161/01.cir.98.25.2796.

45. Elkind MSV. Why now? Moving from stroke risk factors to stroke triggers. Curr Opin Neurol. 2007;20(1):51–7. doi: 10.1097/WCO.0b013e328012da75.

46. Elkind MS, Luna JM, Moon YP, Boden-Albala B, Liu KM, Spitalnik S, et al. Infectious burden and carotid plaque thickness: the northern Manhattan study. Stroke;2010;41:117–22. doi: 10.1161/STROKEAHA.109.571299.

47. Smeeth L, Thomas SL, Hall AJ, Hubbard R, Farrington P, Vallance P. Risk of myocardial infarction and stroke after acute infection or vaccination. N Engl J Med. 2004;351:2611–8. doi: 10.1056/NEJMoa041747.

48. Elkind MS. Inflammatory mechanisms of stroke. Stroke. 2010;41(10):3-8. doi: 10.1161/STROKEAHA.110.594945.

49. Ovbiagele B, Nath A. Increasing incidence of ischemic stroke in patients with HIV infection. Neurology. 2011;76(5):444–50. doi: 10.1212/WNL.0b013e31820a0cfc.

50. Benjamin LA, Bryer A, Emsley HCA, Khoo S, Solomon T, Connor MD. HIV infection and stroke: current perspectives and future directions. The Lancet Neurol. 2012;11:878–90. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70205-3.

51. Grau AJ, Buggle F, Becher H, Zimmermann E, Spiel M, Fent T, et al. Recent bacterial and viral infection is a risk factor for cerebrovascular ischemia. Neurol. 1998;50(1):196–203. doi: 10.1212/wnl.50.1.196.

52. Doppler C. Über das farbige Licht der Doppelsterne und einiger anderer Gestirne des Himmels. Abhandl. königl. böhm Gesellschd. Wiss. 1842;2:465–82.

53. Burns PN. The physical principles of Doppler and spectral analysis. J Clin Ultrasound. 1987;15(9):567-90. doi: 10.1002/jcu.1870150903.

54. Aaslid R, Markwalder TM, Nornes H. Noninvasive transcranial doppler ultrasound recording of flow velocity in the basal cerebral arteries. J Neurosurg. 1982;57(6):769-74. doi: 10.3171/jns.1982.57.6.0769.

55. Purkayastha S, Sorond F. Transcranial Doppler ultrasound: technique and application. Semin Neurol. 2012;32(4):411-20. doi: 10.1055/s-0032-1331812.

56. Jørgensen LG. Transcranial Doppler ultrasound for cerebral perfusion. Acta Physiol Scand Suppl. 1995;625:1-44.

57. Lavi S, Gaitini D, Milloul V, Jacob G. Impaired cerebral CO2 vasoreactivity: association with endothelial dysfunction. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006;291(4):H1856-61. doi: 10.1152/ajpheart.00014.2006.

58. Babikian VL, Feldmann E, Wechsler LR, Newell DW, Gomez CR, Bogdahn U, et al. Transcranial Doppler ultrasonography: year 2000 update. J Neuroimaging. 2000;10(2):101-15. doi: 10.1111/jon2000102101.

59. Willie CK, Colino FL, Bailey DM, Tzeng YC, Binsted G, Jones LW, et al. Utility of transcranial Doppler ultrasound for the integrative assessment of cerebrovascular function. J Neurosci Methods. 2011;196(2):221-37. doi: 10.1016/j.jneumeth.2011.01.011.

60. Lepić T, Veljancić D, Jovanikić O, Lepić M, Slankamenac P, Raicević R. Importance of angle correction in transcranial color-coded duplex insonation of arteries at the base of the brain. Vojnosanit Pregl. 2015;72(12):1093-7. doi: 10.2298/vsp141105009l.

61. Rasulo FA, De Peri E, Lavinio A. Transcranial Doppler ultrasonography in intensive care. Eur J Anaesthesiol Suppl. 2008;42 (42):167–73. doi: 10.1017/S0265021507003341.

62. Zipper SG, Stolz E. Clinical application of transcranial colour-coded duplex sonography-a review. Eur J Neurol. 2002;9(1):1-8. doi: 10.1046/j.1468-1331.2002.00272.x.

63. Baumgartner RW. Transcranial insonation. Front Neurol Neurosci. 2006;21:105-16. doi: 10.1159/000092393.

64. Paulson OB, Strandgaard S, Edvinson L. Cerebral autoregulation. Cerebrovasc Brain Metab Rev. 1990; 2:161–92

65. Busija DW, Heistad DD. Factors involved in the physiological regulation of the cerebral circulation. Rev Physiol Biochem Pharmacol. 1984;101:161-211. doi: 10.1007/BFb0027696.

66. Hamner JW, Cohen MA, Mukai S, Lipsitz LA, Taylor JA. Spectral indices of human cerebral blood flow control: responses to augmented blood pressure oscillations. J Physiol. 2004;559(3):965–73. doi: 10.1113/jphysiol.2004.066969.

67. Lassen LA. Control of cerebral circulation in health and disease. Circ Res. 1974;34:749–760. doi: 10.1161/01.res.34.6.749.

68. Panerai RB. Transcranial Doppler for evaluation of cerebral autoregulation. Clin Auton Res. 2009;19(4):197–211. doi: 10.1007/s10286-009-0011-8.

69. Tiecks FP, Lam AM, Matta BF, Strebel S, Douville C, Newell DW. Effects of the valsalva maneuver on cerebral circulation in healthy adults. A transcranial Doppler Study. Stroke. 1995;26(8):1386-92. doi: 10.1161/01.str.26.8.1386.

70. Aaslid R, Lindegaard KF, Sorteberg W, Nornes H. Cerebral autoregulation dynamics in humans. Stroke. 1989;20(1):45–52. doi: 10.1161/01.str.20.1.45.

71. Aaslid R. Transcranial Doppler Sonography. New York: Springer-Verlag. 1986.

72. Willie CK, Colino FL, Bailey DM, Tzeng YC, Binsted G, Jones LW, et al. Utility of transcranial Doppler ultrasound for the integrative assessment of cerebrovascular function. J Neurosci Methods. 2011;196(2):221–37. doi: 10.1016/j.jneumeth.2011.01.011.

73. Caldas JR, Panerai RB, Passos R, Hajjar LA. Is there still a place for transcranial Doppler in patients with IABP? Crit Care. 2020;24(1):625. doi: 10.1186/s13054-020-03324-4.

74. Markus HS, Harrison MJ. Estimation of cerebrovascular reactivity using transcranial Doppler, including the use of breath-holding as the vasodilatory stimulus. Stroke. 1992;23(5):668–73. doi: 10.1161/01.str.23.5.668.

75. Gur AY, Bornstein NM. TCD and the Diamox test for testing vasomotor reactivity: clinical significance. Neurol Neurochir Pol. 2001;35(3):51-6.

76. Zavoreo I, Demarin V. Breath Holding Index in the Evaluation of Cerebral Vasoreactivity. Acta clinica Croatica [Internet]. 2004 [pristupljeno 18.11.2021.];43(1):15-19. Dostupno na: https://hrcak.srce.hr/14437

77. Settakis G, Lengyel A, Molnár C, Bereczki D, Csiba L, Fülesdi B. Transcranial Doppler study of the cerebral hemodynamic changes during breath-holding and hyperventilation tests. J Neuroimaging. 2002;12(3):252-8.

78. Koep JL, Barker AR, Banks R, Banger RR, Sansum KM, Weston ME, et al. The reliability of a breath-hold protocol to determine cerebrovascular reactivity in adolescents. J Clin Ultrasound. 2020;48(9):544-52. doi: 10.1002/jcu.22891.

79. Sam K, Peltenburg B, Conklin J, Sobczyk O, Poublanc J, Crawley AP, et al. Cerebrovascular reactivity and white matter integrity. Neurology. 2016;87(22):2333-9. doi: 10.1212/WNL.0000000000003373.

80. Birns J, Jarosz J, Markus HS, Kalra L. Cerebrovascular reactivity and dynamic autoregulation in ischaemic subcortical white matter disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2009;80:1093–8. doi: 10.1136/jnnp.2009.174607.

81. Staszewski J, Skrobowska E, Piusińska-Macoch R, Brodacki B, Stępień A. Cerebral and Extracerebral Vasoreactivity in Patients With Different Clinical Manifestations of Cerebral Small-Vessel Disease: Data From the Significance of Hemodynamic and Hemostatic Factors in the Course of Different Manifestations of Cerebral Small-Vessel Disease Study. J Ultrasound Med. 2019;38(4):975-87. doi: 10.1002/jum.14782.

82. Bathala L, Mehndiratta MM, Sharma VK. Transcranial doppler: Technique and common findings (Part 1). Ann Indian Acad Neurol. 2013;16(2):174-9. doi: 10.4103/0972-2327.112460.

83. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia SA, McNamara JO, et al. Neuroscience. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. The Blood Supply of the Brain and Spinal Cord. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11042/ pristupljeno 7.studenog 2021.

84. D'Andrea A, Conte M, Cavallaro M, Scarafile R, Riegler L, Cocchia R, et al. Transcranial Doppler ultrasonography: From methodology to major clinical applications. World J Cardiol. 2016;8(7):383-400. doi: 10.4330/wjc.v8.i7.383.

85. Martinic-Popovic I, Simundic AM, Dukic L, Lovrencic-Huzjan A, Popovic A, Seric V, et al. The association of inflammatory markers with cerebral vasoreactivity and carotid atherosclerosis in transient ischaemic attack. Clinical Biochemistry. 2014;47(16-17):182–6. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.07.010.

86. Silvestrini M, Vernieri F, Pasqualetti P, Matteis M, Passarelli F, Troisi E, et al. Impaired cerebral vasoreactivity and risk of stroke in patients with asymptomatic carotid artery stenosis. JAMA. 2000;283(16):2122-7. doi: 10.1001/jama.283.16.2122.

87. Al-Ramadan A, Rabab'h O, Shah J, Gharaibeh A. Acute and Post-Acute Neurological Complications of COVID-19. Neurol Int. 2021;13:102-19. doi: 10.3390/neurolint13010010.

88. Romero-Sánchez CM, Díaz-Maroto I, Fernández-Díaz E, Sánchez-Larsen Á, Layos-Romero A, García-García J, et al. Neurologic manifestations in hospitalized patients with

COVID-19: The ALBACOVID registry. Neurology. 2020;95(8):1060-70. doi: 10.1212/WNL.0000000000009937.

89. Hernández-Fernández F, Sandoval Valencia H, Barbella-Aponte RA, Collado-Jiménez R, Ayo-Martín Ó, Barrena C, et al. Cerebrovascular disease in patients with COVID-19: neuroimaging, histological and clinical description. Brain. 2020;143(10):3089-103. doi: 10.1093/brain/awaa239.

90. Chen X, Laurent S, Onur OA, Kleineberg NN, Fink GR, Schweitzer F, et al. A systematic review of neurological symptoms and complications of COVID-19. J Neurol. 2021;268(2):392-402. doi: 10.1007/s00415-020-10067-3.

91. Xia H, Lazartigues E. Angiotensin-Converting Enzyme 2 in the Brain: Properties and Future Directions. J Neurochem. 2008;107:1482–94. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05723.x.

92. Keyhanian K, Umeton RP, Mohit B, Davoudi V, Hajighasemi F, Ghasemi M. SARS-CoV-2 and nervous system: From pathogenesis to clinical manifestation. J Neuroimmunol. 2020;350:577436. doi: 10.1016/j.jneuroim.2020.577436.

93. Diehl RR. Cerebral autoregulation studies in clinical practice. Eur J Ultrasound. 2002;16(1-2):31-6. doi: 10.1016/s0929-8266(02)00048-4.

94. Castro P, Azevedo E, Sorond F. Cerebral Autoregulation in Stroke. Curr Atheroscler Rep. 2018;20(8):37. doi: 10.1007/s11883-018-0739-5.

95. Xiong L, Liu X, Shang T, Smielewski P, Donnelly J, Guo ZN, et al. Impaired cerebral autoregulation: measurement and application to stroke. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2017;88(6):520-31. doi: 10.1136/jnnp-2016-314385.

96. Shim Y, Yoon B, Shim DS, Kim W, An JY, Yang D.W. Cognitive correlates of cerebral vasoreactivity on transcranial Doppler in older adults. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2015;(6):1262-9. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.01.031.

97. Pavicic Ivelja M, Ivic I, Dolic K, Mestrovic A, Perkovic N, Jankovic S. Evaluation of cerebrovascular reactivity in chronic hepatitis C patients using transcranial color Doppler. PLoS ONE. 2019;14(6):0218206. doi: 10.1371/journal.pone.0218206.

98. Chow FC, Boscardin WJ, Mills C, Ko N, Carroll C, Price RW, et al. Cerebral vasoreactivity is impaired in treated, virally suppressed HIV-infected individuals. AIDS. 2016;30(1):45-55. doi: 10.1097/QAD.0000000000000875.

99. Li Y, Li M, Wang M, Zhou Y, Chang J, Xian Y, et al. Acute cerebrovascular disease following COVID-19: a single center, retrospective, observational study. Stroke Vasc Neurol. 2020;5(3):279-84. doi: 10.1136/svn-2020-000431. Epub 2020 Jul 2.

100. Urbanova BS, Schwabova JP, Magerova H, Jansky P, Markova H, Vyhnalek M, et al. Reduced Cerebrovascular Reserve Capacity as a Biomarker of Microangiopathy in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. J Alzheimers Dis. 2018;63(2):465-77. doi: 10.3233/JAD-170815.

101. Shim Y, Yoon B, Shim DS, Kim W, An JY, Yang DW. Cognitive correlates of cerebral vasoreactivity on transcranial Doppler in older adults. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2015;24(6):1262-9. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.01.031.

102. Castillo-Torres SA, Estrada-Bellmann I, Góngora-Rivera F. Cerebral Vasomotor Reactivity in Parkinson's Disease: A Missing Link Between Dysautonomia, White Matter Lesions, and Cognitive Decline? Mov Disord Clin Pract. 2020;7(8):994-5. doi: 10.1002/mdc3.13074..

103. Ramezankhani R, Solhi R, Memarnejadian A, Nami F, Hashemian SMR, Tricot T. et al. Therapeutic modalities and novel approaches in regenerative medicine for COVID-19. Int J Antimicrob Agents. 2020;56(6):106208. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106208.

104. Myall KJ, Mukherjee B, Castanheira AM, Lam JL, Benedetti G, Mak SM, et al. Persistent Post-COVID-19 Interstitial Lung Disease. An Observational Study of Corticosteroid Treatment. Ann Am Thorac Soc. 2021;18(5):799-806. doi: 10.1513/AnnalsATS.202008-1002OC.

105. RECOVERY Collaborative Group; Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, Linsell L, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. N Engl J Med. 2020;384(8):693-704. doi: 10.1056/NEJMoa2021436.

106. Li H, Chen C, Hu F, Wang J, Zhao Q, Gale RP, et al. Impact of corticosteroid therapy on outcomes of persons with SARS-CoV-2, SARS-CoV, or MERS-CoV infection: a systematic review and meta-analysis. Leukemia. 2020;34(6):1503-1511. doi: 10.1038/s41375-020-0848-3.

107. Wilcox SR. Management of respiratory failure due to covid-19. BMJ. 2020;369(4):1786. doi: 10.1136/bmj.m1786.

108. Ferner RE, Aronson JK. Remdesivir in covid-19. BMJ. 2020;369:1610. doi: 10.1136/bmj.m1610.

109. Santoro MG, Carafoli E. Remdesivir: From Ebola to COVID-19. Biochem Biophys Res Commun. 2021;538:145-50. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.11.043.

110. Nina PB, Dash AP. Hydroxychloroquine as prophylaxis or treatment for COVID-19: What does the evidence say? Indian J Public Health. 2020;64:125-7. doi: 10.4103/ijph.IJPH_496_20.

111. Gavriatopoulou M, Ntanasis-Stathopoulos I, Korompoki E, Fotiou D, Migkou M, Tzanninis IG, et al. Emerging treatment strategies for COVID-19 infection. Clin Exp Med. 2021;21(2):167-79. doi: 10.1007/s10238-020-00671-y.

112. Rizk JG, Kalantar-Zadeh K, Mehra MR, Lavie CJ, Rizk Y, Forthal DN. Pharmaco-Immunomodulatory Therapy in COVID-19. Drugs. 2020;80(13):1267-92. doi: 10.1007/s40265-020-01367-z.

113. Luo P, Liu Y, Qiu L, Liu X, Liu D, Li J. Tocilizumab treatment in COVID-19: A single center experience. J Med Virol. 2020;92(7):814-8. doi: 10.1002/jmv.25801.

114. Mahase E. Covid-19: Anti-TNF drug adalimumab to be trialled for patients in the community. BMJ. 2020;371:3847. doi: 10.1136/bmj.m3847.

115. Golchin A, Seyedjafari E, Ardeshirylajimi A. Mesenchymal Stem Cell Therapy for COVID-19: Present or Future. Stem Cell Rev Rep. 2020;16(3):427-33. doi: 10.1007/s12015-020-09973-w.

116. Thachil J, Tang N, Gando S, Falanga A, Cattaneo M, Levi M, et al. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. J Thromb Haemost. 2020;18(5):1023-6. doi: 10.1111/jth.14810.

117. Ayerbe L, Risco C, Ayis S. The association between treatment with heparin and survival in patients with Covid-19. J Thromb Thrombolysis. 2020;50(2):298-301. doi: 10.1007/s11239-020-02162-z.

118. Kow CS, Sunter W, Bain A, Zaidi STR, Hasan SS. Management of Outpatient Warfarin Therapy amid COVID-19 Pandemic: A Practical Guide. Am J Cardiovasc Drugs. 2020;20(4):301-9. doi: 10.1007/s40256-020-00415-z.

119. Barnes GD, Burnett A, Allen A, Blumenstein M, Clark NP, Cuker A, et al. Thromboembolism and anticoagulant therapy during the COVID-19 pandemic: interim clinical guidance from the anticoagulation forum. J Thromb Thrombolysis. 2020;50(1):72-81. doi: 10.1007/s11239-020-02138-z.

120. Moores LK, Tritschler T, Brosnahan S, Carrier M, Collen JF, Doerschug K, et al. Prevention, Diagnosis, and Treatment of VTE in Patients With Coronavirus Disease 2019: CHEST Guideline and Expert Panel Report. Chest. 2020;158(3):1143-63. doi: 10.1016/j.chest.2020.05.559.

121. Carr AC. A new clinical trial to test high-dose vitamin C in patients with COVID-19. Crit Care. 2020;24(1):133. doi: 10.1186/s13054-020-02851-4.

122. Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, Greenberg L, Aloia JF, Bergman P, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. BMJ. 2017;356:i6583. doi: 10.1136/bmj.i6583.

123. Finsterer J, Scorza FA. Guillain-Barre syndrome in 220 patients with COVID-19. Egypt J Neurol Psychiatry Neurosurg. 2021;57:55. doi: 10.1186/s41983-021-00310-7.

124. Adan GH, Mitchell JW, Marson T. Epilepsy care in the COVID-19 era. Clin Med (Lond). 2020 Jul;20(4):e104-e106. doi: 10.7861/clinmed.2020-0207.

125. Rahmani AM, Mirmahaleh SYH. Coronavirus disease (COVID-19) prevention and treatment methods and effective parameters: A systematic literature review. Sustain Cities Soc. 2021;64:102568. doi: 10.1016/j.scs.2020.102568.

126. Xing K, Tu XY, Liu M, Liang ZW, Chen JN, Li JJ, et al. Efficacy and safety of COVID-19 vaccines: a systematic review. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. 2021;23(3):221-228. doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2101133.

127. Quah P, Li A, Phua J. Mortality rates of patients with COVID-19 in the intensive care unit: a systematic review of the emerging literature. Crit Care. 2020;24(1):285. doi: 10.1186/s13054-020-03006-1.

128. Suvvari TK, Kutikuppala LVS, Tsagkaris C, Corriero AC, Kandi V. Post-COVID-19 complications: Multisystemic approach. J Med Virol. 2021;93(12):6451-5. doi: 10.1002/jmv.27222.

8. SAŽETAK

Uvod: Od početka pandemije virusa SARS-CoV-2 bilo je jasno da je virus izrazito neurotropan. Neurološke manifestacije mogu se kretati od nespecifičnih simptoma kao što su vrtoglavica, glavobolja i smetnje mirisa do teških oblika neurološke disfunkcije. Neke neurološke komplikacije mogu se javiti čak i nakon blagih oblika respiratornih bolesti. Cilj ove studije bio je procijeniti cerebrovaskularnu reaktivnost u bolesnika s nespecifičnim neurološkim simptomima nakon SARS-CoV-2 infekcije.

Metode: Za 25 bolesnika (mušarci N=16, žene N=9), u dobi od 33 do 62 godine, koji su imali nespecifične neurološke simptome 36 dana nakon preboljele blage infekcije SARS-CoV-2 virusom i 180 dana nakon početka SARS-COV-2 infekcije, kao i 25 zdravih ispitanika u kontrolnoj skupini, ispitivali smo vazoreaktivnost moždanih krvnih žila pomoću transkranijskog doplera kodiranog bojom i testom zadržavanja daha. Mjerili smo vršnu sistoličku brzinu (PSV, *eng.* Peak Systolic Velocity), krajnju dijastoličku brzinu (EDV, *eng*. End-Diastolic Velocity) i srednju brzinu (MV, *eng.*Mean flow Velocity), indeks otpora (RI, *eng.* Resistance Index) i indeks pulsatilnosti (PI, *eng.*Pulsatility Index) srednje moždane arterije (MCA, *eng*. Middle Cerebral Artery).

Rezultati: 36 dana nakon početka SARS-CoV-2 infekcije pronađene su statistički značajno niže brzine protoka kroz srednju moždanu arteriju u mirovanju [razlika aritmetičkih sredina iznosi za PSV 12,5 (T=4,5, p<0.001), za EDV 4,6 (T=3,2, p=0.002), za MV 9,2 (T=4,4, p<0,001), za RI 0,03 (T=3,1, p=0,003)], niže maksimalne brzine na kraju razdoblja zadržavanja daha (2,4 puta za PSV, za EDV 1,4 puta niže i 1,2 puta niže za MV) i niži indeks zadržavanja daha (BHI) (0,554 vs. p<0,001)) u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih ispitanika. Nakon 180 dana od početka SARS-CoV-2 infekcije nema značajnih promjena ispitivanih parametara za PSV (t=1,1, p=0,065), EDV (t=0,21; p=0,837), MV(t=1,6; p=0,118), PI(t=1,1; p=0,286) nakon testa zadržavanja daha ni u fazi mirovanja za PSV (t=1,5; p=0,156), RI (t =1,9; p=0,07), i MV (t=1,4, p=0,066) dok su vrijednosti EDV (t=4,9; p<0,001) i PI (t=2,4; p=0,028) bile više.

Zaključci: Smanjenje brzina protoka kroz srednju moždanu arteriju ukazuju na oslabljenu moždanu vazoreaktivnost u skupini ispitanika nakon infekcije SARS-CoV-2 virusom s obzirom na kontrolnu skupinu i sugeriraju oštećenje vaskularnog endotela virusom SARS-CoV-2. Nakon 180 dana od početka infekcije nije došlo do oporavka moždane vazoreaktivnosti kod ispitanika nakon SARS-CoV-2 infekcije.

9. SUMMARY

Background: From the beginning of the SARS-CoV-2 virus pandemic, it was clear that the virus was highly neurotropic. Neurological manifestations can range from non-specific symptoms such as dizziness, headache and odor disturbances to severe forms of neurological dysfunction. Some neurological complications can occur even after mild forms of respiratory diseases. The aim of this study was to assess cerebrovascular reactivity in patients with nonspecific neurological symptoms after SARS-CoV-2 infection.

Methods: For 25 patients (men N=16, women N=9), aged 33 to 62 years, who had nonspecific neurological symptoms 36 days after mild SARS-CoV-2 virus infection and 180 days after the onset of SARS-COV-2 infections, as well as 25 healthy subjects in the control group, we examined cerebrovascular vasoreactivity using color-coded transcranial Doppler and breath retention test. We measured peak systolic velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV) and mean velocity (MV), resistance index (RI).) and the Pulsatility Index (PI) of the Middle Cerebral Artery (MCA).

Results: 36 days after the onset of SARS-CoV-2 infection, statistically significantly lower resting cerebral artery flow rates were found [the difference in arithmetic means is for PSV 12.5 (T=4,5, p<0,001), for EDV 4,6 (T=3.2, p=0.002), for MV 9,2 (T=4.4, p <0,001), for RI 0,03 (T=3,1, p=0.003)], lower maximum velocities at the end of the breath holding period (2,4 times) for PSV, for EDV 1,4 times lower and 1,2 times lower for MV) and lower breath retention index (BHI) (0,554 vs. p <0,001)) compared to the control group of healthy subjects 180 days after the onset of SARS -CoV-2 infection there are no significant changes in the examined parameters for PSV (t=1.1, p=0,065), EDV (t=0.21; p=0,837), MV (t=1,6; p=0,118), PI (t=1,1; p=0,286) after the breath hold test and in rest period for PSV (t=1,5; p=0,156), RI (t=1,9; p=0,07), and MV (t=1,4, p=0,066) while the values of EDV (t=4,9; p<0,001) and PI (t =2,4; p=0,028) during rest period were higher.

Conclusions: Decreased flow rates through the middle cerebral artery indicate poor cerebral vasoreactivity in the group of subjects after SARS-CoV-2 virus infection relative to the control group and suggest vascular endothelial damage by the SARS-CoV-2 virus. After 180 days from the onset of infection, there was no recovery of cerebral vasoreactivity in subjects after SARS-CoV-2 infection.

Prilog 1. IPAQ upitnik za procjenu fizičke aktivnosti

INTERNACIONALNI UPITNIK O FIZIČKOJ AKTIVNOSTI (IPAQ)

Zainteresirani smo da saznati o vrstama fizičke aktivnosti koje ljudi prakticiraju u sklopu svog svakodnevnog života. Pitanja koja slijede odnose se na vrijeme koje ste proveli u fizičkoj aktivnosti u **posljednjih 7 dana** .Molim Vas da odgovorite na sva pitanja čak i ako smatrate da niste aktivna osoba.Prisjetite se aktivnosti koje imate na poslu, kod kuće i slobodno vrijeme, da stignete od jednog do drugog mjesta, kao i rekreacije, vježbi i sporta u slobodno vrijeme.
Prisjetite se **naporne** fizičke aktivnosti koje ste imali u **posljednjih 7 dana.**
Naporna fizička aktivnost odnosi se na one aktivnosti koje traži veliki fizički napor i tjeraju Vas da dišete mnogo brže nego inače
Uzmite u obzir samo one fizičke aktivnosti koje ste obavljali namanje 10 minuta .

1. U posljednjih 7 dana, koliko dana ste ste imali napornu fizičku aktivnost kao što je podiznje tereta , kopanje, aerobic ili brza vožnja bicikla ?
_____ dana u toku nedjelje
Ako niste imali napornu fizičku aktivnost **Pređite na pitanje 3**

2. Koliko vremena **dnevno** ste provedili u toj aktivnosti?
_____ sati dnevno
_____ minuta dnevno
Ne znam/ nisam siguran.

Prisjetite se svih umjerenih aktivnosti koje ste imali u proteklih 7 dana. Umjerene aktivnosti su one koje zahtjevaju umjeren fizički napor i dovode do nešto težeg disanja nego normalno. Uzmite u obzir samo one fizičke aktivnosti koje ste obavljali minimalno 10 minuta.

3. U poslednjih 7 dana, koliko dana ste imali umjerenu fizičku aktivnost kao što je nošenje manjeg tereta, vožnje bicikla u normalnom ritmu,tenis u parovima. Ne računajte šetnju.
_____ dana u nedelji
Ako niste obavljali umjerenu fizičku aktivnost Pređite na pitanje 5

4. Koliko vremena dnevno ste provodili u toj umjerenoj fizičkoj aktivnosti?

_____ sati dnevno
_____ minuta dnevno
Ne znam / nisam siguran
Razmislite koliko ste vremena proveli u hodu u posljednjih 7 dana. To uključuje i hod na poslu i u kući, hod od jednog do drugog mjesta, kao i svaka druga šetnja u koju ste išli radi rekreacije,športa, vježbe ili uživanja.

5. U posljednjih 7 dana, koliko dana ste išli u šetnju dužu od 10 minuta?
_____ dana u nedjelji
Ako niste hodali Pređite na pitanje 7

6. Koliko vremena ste prosečno provodili dnevno u šetnji/ hodu?
_____ sati dnevno
_____ minuta dnevno
Ne znam/ nisam siguran
Posljednje pitanje odnosi se na vrijeme koje ste proveli sjedeći za vrijeme radne nedjelje, poslednjih 7 dana. Uključite vrijeme provedeno na poslu, kod kuće,učeći za ispite, slobodno vrijeme. To uključuje vrijeme provedeno za stolom na poslu, u posjeti prijateljima,čitanju, gledanju televizije sjedeći ili ležeći.

7. U posljednjih 7 dana, koliko vremena dnevno ste tijekom radne nedelje proveli sjedeći ?
_____ sati dnevo
_____ minuta dnevno
Ne znam / nisam siguran

Prilog 2. Individualna test lista.

INDIVIDUALNA TEST LISTA

IME I PREZIME ISPITANIKA_____ŠIFRA:_____

DOB_____SPOL_____

Tjelesna težina: _____visina_____BMI_____

Prijašnje bolesti:_____

arterijska hipertenzija_____

hiperlipidemija_____

šećerna bolest_____

fibrilacija atrija_____

preboljela COVID infekcija: kad_____

respiratorni simptomi:_____

neurološki simptomi:_____

FUNKCIJE I NAVIKE:

Pušenje_____

alkohol_____

Količina umjerene tjelesne aktivnosti na tjedan: _____

LIJEKOVI:_____

SOMATSKI STATUS:_____

NEUROLOŠKI STATUS:_____

PSIHIČKI STATUS:_____

REZULTATI TESTIRANJA:

UZ karotidnih arterija: lijeva ACI _____ desna ACI_____

TCD: BHT1 BHT2 BHT3

PSVrest_____PSVstart_____PSVtest1_____PSVtest2_____PSVtest3_____

EDVrest_____EDVstart_____EDVtest1_____EDVtest2_____EDVtest3_____

MV rest_____MV start_____MV test1_____MV test2_____MV test3_____

RI rest _____RI start_____RI test1_____RI test2_____RI test3_____

PI rest_____PI start_____PI itest1_____PI test2_____PI test3_____

10. ŽIVOTOPIS

Marino Marčić, dr. med.

Datum i mjesto rođenja: 15.11.1973. u Splitu

Adresa stanovanja: Poljička cesta 12, Split

Telefon: 021-388-730

Mobitel: 091 9070903

Elektronička pošta: marino.marcic@yahoo.com , mmarcic@mefst.hr

FAKULTETSKO OBRAZOVANJE

1992.-1998. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Studij medicine u Splitu

2009.-2010. Stručni poslijediplomski studij Klinička neurologija

2010.-2021. Poslijediplomski studij „Medicina utemeljena na dokazima“ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu

2011.-2012. Tečaj stalnog usavršavanja Ultrazvuk ekstrakranijskih krvnih žila te transkranijski color doppler (KBC Sestre Milosrdnice).

STRUČNI RAD

1999.-2000.stručna praksa DZ Split

2000.-2001. liječnik obiteljske medicine u DZ Split

2001.-2007 stručni predstavnik za lijekove (Krka Pharma, Astra Zeneca)

2007.-2011. specijalizacija iz neurologije Klinički bolnički centar Split

2012. do danas, Zavod za cerebrovaskularne bolesti, Klinika za neurologiju, Klinički bolnički centar Split

Materinski jezik: hrvatski jezik

Ostali jezici: engleski jezik (aktivno znanje), talijanski jezik (pasivno znanje).

Autor sam 10 postera i prezentacija na domaćim i međunarodnim skupovima.

Aktivno sam sudjelovao u studiji Interstroke (2009.god.) kao dio istraživačkog tima.

Nastavna aktivnost: sudjelovanje u nastavi iz predmeta Neurologija na Medicinskom fakultetu, Sveučilišta u Splitu.

ČLANSTVO U ZNANSTVENIM I STRUKOVNIM UDRUGAMA:

Hrvatska liječnička komora

Hrvatski liječnički zbor

Stalni sudski vještak za područje neurologije

Do sada objavljeni radovi u časopisima:

1. Marčić M, Marčić L, Titlić M. Case of Kleine-Levin Syndrome: Diagnostic and Therapeutic Challenge. Acta Med Iran. 2018, 56(1):62-6.

2. Marčić M, Mihalj M, Ivica N, Pintarić I, Titlić M. How severe is depression in low back pain patients? Acta Clin Croat. 2014, 53(3):267-71.

3. Jurinovic P, Bulicic AR, Marcic M, Mise NI, Titlic M, Suljic E. Foramen Magnum Meningioma: Case Report and Review of Literature. Acta Inform Med. 2016, 24(1):74-7.

4. Marčić M, Marčić L, Titlić M. Warfarin-Induced Skin Necrosis in Patients With Low Protein C Levels. Acta Med Iran. 2016, 54(8):551-4.

5. Marčić M, Marčić L, Kolić K, Titlić M. Internal Watershed Infarction as an Imaging and Clinical Challenge: a Case Report. Acta Med Iran. 2016, 54(3):222-5.

6. Marcic, L.; Marcic, M.; Kojundzic, S.L.; Marcic, B.; Capkun, V.; Vukojevic, K. Personalized Approach to Patient with MRI Brain Changes after SARS-CoV-2 Infection. J. Pers. Med. 2021, 11, 442.

7. Marcic, M.; Marcic, L.; Marcic, B.; Capkun, V.; Vukojevic, K. Cerebral Vasoreactivity Evaluated by Transcranial Color Doppler and Breath-Holding Test in Patients after SARS-CoV-2 Infection. J. Pers. Med. 2021, 11, 379.

8. Marčić M, Marčić L, Marčić B. SARS-CoV-2 Infection Causes Relapse of Kleine-Levin Syndrome: Case Report and Review of Literature. Neurol Int. 2021, 3(3):328-34.