

ฉบับแปลไทย (Thai Translations)

Combined triple treatment of fibrin amyloid microclots and platelet pathology in individuals with Long COVID/ Post-Acute Sequelae of COVID-19 (PASC) can resolve their persistent symptoms

<https://www.researchsquare.com/article/rs-1205453/v1>

การรักษาด้วยวิธี 3 ประสาน (combined triple treatment) สำหรับการเกิดลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclots) จากอะไมลอยด์ (amyloid) ของไฟบรินและพยาธิวิทยาของเกล็ดเลือด (platelet pathology) ในผู้ที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) สามารถแก้ไขอาการเรื้อรัง (persistent symptoms) ของผู้ป่วยได้

บทคัดย่อ (ABSTRACT)

เรายอมรับว่าลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclots) จากอะไมลอยด์ (amyloid) ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำซึ่งมีโครงสร้างจำเพาะร่วมกัน (fibrin/fibrinogen) และการกระตุ้นที่มากเกินไปของเกล็ดเลือด (platelet hyperactivation) ซึ่งเราได้สังเกตเห็นมาก่อนหน้านี้ในผู้ป่วยโควิด 19 และผู้ที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) อาจจะทำให้เกิดชุดของจุดศูนย์รวมที่เหมาะสม (suitable set of foci) ในการบำบัดรักษาทางคลินิกสำหรับอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) อันดับแรก เราได้รายงานเกี่ยวกับโรคฉวยร่วมหรือโรคร่วม (comorbidities) และอาการต่าง ๆ ที่พบในกลุ่มผู้ป่วยชาวแอฟริกาใต้ที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำนวน 845 คนที่มีรายชื่อในฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้ ซึ่งมีภาวะโรคความดันโลหิตสูง (hypertension) และระดับของคอเลสเตอรอลสูง (dyslipidaemia) เป็นโรคร่วมที่มีความสำคัญมากที่สุด ความสมดุลทางเพศ (gender balance) (70% เป็นเพศหญิง) และอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ที่ได้รับรายงานว่าพบได้บ่อยมากที่สุด (อาการเหนื่อยล้า อ่อนเพลียไม่มีแรง ภาวะสมองล้า สูญเสียสมาธิและหลงลืม หายใจไม่อิ่ม ตลอดจนปวดตามข้อและปวดกล้ามเนื้อ) สามารถเปรียบเทียบกันได้กับที่รายงานจากที่อื่น สิ่งเหล่านี้ทำให้น่าเชื่อได้ว่าตัวอย่างของเราไม่ได้มีความผิดปกติแต่อย่างใดเลย โดยการใช้ระบบการให้คะแนน (scoring system) ซึ่งได้ตีพิมพ์เผยแพร่ก่อนหน้านี้สำหรับลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclots) จากอะไมลอยด์ (amyloid) ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำซึ่งมีโครงสร้างจำเพาะร่วมกัน (fibrin/fibrinogen) และพยาธิวิทยาของเกล็ดเลือด เราได้ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยจำนวน 70 คน และรายงานถึงการมีอยู่ของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กที่สำคัญ ๆ จากอะไมลอยด์ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนเส้นใย (fibrin amyloid microclots) และพยาธิวิทยาของเกล็ดเลือด (platelet pathology) ในผู้ป่วยทุกราย และสิ่งเหล่านี้มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ซึ่งยังคงมีอยู่อย่างต่อเนื่องหลังจากที่พ้นตัวจากการเจ็บป่วยด้วยโรคโควิด 19 เฉียบพลัน ผู้ป่วยกลุ่มย่อยจำนวน 24 คนได้รับการบำบัดรักษาด้วยการใช้ยาต้านเกล็ดเลือดร่วมกัน (DAPT) เป็นเวลา 1 เดือน (ยา Clopidogrel 75mg/Aspirin 75mg) วันละ 1 ครั้ง และยาต้านการแข็งตัวของเลือดชนิดรับประทานที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ factor ที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือดโดยตรง (DOAC) (Apixiban 5 mg วันละ 2 ครั้ง) ยายับยั้งการหลั่งกรด (PPI) pantoprazole 40 mg ต่อวัน

ก็ได้รับการจ่ายให้ผู้ป่วยเพื่อป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (gastric protection) กฎเกณฑ์ที่ว่าจะต้องได้รับการปฏิบัติตามภายใต้แนวทางปฏิบัติทางการแพทย์ที่เข้มงวดและมีคุณสมบัติเหมาะสมเพื่อหลีกเลี่ยงอันตรายใด ๆ ก็ตาม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดอาการเลือดออก (haemorrhagic bleeding) และในการรักษาโดยรวม มีการใช้วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของการแข็งตัวของเลือด (Thromboelastography - TEG®) เพื่อช่วยในการวัดสถานะของการแข็งตัวของเลือดของผู้ป่วย ผู้ป่วยจำนวน 24 คนที่ได้รับการรักษานี้แต่ละคนได้รายงานว่าอาการหลัก ๆ ที่สำคัญ ๆ ของเขาได้รับการแก้ไข และอาการเหนื่อยล้า อ่อนเพลียไม่มีแรงซึ่งเป็นอาการหลักได้รับการบรรเทาออกไป และสิ่งนี้ก็สะท้อนจากคะแนนที่ลดลงทั้งของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กจากอะไมลอยด์ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนเส้นใย (fibrin amyloid microclots) และของพยาธิวิทยาของเกล็ดเลือด (platelet pathology) ด้วย ผู้ป่วยจำนวน 9 คนได้รับการหาจีโนไทป์สำหรับความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโนชนิดโฮโมซิสทีน (homocysteine) ที่เกี่ยวพันโยงใยกับภาวะความดันโลหิตสูง (hypertension) ซึ่งเป็นโรคร่วมที่พบเป็นปกติในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีการรายงานในผู้ป่วยทั้ง 2 โรคนี้ ซึ่งพบว่ามีความเป็นโฮโมไซกัส (homozygous) สำหรับ T-allele ของยีน *MTHFR* 677 ที่สัมพันธ์กับความเสี่ยง ลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กจากอะไมลอยด์ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนเส้นใย (fibrin amyloid microclots) ที่อุดตันในเส้นเลือดฝอยและยับยั้งขัดขวางการขนส่งออกซิเจนเข้าสู่เนื้อเยื่อ ซึ่งติดตามมาด้วยการกระตุ้นของเกล็ดเลือดที่มากผิดปกติ (platelet hyperactivation) เป็นคำอธิบายสำหรับอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) การกำจัดและการพลิกกลับ (reversal) พยาธิสภาพของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวเป็นทางเลือกของการบำบัดรักษาที่สำคัญอย่างหนึ่ง ซึ่งดูเหมือนว่าจะมีประสิทธิภาพเป็นอย่างสูงและเป็นการรับประกันว่าควรมีการศึกษาวิจัยทางคลินิกที่มีกลุ่มควบคุม (control)

บทนำ (INTRODUCTION)

มีผู้ป่วยโควิด 19 ที่ติดเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์กลุ่มอาการทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง (SARS-CoV-2) มากถึง 30 % ที่ยังคง (มีบางรายที่เพิ่งเริ่ม) ประสบกับอาการต่าง ๆ ที่ทำให้ร่างกายอ่อนแอจนนับสัปดาห์หรือนับเป็นเดือน ๆ หลังจากระยะเฉียบพลันของการติดเชื้อ การกำหนดความหมายที่แน่นอนลงไปของคำว่า Long COVID/ Post-Acute Sequelae of COVID-19 (PASC) นี้ (ในการศึกษาวิจัยนี้เรียกว่า Long COVID/PASC) ออกจะไม่ชัดเจนและในบางกรณีก็ถึงกับคลุมเครือ นี่ก็เป็นเพราะว่ากลไกทางพยาธิสรีรวิทยา (pathophysiological mechanisms) ส่วนมากยังไม่ได้รับการบ่งชี้อย่างครบถ้วน นอกจากนี้ก็ยังมีรายงานถึงอาการที่แตกต่างกันอยู่อย่างมากมาย อาการที่ผู้ป่วยรายงานซึ่งพบได้มากที่สุดคงอยู่ได้นานถึง 6 เดือนหรือมากกว่านั้นภายหลังจากมีการติดเชื้อเฉียบพลัน¹ ผู้ที่รอดชีวิตจากโควิด 19 มีการบ่นถึงอาการอ่อนเพลียเรื้อรังหรือกล้ามเนื้อไม่มีแรง หายใจแรงและเร็ว เหนื่อยหอบ หลับยาก มีความวิตกกังวลหรือหดหู่ซึมเศร้า² อาการที่สังเกตพบในผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) มีความคล้ายคลึงกันอย่างมากกับอาการที่พบในโรคเรื้อรังเหล่านี้ รวมทั้งอาการปวดกล้ามเนื้อเหตุเพราะสมองและไขสันหลังอักเสบ (Myalgic Encephalomyelitis) / กลุ่มอาการอ่อนเพลียเรื้อรัง (Chronic Fatigue Syndrome) หรือ ME/CFS^{3, 4, 5, 6, 7, 8} กลุ่มอาการหัวใจเต้นเร็วระหว่างเปลี่ยนท่า (postural orthostatic tachycardia syndrome)⁹ และกลุ่มอาการ Mast Cell Activation Syndrome^{1, 10} ในโครงการการศึกษาวิจัยขนาดใหญ่ซึ่งเป็นการสำรวจผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำนวน 3,762 คนจาก 56 ประเทศพบว่าผู้ป่วยเกือบจะถึงครึ่งหนึ่งยังคงไม่สามารถทำงานเต็มเวลาได้ในช่วง 6 เดือนหลังจากการติดเชื้อ ซึ่งส่วนใหญ่เนื่องมาจากมีอาการอ่อนเพลียไม่มีแรง (fatigue)

อ่อนล้าหลังการใช้งานกล้ามเนื้อ (post-exertional malaise) รวมถึงการสูญเสียความสามารถในการเรียนรู้ การรับรู้ หรือความจำ (cognitive dysfunction) ¹¹

องค์ประกอบที่สำคัญอย่างหนึ่งของโรคโควิด 19 ที่รุนแรงคือมีการอักเสบของเซลล์เยื่อบุผนังเส้นเลือดที่ได้รับการกระตุ้นจากเชื้อไวรัส (virus-induced endothelialitis) ซึ่งนำไปสู่การหยุดชะงักของการทำหน้าที่ที่เป็นปกติของเซลล์เยื่อบุผนังเส้นเลือด และเป็นการเริ่มต้นภาวะของการลิ่มเลือดของระบบสรีรวิทยาการแข็งตัวของเลือดที่เป็นปกติ ระดับของ von Willebrand Factor (VWF) ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมหาศาลนำไปสู่การกระตุ้นของเกล็ดเลือดที่มากมายล้นหลาม รวมทั้งการกระตุ้นของวิถีการแข็งตัวของเลือดจากเอนไซม์ (enzymatic clotting pathway) ซึ่งเป็นวิถีภายใน (intrinsic) ก่อนหน้านั้นเราพบลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กจากอะไมลอยด์ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนเส้นใย (fibrin amyloid microclots) ในกระแสเลือดที่มีอยู่อย่างต่อเนื่อง ซึ่งขัดขวางยับยั้งกระบวนการของการละลายลิ่มเลือด (fibrinolysis) ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยโควิด 19 ระยะเฉียบพลัน ^{12, 13} นอกจากนี้ก็ยังมีพยาธิวิทยาของเซลล์เยื่อบุผนังเส้นเลือดของลิ่มเลือดขนาดเล็ก และของเกล็ดเลือดในผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ด้วย ¹⁴ ในการศึกษาวิจัยเมื่อไม่นานมานี้เราได้ระบุขึ้นถึงโมเลกุลจำนวนมากที่ผิดปกติ (dysregulated molecules) ในกระแสเลือด ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุของ (หรือสะท้อนถึง) อาการต่าง ๆ ที่ยังคงอยู่กับผู้ที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ¹⁴ เราได้ใช้เทคนิควิธีโปรตีโอมิกส์ (proteomics) เพื่อที่จะศึกษาโปรตีนที่มีอยู่ ทั้งใน supernatant ที่ถูกย่อยและในสิ่งตกค้างสะสมที่เป็นเม็ดเล็ก ๆ (pellet deposits) ที่ติดอยู่ซึ่งมีอย่างต่อเนื่อง (ภายหลังจากการย่อยโปรตีนด้วย trypsin) โมเลกุลที่ผิดปกติเหล่านี้รวมถึงโมเลกุลที่ทำให้เกิดการอักเสบระยะเฉียบพลันคือ Serum Amyloid A (SAA) และ $\alpha 2$ -antiplasmin ($\alpha 2AP$) ก่อนหน้านั้นเราได้ค้นพบว่าในโรคเรื้อรังมากมาย ไฟบริโนเจน (fibrinogen) สามารถจับตัวกันเป็นรูปแบบอะไมลอยด์ (amyloid form) ซึ่งขัดขวางยับยั้งกระบวนการของการละลายลิ่มเลือด (fibrinolysis) และลิ่มเลือดแข็งตัว (ขนาดเล็ก) จากอะไมลอยด์ซึ่งเป็นกลุ่มของไฟบริน (fibrin amyloid (micro)clots) เหล่านี้อาจจะสามารถถูกตรวจพบได้โดยใช้การย้อมด้วย fluorogenic amyloid stain ^{12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22} ด้วยเหตุนี้เราจึงได้ใช้เทคนิควิธี fluorescence microscopy ด้วย เพื่อที่จะรายงานเกี่ยวกับลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclots) จากอะไมลอยด์ขนาดใหญ่ (large amyloid) และเกร็ดเลือดที่ได้รับการกระตุ้นมากผิดปกติ (hyperactivated platelets) ที่อยู่ในตัวอย่างเลือดจากผู้ที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) และเรายังได้แสดงให้เห็นด้วยว่าสิ่งตกค้างสะสมเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งขัดขวางกระบวนการของการละลายลิ่มเลือด (fibrinolysis) เป็นอย่างมาก ^{14, 23} ระบบ plasmin-antiplasmin มีบทบาทสำคัญในการแข็งตัวของเลือดและการสลายลิ่มเลือด ²⁴ Plasmin และ $\alpha 2AP$ เป็นสาเหตุหลักสำหรับการละลายที่มีการควบคุมของพอลิเมอร์ไฟบริน (fibrin polymers) ให้เป็นเศษเล็กเศษน้อยที่สามารถละลายได้ (soluble fragments) เช่น D-dimer ^{24, 25} นอกจากนี้เรายังได้พัฒนาระบบการแบ่งระดับ (grading system) สำหรับเกล็ดเลือดและลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก เพื่อแบ่งประเภทของพยาธิวิทยาของเกล็ดเลือดและลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กด้วย ²⁶ ระบบการแบ่งระดับ (grading system) นี้ควรได้รับการนำไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนหนึ่งของกลยุทธ์วิธีการแบบหลากหลายแนวทาง (a multi-pronged approach) ซึ่งนอกเหนือจากจะเป็นการต้านการแข็งตัวของเลือดที่เหมาะสมแล้วยังอาจจะเป็นการรักษาต้านไวรัส (antiviral treatment) เพื่อจำกัดการเข้าสู่เซลล์ของเชื้อไวรัส SARS-CoV2 ได้อีกด้วย

การเปลี่ยนสภาพเซลล์ (differentiation) ของพยาธิวิทยาของเกล็ดเลือดและลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กที่เนื่องมาจาก

ภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จากโรคหัวใจและหลอดเลือด (CVD) โรคความดันโลหิตสูง (hypertension) ภาวะที่ร่างกายมีระดับไขมันในเลือดสูงกว่าปกติ (hypercholesterolemia) หรือภาวะโรคเบาหวาน (diabetes) ในฐานะที่เป็นโรคร่วมหลัก ๆ (main co-morbidities) ที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัส SARS CoV2 เป็นสิ่งสำคัญในการแสวงหาหนทางเพื่อที่จะมีผลในเชิงการป้องกันต่อการเกิดโรค เมื่อไม่นานมานี้ เราได้ใช้วิธีการทดสอบทางพันธุศาสตร์ที่ได้รับการสนับสนุนจากพยาธิวิทยา (pathology- supported genetic testing approach) (Kotze et al., 2013) สำหรับการให้ความเห็นในการแปลผล (interpretative commenting) เกี่ยวกับความเกี่ยวข้องของสัมพันธ์ทางคลินิกที่มีความเป็นไปได้ของ cholesterol-raising apolipoprotein (APOE) e4 allele ซึ่งสัมพันธ์กับการติดเชื้อและความรุนแรงของโรค COVID-19²⁷ อาจจะมีกลไกทางพยาธิสรีรวิทยา (pathophysiological mechanisms) อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกัน 20 เมตาบอลิซึมเป็นอย่างน้อยเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย รวมทั้งความเชื่อมโยงทางพันธุศาสตร์ที่มีความเป็นไปได้ระหว่างการพัฒนาของภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) กับกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโนโฮโมซิสทีน (homocysteine metabolism)²⁸ แต่อย่างไรก็ตามความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) ก็อาจจะมีผลต่อการแปลผล ในขณะที่อาจจะจำเป็นต้องมีความผิดปกติทางพันธุกรรมอื่น ๆ อีกมากมายเข้าร่วมด้วยในการแสดงออกของฟีโนไทป์ (phenotypic expression) ในย่อนี้ถ้าได้ไปจะเป็นการที่เราพิจารณาถึงความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) ในยีน 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) ในวิถี one-carbon-homocysteine pathway เป็นวิธีการวินิจฉัย (diagnostic) และเป็นเป้าหมายที่สามารถทำได้ (actionable target) ในเส้นทางการเกิดโรคโควิด 19 ที่คุกคามถึงแก่ชีวิต (life-threatening)²⁹

การจับคู่ของยีนพวกเดียวกันและเหมือนกัน (Homozygosity) สำหรับ MTHFR 677C>T (rs1801133) variant หรือการจับคู่ของยีนพวกเดียวกันแต่ไม่เหมือนกัน (compound heterozygosity) ที่มี 1298A>C (rs1801131) เป็นสาเหตุทางพันธุกรรมที่พบได้มากที่สุดของการที่มีกรดอะมิโนโฮโมซิสทีน (homocysteine) ในระดับที่สูง ซึ่งมีการศึกษามาก่อนหน้านี้ในผู้ป่วยโควิด 19³⁰ ค่า cut-off value ของโฮโมซิสทีน (homocysteine) ในการทำนายการดำเนินของ pathological findings ในภาพจากการตรวจเอกซเรย์คอมพิวเตอร์บริเวณทรวงอก (chest CT-imaging) ของผู้ป่วยโควิด 19 อยู่ที่ 10.58 $\mu\text{mol/L}$ เปรียบเทียบกับการกำหนดขอบเขตปกติของค่าที่สูงซึ่งอยู่ที่เหนือ 15 $\mu\text{mol/L}$ ³¹ สิ่งนี้สอดคล้องกันกับผลกระทบต่อการทำงานของเกร็ดเลือด (platelet activation) และวิถีการแข็งตัวของเลือดจากเอนไซม์ (enzymatic clotting pathway)³² การทำหน้าที่ของเอนไซม์ MTHFR ยังคงได้รับการรักษาไว้เป็นส่วนมากเมื่อได้รับโฟเลตในอาหาร (dietary folate) อย่างเพียงพอ และดังนั้นการให้อาหารเสริมที่มีวิตามินบีจึงได้รับการแนะนำในกรณีนี้ ในผู้ป่วยที่มีรูปแบบการใช้ชีวิตที่ไม่เป็นผลดีต่อสุขภาพ เช่น ผู้ป่วยที่มีดัชนีมวลกาย (BMI) สูง³³ ปฏิกริยาอาการของเอนไซม์ที่ลดลงนำไปสู่การสะสมของโฮโมซิสทีน (homocysteine)^{34 35} ซึ่งเป็นการเน้นย้ำถึงความจำเป็นของการศึกษาวิจัยชนิดมีการเก็บข้อมูลไปข้างหน้า (prospective intervention studies) เกี่ยวกับโฮโมซิสทีน (homocysteine) ในฐานะที่เป็นดัชนีชี้วัด (marker) การอักเสบที่อาจจะสามารถมีเป้าประสงค์ไปที่การป้องกันการเสียหายของเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดและโรคร่วมที่เกี่ยวข้องกับเส้นเลือด (vascular comorbidities) คุณค่าของวิธีการที่เหมาะสมกับแต่ละบุคคล (personalized approach) ที่อยู่บนพื้นฐานของการวิจัยแบบสุ่ม (randomized trials) อย่างที่ได้มีการดำเนินการมาก่อนหน้านี้ในผู้ป่วยที่มีภาวะโรคความดันโลหิตสูงซึ่งได้รับการตรวจคัดกรองก่อนหน้า (pre-screened) สำหรับความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) ของยีน MTHFR³⁶ เป็นการยืนยันว่าควรมีการศึกษาวิจัยต่อไป เพื่ออธิบายถึงบทบาทที่เป็นไปได้ของการสะสมของโฮโมซิสทีน (homocysteine) ในผู้ป่วยที่มีภาวะอาการ

หลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC)

อาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำนวนมากที่มีการรายงานมีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับอาการของหัวใจ – ปอด (cardio-pulmonary) ในธรรมชาติ ในการศึกษาวิจัยนี้เรานำเสนอผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยจากกลุ่มผู้ป่วยจำนวน 845 คนที่ลงทะเบียนออนไลน์ในฐานะข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้ และโดยที่คู่ขนานกันไป ตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยจำนวน 70 คนซึ่งไปพบแพทย์ผู้ที่เป็นผู้เขียนร่วมทางคลินิก (clinical co-author) ของเราก้ได้รับการเก็บตัวอย่างเพื่อรายงานเกี่ยวกับการมีอยู่ของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclots) และพยาธิวิทยาของเกร็ดเลือด (platelet pathology) ที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับอาการที่ยังคงมีอยู่ต่อเนื่องภายหลังจากที่พ้นตัวจากโควิด 19 เฉียบพลัน ก่อนหน้าการป่วยเป็นโควิด 19 เฉียบพลันผู้ป่วยเหล่านี้ไม่ได้มีอาการอ่อนเพลียไม่มีแรงและอาการอื่น ๆ ที่มีการรายงานในเวลาต่อมา ซึ่งเป็นอาการที่โดยทั่วไปมีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ด้วยเหตุนี้ผู้ป่วยเหล่านี้จึงได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ด้วยวิธีการตัดโรคปกติอื่น ๆ ทั้งหมดออกไป รวมทั้งภาวะหัวใจล้มเหลว (heart failure) หลังจากการวินิจฉัยผู้ป่วยจำนวน 24 คนได้รับการรักษาตามการมีอยู่ของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclots) และพยาธิวิทยาของเกร็ดเลือด (platelet pathology) และผลสะท้อนกลับจากผู้ป่วย (patient feedback) ได้รับการเก็บรวบรวมทั้งก่อนและหลังการรักษา ผู้ป่วยเหล่านี้มีอาการดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แม้แต่กลับคืนไปสู่การมีสุขภาพในระดับที่ใกล้เคียงกับระดับก่อนหน้าที่จะป่วยเป็นโควิด 19 เฉียบพลัน นอกจากนี้เรายังได้รายงานผลที่ได้ทางพันธุศาสตร์ในผู้ป่วยจำนวน 9 คน โดยอ้างอิงองค์ความรู้ที่ว่าภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) และการกระตุ้นของเกร็ดเลือด (platelet activation) อาจจะมีสาเหตุบางส่วนมาจากผลร้าย (deleterious effect) ของการขาดโฟเลต (folate deficiency) ที่มีต่อปฏิกิริยาอาการของยีน *MTHFR* และระดับของโฮโมซิสทีน (homocysteine levels)³² เราสรุปว่าการรักษาที่มุ่งเน้นไปที่การกำจัดลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กสำคัญ ๆ จากอะไมลอยด์ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนเส้นใย (fibrin amyloid microclots) เหล่านี้ และการกระตุ้นเกร็ดเลือดที่มากผิดปกติ (platelet hyperactivation) รวมทั้งการใช้อาหารเสริมที่มีโฟเลต/วิตามินบี (ในกรณีที่มีข้อบ่งชี้ทางด้านพันธุกรรมหรือรูปแบบการใช้ชีวิต) สามารถเป็นทางออกในการรักษาอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long COVID) และด้วยเหตุนี้ลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กที่สำคัญ ๆ จากอะไมลอยด์ (amyloid microclots) จึงควรถูกมองว่าเป็นสาเหตุใหญ่สำหรับเรื่องนี้

เครื่องมือและวิธีการ (MATERIALS AND METHODS)

การรับรองทางจริยธรรมโครงการวิจัย (Ethical clearance)

การรับรองทางจริยธรรมสำหรับโครงการศึกษาวิจัยนี้ได้รับจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน (Health Research Ethics Committee (HREC)) แห่งมหาวิทยาลัย Stellenbosch (แอฟริกาใต้) (references: B21/03/001_COVID-19, projectID: 21911 และ N19/03/043, project ID 9521) โดยได้รับการยินยอมที่มีการบอกกล่าว (informed consent) สำหรับการศึกษารวบรวมทั่วไป (generic study) และสำหรับการเก็บข้อมูลจากผู้ป่วยที่ลงทะเบียนออนไลน์ในฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้ ทางคณะผู้วิจัยได้มีการอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ตลอดจนความเสี่ยงและรายละเอียดต่าง ๆ ให้แก่อาสาสมัครที่ถูกเก็บตัวอย่างเลือด และได้รับการยินยอมที่มีการบอกกล่าว (informed consent) ก่อนที่จะเก็บตัวอย่างเลือด คณะผู้วิจัยได้ปฏิบัติตามแนวปฏิบัติด้านจริยธรรมและหลักการของปฏิญญาเฮลซิงกิ (Declaration of Helsinki) แนวทางการปฏิบัติการวิจัยทางคลินิกที่ดีของแอฟริกาใต้ (South African Guidelines for Good Clinical Practice) และแนวปฏิบัติทางจริยธรรมในการวิจัยของสภาวิจัยทางการแพทย์ (Medical Research Council Ethical Guidelines for Research) อย่างเคร่งครัดตลอดระยะเวลาของการศึกษาวิจัยและสำหรับทุก ๆ โปรโตคอลของการศึกษาวิจัย แผนผัง (layout) ของรูปแบบการวิจัย (study design) แสดงไว้ในภาพประกอบ 1

การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูลของผู้ป่วยที่ลงทะเบียนในฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้

ฐานข้อมูลผู้ที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้เป็นแพลตฟอร์มออนไลน์ ที่ซึ่งผู้ป่วยสามารถรายงานอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) และโรคร่วม (comorbidities) ที่มีมาก่อนหน้า ข้อมูลได้รับการวิเคราะห์สำหรับปัจจัยความเสี่ยงต่าง ๆ (risk factors) ที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับการพัฒนาอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ข้อมูลทั้งหมดได้รับการปกปิดไม่ระบุชื่อ การวิเคราะห์ทางสถิติของข้อมูลในฐานข้อมูลผู้ที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้ดำเนินการใน Jupyter notebook environment ³⁷ และ Pandas library ³⁸ ถูกใช้สำหรับการจัดการข้อมูล (data manipulation) และการวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยความช่วยเหลือของ interactive python data library, Plotly (<https://plot.ly>) ซึ่งเป็น visualisation ของการวิเคราะห์ทางสถิติได้รับผลเมื่อใช้ Sankey plots

นอกจากนี้เรายังได้ใช้ lattices (เป็นเทคโนโลยีในเรื่อง knowledge representation และปัญญาประดิษฐ์) ในการแสดงข้อมูลด้วย โปรแกรม lattices สำหรับ exploratory data-science และปัญญาประดิษฐ์ (artificial intelligence) มีการใช้กันน้อยกว่าเทคนิควิธีการอื่น ๆ แต่ความสามารถให้ข้อมูลเชิงลึก (insight) ที่แตกต่างออกไปและวิธีทางสำหรับการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ³⁹ บทนำ (introduction) สู โปรแกรม lattices ในด้านข้อมูลเชิงค้นคว้าสำรวจ (exploratory data) – วิทยาศาสตร์ มีมาให้ร่วมกับเทคนิคอื่น ๆ ⁴⁰ ชุดซอฟต์แวร์ “conexp” (สามารถดาวน์โหลดได้จาก conexp.sourceforge.net โดยไม่มีค่าใช้จ่าย) ถูกใช้ในการเตรียม lattices ในเอกสารผลงานการศึกษานี้ ข้อมูลของกลุ่มอาสาสมัครจำนวน 845 คนได้รับการรวมย่อเป็น single matrix ซึ่ง mapping โรคร่วมกับอาการในการ

เตรียมการสำหรับการ draw lattices ข้อมูลที่ใส่เข้าไป (input) เป็นไฟล์ชนิด comma-separated values (CSV) ซึ่งบรรจุข้อมูลของผู้ป่วยหนึ่งคนในแต่ละแถว (row) และมี entries คือ 0 หรือ 1 (“ไม่มี” หรือ “มี”) ในคอลัมน์ ซึ่งข้อมูลในส่วนของโรคร่วม (comorbidities) และอาการ (symptoms) ปรากฏในคอลัมน์แยกกันต่างหาก อันดับแรกความชุกเป็นร้อยละ (percentage prevalence) สำหรับแต่ละอาการได้รับการคำนวณโดยการ traversing แถวต่าง ๆ ทั้งหมด ซึ่งในภายหลังจะถูกใช้เป็น threshold vector ต่อจากนั้นสำหรับโรคร่วมแต่ละโรคความชุกเป็นร้อยละ (percentage prevalence) ที่บ่งบอกถึงโรคร่วม (comorbidity-implied) ก็ได้รับการคำนวณสำหรับแต่ละอาการ ซึ่งทำให้ได้เมตริกซ์ของโรคร่วม (แถว) กับอาการ (คอลัมน์) รวมทั้ง percentage entries และสุดท้ายเพื่อที่จะ draw visualised lattices ซึ่งมี entries เป็น 0 และ 1 ได้อย่างง่าย ๆ เมตริกซ์สุดท้ายนี้ได้รับการ normalised โดยอิงตาม threshold vector ที่คำนวณเริ่มแรก

[การเก็บตัวอย่างเลือดจากกลุ่มผู้ป่วยจำนวน 70 คน](#)

มีการเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยจำนวน 70 คน (33 คนเป็นเพศหญิง และ 37 คนเป็นเพศชาย) (ค่าเฉลี่ยอายุ/ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 51 ± 17) การเจาะเลือด ดำเนินการโดยนักเทคนิคการแพทย์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมหรือโดยแพทย์ตามโปรโตคอลปลอดเชื้อมาตรฐาน โดยใช้หลอดเก็บตัวอย่างชนิด BD Vacutainer®, 369714 ในการเก็บตัวอย่างเลือด (citrated blood) ตัวอย่างเลือดครบส่วนที่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (WB) ถูกปั่นแยก (centrifuged) ที่ 3000xg เป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิห้อง และตัวอย่าง platelet poor plasma (PPP) ของส่วนที่เป็น supernatant ได้รับการจัดเก็บในหลอด 1.5mL Eppendorf tubes ที่อุณหภูมิ - 80°C จนกระทั่งถึงขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่างฮีมาโตคริต (Haematocrit samples) ได้รับการตรวจวิเคราะห์ในวันเดียวกันกับที่เก็บตัวอย่าง

[การตรวจวินิจฉัยภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว \(long Covid\) /](#)

[ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 \(PASC\)](#)

ผู้ป่วยได้ให้ความยินยอมในการศึกษาตัวอย่างเลือด หลังจากมีการตรวจทางคลินิกและ/หรือหลังจากลงทะเบียนในฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้ อาการต่าง ๆ ต้องเป็นอาการใหม่และอาการที่คงอยู่ต่อเนื่องได้รับการสังเกตหลังจากป่วยเป็นโควิด 19 เฉียบพลัน การตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยเบื้องต้นเป็นผลลัพธ์สุดท้าย (end result) ของการยกเว้น (exclusions) เฉพาะเมื่อหลังจากพิจารณาวิธีวิทยาอื่น ๆ ทั้งหมดได้รับการยกเว้น ซึ่งสิ่งนี้ทำโดยการสอบประวัติของอาการต่าง ๆ ที่มีก่อนหน้านี้ (ก่อนและหลังการติดเชื้อโควิด 19 เฉียบพลัน) การตรวจทางคลินิกและการสอบสวนอาการ (investigations) ซึ่งรวมทั้งความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (full blood counts) ระดับของ N-terminal pro b-type natriuretic peptide (NTproBNP) (ถ้าหากระดับเพิ่มสูงขึ้นอาจจะหมายถึงเกิดการเสียหายของหัวใจ) ฮอร์โมนที่ไปกระตุ้นไทรอยด์ (TSH) ระดับของ C-reactive protein อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ aspartate transaminase และ alanine transaminase (AST/ALT ratio) ตลอดจนการตรวจ electrocardiogram (ECG) +/- stress testing ถ้าหากว่าผลการตรวจที่กล่าวมานี้อยู่ในช่วงค่าปกติ อาการที่คงอยู่ต่อเนื่องที่สามารถจะอธิบายได้ว่าเป็นอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ก็จะได้รับประเมิน ซึ่งรวมถึงอาการหายใจลำบาก หายใจไม่อิ่ม (shortness of breath) เจ็บหน้าอกเรื้อรัง (recurring chest pain) ระดับของออกซิเจนต่ำ (lingering low oxygen levels) อัตราการเต้นของหัวใจผิดปกติ (ใจสั่นจากหัวใจเต้นผิดจังหวะ) อ่อนเพลียไม่มีแรงอยู่เสมอ ๆ (มากกว่าปกติ) ปวดข้อต่อและปวดกล้ามเนื้อ ภาวะสมองล้า ไม่มีสมาธิ หลงลืม มีปัญหาใน

การนอนหลับ รวมทั้งปัญหาของระบบย่อยอาหารและไต อาการเหล่านี้ควรจะต้องมีอยู่ต่อเนื่อง และเป็นอาการใหม่ที่ไม่เคยมีมาก่อนหน้าการติดเชื้อโควิด 19 เจ็บปวด และคงอยู่ต่อเนื่องอย่างน้อย 2 เดือนหลังจากที่ฟื้นตัวจากการติดเชื้อโควิด 19 เจ็บปวด

การรักษาผู้ป่วยกลุ่มย่อย

เราได้ศึกษาตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจากกลุ่มย่อย (subgroup) ของผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเจ็บปวดของโควิด 19 (PASC) จำนวน 24 คนก่อนหน้าการรักษาและภายหลังการรักษา การประเมินทางคลินิกได้บ่งชี้ว่าผู้ป่วยเหล่านี้มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเจ็บปวดของโควิด 19 (PASC) (ตามที่ได้อธิบายไว้ข้างบน) ซึ่งอาจจะมีพยาธิวิทยาของภาวะการแข็งตัวของเลือดและของเกร็ดเลือดด้วย และเนื่องจากอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเจ็บปวดของโควิด 19 (PASC) เหล่านี้มีความหลากหลายเป็นอย่างมาก จึงจำเป็นต้องมีการตรวจทางคลินิกและสอบประวัติอย่างละเอียด รวมทั้งเสริมด้วยการตรวจตัวอย่างเลือดเฉพาะทางที่เหมาะสม ทั้งนี้จะต้องใช้ความระมัดระวังในการตัดสินใจเกี่ยวกับวิธีการที่คุ้มค่ามากที่สุดในการตรวจเหล่านี้ เนื่องจากส่วนใหญ่แล้วแทบจะปกติอยู่เสมอในผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเจ็บปวดของโควิด 19 (PASC) เรื่องนี้อาจจะทำให้เกิดเจตคติผิด ๆ ว่าผู้ป่วยไม่ได้มีโรคของอวัยวะใด ๆ อยู่ เราได้ทำการตรวจวิเคราะห์เกล็ดเลือดและลิ้มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจเหล่านี้ “แนวทาง/วิธีการปฏิบัติทางคลินิกที่ดีที่สุด” ได้รับการปฏิบัติตามและพยาธิวิทยาของการแข็งตัวของเลือดที่มากผิดปกติ (hypercoagulation pathologies) ได้รับการรักษาโดยใช้ยาต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulation medication) ผู้ป่วยได้รับการแจ้งให้ทราบว่าวิธีนี้ยังไม่ได้เป็นวิธีมาตรฐานในการรักษาภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเจ็บปวดของโควิด 19 (PASC) ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยได้รับการตรวจวิเคราะห์ทั้งก่อนและหลังการรักษา และมีการใช้วิธีการของการทดสอบประสิทธิภาพของการแข็งตัวของเลือด (TEG®) เพื่อช่วยในการระบุสถานะของการแข็งตัวของเลือดของผู้ป่วย เพื่อให้แน่ใจว่าไม่ได้กำลังกระตุ้นให้เกิดภาวะการแข็งตัวของเลือดที่ต่ำผิดปกติ (hypocoagulation) หรือความเป็นไปได้ของการมีเลือดออก (bleeding)²⁶

⁴¹ ทั้งนี้ที่การตรวจวินิจฉัยภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเจ็บปวดของโควิด 19 (PASC) ได้รับการยืนยัน และลิ้มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กรวมทั้งพยาธิวิทยาของเกร็ดเลือดถูกสังเกตพบโดยการใช้ fluorescence microscopy (ดูข้างล่าง) แล้ว ผู้ป่วยก็ได้รับการรักษาโดยการให้ยาต้านเกร็ดเลือดร่วมกัน (DAPT) เป็นเวลา 1 เดือน คือได้รับยา Clopidogrel 75mg/Aspirin 75mg วันละ 1 ครั้งก่อนอาหารเช้า และยาต้านการแข็งตัวของเลือดชนิดรับประทานที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ factor ที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือดโดยตรง (DOAC) คือยา Apixiban 5 mg วันละ 2 ครั้ง (ขนาดยาในการรักษา) ยายับยั้งการหลั่งกรด (PPI) เช่นยา pantoprazole 40 mg ต่อวันซึ่งกินก่อนมื้ออาหารมื้อหลักครึ่งชั่วโมงได้รับการเสริมเข้าไป เพื่อป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (gastric protection) หนึ่งเดือนหลังจากนั้นก็มีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดซ้ำอีกครั้งหนึ่ง พร้อมด้วยการทำ symptomatology ซึ่งจะบ่งบอกว่าจำเป็นต้องมีการรักษาเพิ่มเติมต่อไปอีกหรือไม่ ผู้ป่วยเสร็จสิ้นรายการตรวจสอบ (checklist) ของอาการต่าง ๆ ก่อนและหลังวิธีการรักษา ในระยะยาวแล้วไม่จำเป็นต้องใช้ยาต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulation) (นอกเสียจากว่ามีข้อบ่งชี้ทางเลือกที่เป็นมูลเหตุสำคัญ) ทั้งนี้ที่การกระตุ้นของเกร็ดเลือดและการก่อตัวของลิ้มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กกลับคืนสู่ภาวะปกติ ซึ่งบ่งชี้ถึงการฟื้นตัวของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือด การต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulation) ก็ยุติลง ต่อจากนั้นร่างกายก็สามารถกลับคืนสู่การจัดการการแข็งตัวของ

เลือด/สรีรวิทยาที่เป็นปกติ

พยาธิวิทยาของเกร็ดเลือด

ตัวอย่างฮีมาโตคริต (Haematocrit samples) ของผู้ป่วยทั้งหมดในกลุ่มทั้ง 70 คนได้รับการ **exposed** กับ fluorescent markers 2 ตัว คือ CD62P (PE-conjugated) (platelet surface P-selectin) (IM1759U, Beckman Coulter, Brea, CA, USA) และ PAC-1 (FITC-conjugated) (340507, BD Biosciences, San Jose, CA, USA) CD62P เป็น marker สำหรับ P-selectin ซึ่งอยู่บน membrane ของเกร็ดเลือดหรือพบอยู่ภายในเกร็ดเลือด^{13,42} PAC-1 ระบุบ่งชี้เกร็ดเลือดโดยผ่านการ marking ไกลโคโปรตีน IIb/IIIa (gplIb/IIIa) บน membrane ของเกร็ดเลือด เพื่อที่จะศึกษาพยาธิวิทยาของเกร็ดเลือด 4µL CD62P และ 4µL PAC-1 ถูกใส่ลงไปใน 20µL haematocrit ตามด้วยการ incubation เป็นเวลา 30 นาที (ป้องกันไม่ให้โดนแสง) ที่อุณหภูมิห้อง ช่วงความยาวคลื่นสำหรับการกระตุ้น (excitation wavelength band) สำหรับ PAC-1 ถูกตั้งไว้ที่ 450 nm – 488 nm และช่วงความยาวคลื่นสำหรับการเปล่งแสง (emission) ถูกตั้งไว้ที่ 499 nm - 529 nm และสำหรับ CD62P marker ช่วงความยาวคลื่นสำหรับการกระตุ้น (excitation wavelength band) ถูกตั้งไว้ที่ 540 nm – 570 nm และช่วงความยาวคลื่นสำหรับการเปล่งแสง (emission) ถูกตั้งไว้ที่ 577 nm – 607 nm ตัวอย่างถูกมองผ่านกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ชนิด Zeiss Axio Observer 7 fluorescent microscope ซึ่งมีเลนส์วัตถุชนิด Plan-Apochromat 63x/1.4 Oil DIC M27 objective (Carl Zeiss Microscopy, Munich, Germany)

Platelet poor plasma (PPP) และการตรวจหาโปรตีนใน amyloid (fibrinogen) และการเกิดลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กที่ผิดปกติ

การก่อตัวของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclot formation) ในตัวอย่าง platelet poor plasma (PPP) จากผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ทั้งหมดทั้ง 70 คนที่ได้รับการรักษา (treatment-naïve) และจากผู้ป่วยกลุ่มย่อยที่ได้รับการรักษา (treatment sub-group) จำนวน 24 คน หลังจากการรักษาได้รับการตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่าง platelet poor plasma (PPP) ได้รับการ exposed กับ fluorescent amyloid dye คือ Thioflavin T (ThT) (ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0,005 mM) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) เป็นเวลา 30 นาที (ป้องกันไม่ให้โดนแสง) ที่อุณหภูมิห้อง^{18,19,20,21} หลังจากการ incubation แล้วตัวอย่าง platelet poor plasma (PPP) ปริมาณ 3µL ถูกวางบน glass slide และปิดด้วย coverslip ช่วงความยาวคลื่นสำหรับการกระตุ้น (excitation wavelength band) สำหรับ ThT ถูกตั้งไว้ที่ 450 nm – 488 nm และช่วงความยาวคลื่นสำหรับการเปล่งแสง (emission) ถูกตั้งไว้ที่ 499 nm - 529 nm และตัวอย่างที่ได้รับการ processed แล้วนี้ถูกมองผ่านกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ชนิด Zeiss Axio Observer 7 fluorescent microscope ซึ่งมีเลนส์วัตถุชนิด Plan-Apochromat 63x/1.4 Oil DIC M27 objective (Carl Zeiss Microscopy, Munich, Germany)^{12,13,23}

การตรวจวิเคราะห์ทางพันธุศาสตร์

การทดสอบทางพันธุศาสตร์ที่ได้รับการสนับสนุนจากพยาธิวิทยา (pathology-supported genetic testing) ตามที่ได้รับการสร้างกรอบความคิด (conceptualized) มาก่อนหน้านี้สำหรับการหาจีโนไทป์ของ apolipoprotein (APOE)²⁷ ถูกใช้ในการประเมินวิถีของโรคไม่ติดต่อที่เกี่ยวข้องทางคลินิก (clinically relevant non-communicable disease pathways) ที่ตรงกัน (coincident) กับโรคจากไวรัส SARS-CoV-2 และ genomic DNA ถูกสกัด (extracted) จากตัวอย่างเลือดครบส่วน (whole blood) ที่ได้รับยาต้านการแข็งตัวของเลือด (anti-coagulated) โดยการใช้ชุดตรวจ OmegaBio-Tek E.Z.N.A® Blood DNA Mini Kit (Spin Protocol) การหาจีโนไทป์ของ functional single nucleotide polymorphisms (SNPs) ทั้งสองชนิดในยีน MTHFR (rs1801133, 677C>T และ rs1801131, 1298A>C) ดำเนินการโดยใช้วิธี high throughput real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) บนเครื่อง Roche LightCycler® 480II instrument โดยใช้ TaqMan® SNP Genotyping Assays (ThermoFisher Scientific) ความถูกต้องแม่นยำ (accuracy) ของการหาจีโนไทป์ที่มีปริมาณงานสูง (high throughput genotyping) ได้รับการตรวจสอบความถูกต้องกับการหา DNA sequencing โดยตรงในฐานะที่เป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard)³³ สำหรับวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยนี้ผลที่ได้จากการหาจีโนไทป์ของยีน MTHFR ของผู้ป่วยจำนวน 9 คน ที่มีจีโนไทป์ APOE 2/3/4 ที่เป็นที่ยอมรับแล้ว ได้รับการแปลผลตามเมตริกซ์ที่แสดงในตารางที่ 1⁴³ ซึ่งรวมเอาการประเมินที่อิงแบบสอบถามตามที่ได้อธิบายมาแล้วก่อนหน้านี้³³

ตารางที่ 1: เมตริกซ์สำหรับการบูรณาการข้อมูล (data integration) และการสร้างรายงานชนิดกึ่งอัตโนมัติ (semi-automated report generation) โดยใช้การทดสอบทางพันธุศาสตร์ที่ได้รับการสนับสนุนจากพยาธิวิทยา (pathology-supported genetic testing) ของการวิเคราะห์วิถีการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (Long Covid).

การวิเคราะห์วิถีโรค (Disease pathway analysis)	ประวัติทางการแพทย์ของครอบครัว (Family medical history) และความอ่อนแอทางพันธุกรรม (genetic susceptibility)	ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (Environmental factors) และปฏิกิริยาการตอบสนองต่อการรักษา (treatment response)
<p>โพรไฟล์ความเสี่ยงทางคลินิก (Clinical risk profile)</p> <ul style="list-style-type: none"> ภาวะลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดดำส่วนลึก (DVT) โรคลิ่มเลือดอุดตันในปอด (pulmonary embolism) ภาวะแท้งซ้ำซาก (recurrent pregnancy loss) 	<p>การตรวจคัดกรอง DNA สำหรับความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) ในยีน <i>MTHFR</i> เพื่อระบุความเสี่ยงทางคลินิก (clinical relevance) ซึ่งอิงตามสถานะทางการแพทย์ (medical conditions) ของตัวผู้ป่วยและครอบครัวที่ได้รับการบันทึกไว้</p>	<p>การประเมินผลที่อิงตามแบบสอบถาม (questionnaire-based assessment) ของสถานะของโฟเลตในอาหารและปัจจัยอื่น ๆ ทางด้านรูปแบบการใช้ชีวิตที่เป็นที่รู้กันว่ามิปฏิสัมพันธ์ (interact) กับ genetic variants ที่ถูกเลือกสำหรับการศึกษาวิจัยนี้</p>
<p>ผลการตรวจทางชีวเคมี (Biochemical test results)*</p> <ul style="list-style-type: none"> โพรไฟล์ของลิปิด (lipid profile) โฮโมซิสทีน (homocysteine)* วิตามิน บี12* 	<p>การประเมินดัชนีชี้วัดทางพยาธิวิทยา (pathological indicators) ที่อาจจะสะท้อนถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนกับสิ่งแวดล้อม (gene-environment interactions) ในฐานะที่เป็น biological intermediates</p>	<p>การติดตามเฝ้าสังเกตพยาธิวิทยาที่เกี่ยวข้อง/ผลการตรวจทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการตอบสนองต่อการรักษา (treatment response) และโพรไฟล์ของผลข้างเคียง (side-effect) ที่มีความเป็นไปได้</p>

* มีเฉพาะในผู้ป่วยเพียงหนึ่งรายเท่านั้น

ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัย (RESULTS)

ฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้

ในภาพประกอบที่ 2 – 6 การกระจายของข้อมูลของอาสาสมัคร (จำนวน 845 คน) จากฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้ได้รับการวิเคราะห์ตามเพศ โรคร่วม กลุ่มอายุ อาการเริ่มต้นของโรคโควิด 19 และอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) โดยใช้ Sankey plots ต่อจากนั้นข้อมูลของผู้ป่วยคนเดียวกับโรคร่วมและกับอาการที่ผู้ป่วยผู้นั้นมีก็ได้รับการ manipulated เพื่อสร้าง mapping ระหว่างโรคร่วม (comorbidities) กับอาการ (symptoms) ซึ่งแสดงเป็นเมตริกซ์โดยที่โรคร่วมเป็นแถว (rows) และอาการเป็นคอลัมน์ (columns) สิ่งนี้ถูกใช้ในการสร้าง lattice ซึ่งให้ข้อมูลเชิงลึก (insight) เกี่ยวกับการมีส่วนร่วมเกี่ยวข้อง (implications) (simple binary implications สำหรับ visualisation) จาก โรคร่วม (comorbidities) ไปสู่ออาการ (symptoms) lattices ที่สอดคล้อง (corresponding) กับองค์ประกอบ (components) ต่าง ๆ กันที่เน้นให้ความสำคัญหรือความสนใจเป็นพิเศษ (highlighted) มีความสอดคล้อง (correspond) กับโรคร่วมที่มีความโดดเด่นมากที่สุดซึ่งปรากฏออกมาจาก Sankey diagrams ได้แก่ ความดันโลหิตสูง ไชมันในเลือดสูง เบาหวานชนิดที่ 2 โรคแพ้ภูมิตนเอง และภาวะการแข็งตัวของเลือดมาก่อน ในภาพประกอบต่อไปนี้ (ภาพประกอบที่ 2 – 6) เราพูดถึงการมีส่วนร่วมเกี่ยวข้อง (implications) อีกครั้งหนึ่งโดยมีรายละเอียดมากขึ้น

ภาพประกอบที่ 2 เป็นการให้ภาพรวมทั่วไปของฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้ ประมาณ 10% (หรือจำนวน 87 คน) ของผู้ป่วยไม่ได้รับการตรวจไวรัส SARS-CoV2 ในเบื้องต้นโดยการตรวจวิธี PCR ในขณะที่ใน 90% (หรือจำนวน 758 คน) ของผู้ป่วยมีการรายงานผลการตรวจโควิด 19 เป็นบวก นอกจากนี้ผู้ป่วยก็ยังได้รับการจัดแบ่งออกเป็นกลุ่มตามเพศ ดังนี้ 70% และ 30% (หรือจำนวน 593 คน และ 252 คน) ของกลุ่มผู้ป่วยได้รับการระบุว่าเป็นเพศหญิงและเพศชายตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลจากการสังเกตทั่วไป 44, 45 ผู้ป่วยส่วนใหญ่ (76%) มีอายุอยู่ในช่วงระหว่าง 31 - 40 ปี ระหว่าง 41- 50 ปี และระหว่าง 51 – 60 ปี เราสังเกตพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่มีโรคร่วม (comorbidities) เช่น ความดันโลหิตสูง ไชมันในเลือดสูง เบาหวานชนิดที่ 2 โรคแพ้ภูมิตนเอง และภาวะการแข็งตัวของเลือดมาก่อน

ภาพประกอบที่ 3 แสดงถึงการกระจายตามเพศ (gender distribution) ของผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ในรายละเอียดมากขึ้น โดยมีแนวโน้มคล้ายคลึงกับภาพประกอบที่ 2 อาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ที่สังเกตพบได้บ่อยได้แก่ อาการเหนื่อยล้า อ่อนเพลียไม่มีแรงอยู่เป็นประจำ ภาวะสมองล้า สูญเสียสมาธิและหลงลืม หายใจไม่อิ่ม ตลอดจนปวดตามข้อและปวดกล้ามเนื้อ ที่น่าสนใจก็คือว่าอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) อย่างเช่น ปัญหาเกี่ยวกับไต ปัญหาเกี่ยวกับระบบการย่อยอาหาร และระดับของออกซิเจนต่ำ ๆ ได้รับการรายงานน้อยโดยผู้ป่วย ภาพประกอบที่ 4 แสดงอายุกับการกระจายของอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของผู้ป่วย เราสังเกตพบว่าผู้ป่วยส่วนมากมีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 31 – 40 ปี 41 – 50 ปี และ 51 – 60 ปี

ภาพประกอบที่ 5 แสดง Sankey plot ซึ่งแสดงการกระจายของประชากรโรคร่วม (comorbidities) ของผู้ป่วย

เปรียบเทียบกับอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ในขณะที่ภาพประกอบที่ 6A และ 6B แสดงถึง lattice plots ที่เป็นตัวแทนของภาวะความดันโลหิตสูง และระดับไขมันในเลือดสูง ซึ่งยืนยันในรายละเอียดถึงความสัมพันธ์ที่แสดงไว้แล้วในภาพประกอบที่ 4 และภาพประกอบที่ 7 ยกตัวอย่างเช่น เมื่ออ่านขึ้นในภาพประกอบที่ 8A node “ความดันโลหิตสูง” เชื่อมต่อขึ้นไปข้างบนผ่าน network ที่เน้นย้ำให้มีความสำคัญหรือความสนใจเป็นพิเศษ (highlighted) ไปยังอาการต่าง ๆ กันจาก “ปัญหาเกี่ยวกับระบบการย่อยอาหาร” (ด้านซ้ายมือ) ไปจนถึง “หายใจไม่ออก” ทางด้านขวามือ ความซับซ้อน/ความหนาแน่นของ network สืบเนื่องจากที่เน้นย้ำให้มีความสำคัญหรือความสนใจเป็นพิเศษ (highlighted) แสดงถึงความชุก (prevalence) ของโรคร่วม (comorbidity) ในบรรดาผู้ป่วย ตลอดจนการมีส่วนเกี่ยวข้อง (implications) ของอาการต่าง ๆ กัน

การตรวจวิเคราะห์เลือด

เราตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำนวน 70 คน (ค่าเฉลี่ยอายุ [มัธยฐาน]/ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 51 ปี ± 17) (เพศหญิงจำนวน 33 คนและเพศชายจำนวน 37 คน) การตรวจวิเคราะห์ลิ้มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กและเกร็ดเลือดแสดงถึงการมีอยู่ของลิ้มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclots) และพยาธิวิทยาของเกร็ดเลือด (platelet pathologies) ในผู้ป่วยทั้งหมดทั้ง 70 คน เราใช้ระบบการแบ่งระดับ (grading system) ของเกร็ดเลือดในการระบุถึงพยาธิวิทยาของเกร็ดเลือด ซึ่งเราได้พัฒนาขึ้นมาและอธิบายมาแล้วก่อนหน้านี้²⁶ ดูในภาพประกอบที่ 7 และ 8 และในตารางที่ 2

ตารางที่ 2: เกณฑ์การกระตุ้นเกร็ดเลือด (platelet activation criteria) ที่แสดงถึงระดับของการแพร่กระจาย รวมทั้งการจับเป็นก้อน (clumping) ในตัวอย่างซีมาโตคริต. (ได้มาโดยได้รับอนุญาต).

คะแนน (Score)	การแพร่กระจาย (Spreading)	คะแนน (Score)	การจับเป็นก้อน (clumping)
1	Activation with pseudopodia	1	None
2	Mild	2	Mild
3	Moderate	3	Moderate
4	Severe	4	Severe

เราได้ใช้ระบบการแบ่งระดับ (grading system) ของการแข็งตัวของเลือด ซึ่งเราได้พัฒนาขึ้นมาและตีพิมพ์เผยแพร่มาแล้วก่อนหน้านี้²⁶ ดูในภาพประกอบที่ 9 และในตารางที่ 3 ทั้งคะแนน (scoring) ของพยาธิวิทยาของเกร็ดเลือด (platelet pathology) และคะแนนของลิ้มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กใน platelet poor plasma ถูกรวมเข้าด้วยกันเป็นคะแนนสุดท้าย (final score) ในการวัดความรุนแรงของโรค (ตารางที่ 4).

ตารางที่ 3: เกณฑ์ลิ่มเลือดขนาดเล็ก (microclot criteria) ในการวัดปริมาณของลิ่มเลือดขนาดเล็กในตัวอย่าง platelet poor plasma. (ได้มาโดยได้รับอนุญาต).

คะแนน (Score)	เกณฑ์การวิเคราะห์ (analysis criteria)
1	บริเวณที่มี plasma protein misfolding ($\leq 1\mu\text{m}$) มีอยู่จำนวนน้อยมาก มองเห็นเป็นลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กขนาด $\leq 10\mu\text{m}$ จำนวนเล็กน้อย
2	บริเวณที่มี plasma protein misfolding ($\leq 1\mu\text{m}$) มีอยู่จำนวนน้อยมาก มองเห็นเป็นลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กขนาด $\leq 10\mu\text{m}$ กระจายตัวเป็นหย่อม ๆ ปริมาณเล็กน้อย
3	บริเวณที่มี plasma protein misfolding มีอยู่ปานกลาง มองเห็นเป็นลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กขนาด $\geq 15\mu\text{m}$
4	บริเวณที่มี plasma protein misfolding มีความรุนแรง มองเห็นเป็นลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กขนาดใหญ่

ตารางที่ 4: ผลคะแนนที่ได้จากการกระตุ้นของลิ่มเลือดขนาดเล็กและเกร็ดเลือด โดยรวม.

ผลคะแนนที่ได้ (Scoring results)			
Control / Healthy	Mild	Moderate	Severe
=3	4-7	8-10	11-12

ภาพประกอบที่ 10 แสดงให้เห็นถึงตัวอย่างของการกระตุ้นเกร็ดเลือด (platelet activation) และการมีอยู่ของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กจากอะไมลอยด์ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนเส้นใย (fibrin amyloid microclots) ในผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำนวน 2 คน ภาพประกอบที่ 10A ถึง 10C แสดงถึง micrographs ที่เป็นตัวแทนของผู้ป่วยที่ประสบกับภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) เป็นเวลา 11 เดือน ในขณะที่ภาพประกอบ 10C แสดง tile scan ของเศษซากของเซลล์ (cellular debris) ที่มีอยู่ในฮีมาโตคริต ภาพประกอบ 10D และ 10E แสดงถึงลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กและเกร็ดเลือดที่เป็นตัวแทนในกรณีนี้ที่ผู้ป่วยมีการใช้แค่เพียงยาแอสไพรินอย่างเดียวเท่านั้นก่อนหน้าการเก็บตัวอย่าง และอย่างที่เรารู้ได้ชัดว่าเรายังคงพบเห็นการก่อตัวของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กที่มีนัยสำคัญ แต่ที่ไม่มีมีการกระตุ้นเกร็ดเลือดอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้เรายังได้ติดตามประชากรผู้ป่วยกลุ่มย่อยจำนวน 24 คนผ่านทางกรให้ยาต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulation regime) และผู้ป่วยจำนวน 9 คนก็ยังได้รับการตรวจคัดกรองสำหรับ *MTHFR* rs1801133 (677C>T) และ rs1801131 (1298A>C) SNPs ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลทางด้านประชากรของผู้ป่วยและภาวะของโรคของประชากรผู้ป่วยกลุ่มย่อยจำนวน 24 คนนี้ ตารางที่ 6 แสดงการหาจีโนไทป์ของยีน *MTHFR* สำหรับผู้ป่วย 9 คนนั้น ภาวะไขมันในเลือดสูงและความดันโลหิตสูงอยู่ในบรรดาโรคร่วมหลัก ๆ (main co-morbidities) ซึ่งสังเกตพบใน 25% และ 33% ของผู้ป่วยเหล่านี้ตามลำดับ อย่างไรก็ตามโดยรวมแล้วผู้ป่วยกลุ่มนี้เป็นผู้ที่มีสุขภาพที่ดีกว่าก่อนหน้านี้ที่จะได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคโควิด 19 เฉียบพลัน อาการของผู้ป่วยเหล่านี้ในระหว่างที่ป่วยด้วยโรคโควิด 19 เฉียบพลัน มีความแตกต่างกันตั้งแต่มีอาการเล็กน้อย (33.3%) อาการปานกลาง (33.3%) จนถึงอาการรุนแรง (33.3%) และ 33% ได้รับการเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาล แต่ไม่มีรายใดที่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจ

อาการหายใจไม่อึด (70.8%) อาการเหนื่อยล้า อ่อนเพลียไม่มีแรงอยู่เป็นประจำ (87.5%) และภาวะสมองล้า สูญเสียสมาธิ และหลงลืม (83.3%) เป็นอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) อาการหลัก ๆ ที่มีการรายงาน หลังจากการรักษาแล้วผู้ป่วย 1 คนในทุก ๆ 24 คน รายงานว่าอาการหลัก ๆ ของเขาได้รับการแก้ไข และภาวะอาการเหนื่อยล้า อ่อนเพลียไม่มีแรงในฐานะที่เป็นอาการหลัก

ได้รับการบรรเทา เกล็ดเลือดของผู้ป่วยเหล่านี้ก็ได้รับการทำให้สงบ (calmed) และคะแนนของการเกิดลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclotting scores) ก็อยู่ในระดับปกติ (ดูการแข็งตัวของเลือดและระบบการแบ่งระดับ (grading system))

จากการใช้วิธี **mapping** เกล็ดเลือดและเกณฑ์พลาสมา (plasma criteria)²⁶ ผู้ป่วยมีการแสดงการแพร่กระจายของเกล็ดเลือดปานกลาง (moderate platelet spreading) และการจับเป็นก้อนของเกล็ดเลือดเล็กน้อย (mild platelet clumping) (ดูครีชีว) ก่อนหน้ามีการรักษา (ภาพประกอบที่ 11 A, C, E, G, I) โดยมีการลดลงของปฏิกิริยาอาการของเกล็ดเลือดภายหลังการรักษาและมีการแพร่กระจายของเกล็ดเลือดเล็กน้อยรวมทั้งไม่มีการจับเป็นก้อนของเกล็ดเลือด (ภาพประกอบที่ 11 B, D, F, H, J) ในตัวอย่างพลาสมาสามารถเห็นความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังการรักษา โดยที่มีลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กในพลาสมาระดับปานกลาง (ดูครีชีว) ในผู้ป่วยก่อนหน้าการรักษา (ภาพประกอบที่ 12 A, C, E, G, I) และมีลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กจำนวนเล็กน้อยอยู่ในพลาสมาภายหลังจากการรักษา (ภาพประกอบ 12 B, D, F, H, J) การกระตุ้นเกล็ดเลือดที่มากเกินไปซึ่งใกล้เคียงกันและการแข็งตัวของพลาสมาถูกพบเห็นในผู้ป่วยโควิด 19 เฉียบพลันและในผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ในการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ในตัวอย่างของผู้ที่เป็น naïve COVID-19 และในตัวอย่างของผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC)^{12,13}

ตารางที่ 5: ข้อมูลทางด้านประชากรของผู้ป่วยและภาวะโรคของผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำนวน 24 คนก่อนและหลังการรักษา.

ข้อมูลทางด้านประชากรของผู้ป่วยกลุ่มย่อยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำนวน 24 คน				
อายุ	51±15.5			
เพศ	เพศหญิง	12	เพศชาย	12
โรคร่วม (Comorbidities)				
โรคร่วม (Comorbidities)	Yes (%)		No (%)	
เบาหวานชนิดที่ 1	0%		100%	
เบาหวานชนิดที่ 2	4%		96%	
โรคหัวใจและหลอดเลือด	8%		92%	
ความดันโลหิตสูง	33%		67%	
ไขมันในเลือดสูง	41.7%		58.3%	
การแข็งตัวของเลือดก่อนหน้า	17%		83%	
โรคหลอดเลือดสมองก่อนหน้า	4%		96%	
ภาวะหัวใจวายเฉียบพลันก่อนหน้า	0%		100%	
โรคสะกดเงิน	8%		92%	
โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์	13%		88%	
โรค lupus	0%		100%	
โรคแพ้ภูมิตัวเองที่ไม่ได้อยู่ในรายการ	0%		100%	
โรคเหงือกอักเสบ และ/หรือโรคปริทันต์	0%		100%	
โรคผิวหนังอักเสบโรซาเซีย	0%		100%	
ข้อมูลโควิด 19 เฉียบพลันของกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ที่ได้รับการรักษาจำนวน 24 คน				
ความรุนแรงของโรคในระยะเฉียบพลัน	Light		Medium	Severe
ความรุนแรงของโควิด 19 เฉียบพลันหรืออาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid)	33.3%		33.3%	33.3%
การเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลระหว่างที่ป่วยเป็นโควิด 19 เฉียบพลัน	Yes (%)		No (%)	
ท่านได้เข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลหรือไม่ ?	33%		67%	
ท่านได้รับการให้ออกซิเจนหรือไม่ ?	33%		67%	
ท่านได้ใช้เครื่องช่วยหายใจหรือไม่ ?	0%		100%	
อาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (Long COVID Symptoms)				
คำถาม	Yes (%)		No (%)	
มีอาการหายใจไม่เต็มหรือไม่	70.8%		29.2%	
มีอาการเจ็บหน้าอกเกิดขึ้นซ้ำ ๆ หรือไม่	37.5%		62.5%	
มีออกซิเจนอยู่ในระดับต่ำ ๆ หรือไม่	54.2%		45.8%	
อัตราการเต้นของหัวใจผิดปกติ (ใจสั่นจากอาการหัวใจเต้นผิดจังหวะ) หรือไม่	41.7%		58.3%	
เหนื่อยง่าย อ่อนเพลียไม่มีแรงอยู่เสมอ ๆ (มากกว่าปกติ) หรือไม่	87.5%		12.5%	
ปวดตามข้อต่อและปวดกล้ามเนื้อหรือไม่	62.5%		37.5%	
ภาวะสมองล้า สูญเสียสมาธิและหลงลืมหรือไม่	83.3%		16.7%	
มีปัญหาในการนอนหลับ (มากกว่าก่อนหน้าที่จะป่วยด้วยโรคโควิด 19) หรือไม่	58.3%		41.7%	
มีอาการหดรู่ ซึมเศร้า วิตกกังวล (มากกว่าก่อนหน้าที่จะป่วยด้วยโรคโควิด 19) หรือไม่	29.2%		70.8%	
มีปัญหาเกี่ยวกับระบบการย่อยอาหารหรือไม่	16.7%		83.3%	
มีปัญหาเกี่ยวกับไตหรือไม่	8.3%		91.7%	
อาการหลัก ๆ ของท่านตามรายการข้างบนได้รับการแก้ไขคลี่คลายหรือไม่	100%		0%	
เทคนิค fluorescence microscopy				
การให้คะแนน	ก่อนการรักษา		หลังจากการรักษา	
คะแนนการกระตุ้นเกร็ดเลือดและการจับเป็นก้อน	4.4 ± 0.9		3.6 ± 1.2	
คะแนนการเกิดลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก	2.7 ± 0.8		1.7 ± 0.6	
คะแนนรวมสำหรับการเกล็ดเลือดและ micrographs ของพลาสมาที่อ้างอิงตามระบบการให้คะแนนเกร็ดเลือดและลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก	7.0 ± 1.3		5.2 ± 1.3	

ตารางที่ 6 แสดงลักษณะเฉพาะทางคลินิกและจีโนไทป์ของยีน *MTHFR* ของผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโค

โรค 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำนวน 9 คน ซึ่งในจำนวนนี้มีอยู่ 8 คน (89%) ที่มีผลการตรวจเป็นบวกสำหรับอัลลีลที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับความเสี่ยง (risk-associated allele) การจับคู่ของยีนพวกเดียวกันและเหมือนกัน (homozygosity) สำหรับ *MTHFR* 677 T-allele ที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับผลกระทบที่รุนแรงมากที่สุดต่อการทำงานของเอนไซม์ (enzyme function) ได้รับการตรวจพบในผู้ป่วยจำนวน 2 คนจากผู้ป่วย 3 คนที่มีภาวะความดันโลหิตสูง ซึ่งได้รับการรายงานในฐานะที่เป็นโรคร่วม (co-morbidity) ก่อนหน้าที่จะได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ได้รับโฟเลตในปริมาณที่ไม่เพียงพอ ซึ่งพิจารณาว่าอยู่ในระดับต่ำถ้าหากคะแนนน้อยกว่า 11 อยู่ในระดับปานกลางถ้าหากคะแนนอยู่ระหว่าง 11 ถึง 13 และระดับสูงถ้าหากคะแนนมากกว่า 13 (ดูในตารางที่ 6) ผลกระทบเชิงลบของคะแนนโฟเลตได้รับการประเมินตามค่าดัชนีมวลกาย (BMI) ในฐานะที่เป็นข้อบ่งชี้ (indication) ของภาวะน้ำหนักเกิน (>24.9 kg/m²) หรือภาวะโรคอ้วน (>30 kg/m²) การตรวจพบ APOE polymorphism (ข้อมูลไม่ได้แสดงไว้) และ/หรือดัชนีมวลกายที่สูงเป็นปัจจัยความเสี่ยงที่เป็นที่ทราบกันในการพัฒนาโรคไขมันในเลือดสูง (dyslipidaemia) ซึ่งตรวจพบเจออยู่บ่อย ๆ ในกลุ่มผู้ป่วยในการศึกษาวิจัยของเรา ประวัติสุขภาพของสมาชิกในครอบครัวเกี่ยวกับภาวะลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดดำส่วนลึก (DVTs) ได้รับการรายงานโดยผู้ป่วยทั้ง 2 คนที่มีภาวะนี้ ก่อนหน้าที่จะได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นผู้ที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ซึ่งสมควรที่จะต้องมีการตรวจทางพันธุกรรมเพิ่มเติม เพื่อที่จะยืนยันหรือตัดสาเหตุทางพันธุกรรมที่รุนแรงมากกว่าของภาวะที่เกิดลิ่มเลือดได้ง่ายกว่าปกติที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม (inherited thrombophilia) ออกไป

ตารางที่ 6: ลักษณะเฉพาะทางคลินิกและผลที่ได้จากการหาจีโนไทป์ของยีน *MTHFR* ของผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำนวน 9 คน. คะแนนโฟเลตควรได้รับการประเมินตามดัชนีมวลกาย ข้อมูลด้านอายุไม่ได้มีการเพิ่มเข้าไปเพื่อช่วยในการปกปิดข้อมูลส่วนตัว (de-identification): ช่วงอายุอยู่ระหว่าง 40 – 60 ปี.

เพศ	ดัชนีมวลกาย (kg.m ²)	ยีน <i>MTHFR</i>	คะแนนโฟเลต	โรคร่วม *
หญิง	23.7	สูง -14	1298 A>C (++)	ภาวะลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดดำส่วนลึก โรคไขมันในเลือดสูง
ชาย	27.1	ต่ำมาก -3	677 C>T (+-)	โรคไขมันในเลือดสูง
หญิง	19.7	ต่ำ -9	677 C>T (+-)	ไม่มีการรายงาน
ชาย	33.4	สูง -15	1298 A>C (++)	โรคไขมันในเลือดสูง
หญิง	24.7	ต่ำ -9	677 C>T (+-) 1298 A>C (++)	ไม่มีการรายงาน
หญิง	36.3	ต่ำ -8	677 C>T (++)	โรคไขมันในเลือดสูง โรคความดันโลหิตสูง
หญิง	34.9	ต่ำ -10	677 C>T (-)	ไม่มีการรายงาน
ชาย	28.1	ต่ำมาก -4	677 C>T (++)	ภาวะลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดดำส่วนลึก โรคความดันโลหิตสูง

*ก่อนหน้าได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของ

โควิด 19 (PASC) +- heterozygous และ ++ homozygous

การอภิปราย (DISCUSSION)

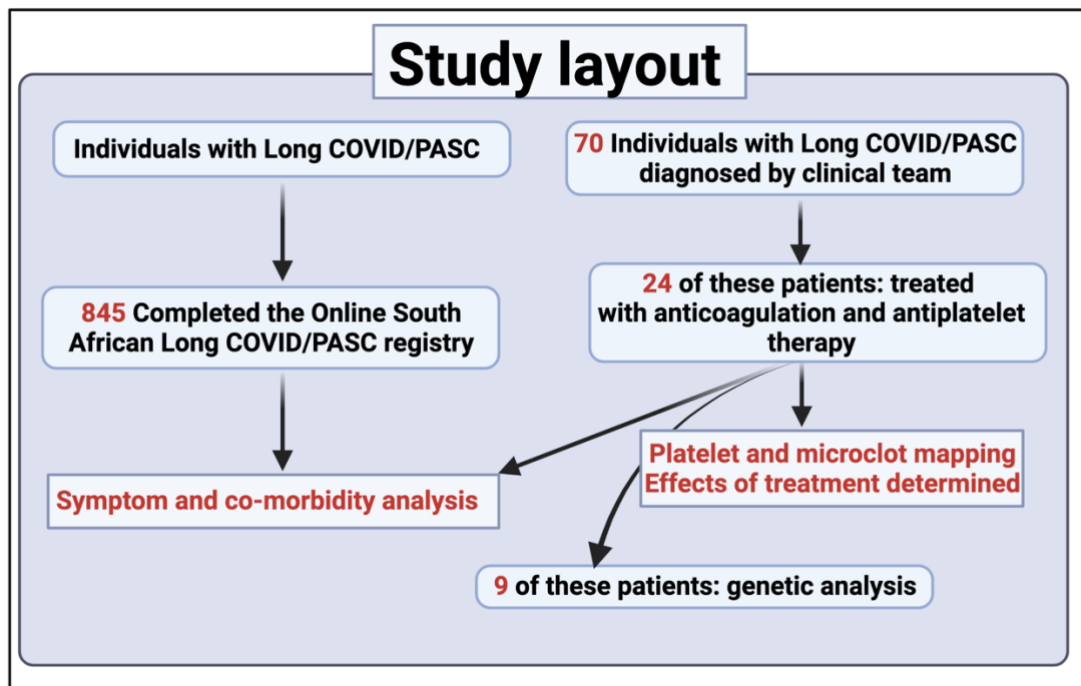
สรุปผลการศึกษาวิจัย (CONCLUSION)

ในการศึกษาวิจัยนี้เราได้สังเกตพบว่าผู้ป่วยแต่ละคนในจำนวน 70 คนที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) และได้รับการเก็บตัวอย่างเลือดมีการแสดงออกของการกระตุ้นของเกร็ดเลือดที่มากผิดปกติ (platelet hyperactivation) และการก่อตัวของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclot formation) เราได้ใช้การรักษาแบบ 3 ประสาน (triple therapy) เพื่อที่จะรักษาทั้งลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก (microclots) และการกระตุ้นของเกร็ดเลือดที่มากผิดปกติ (platelet hyperactivation) ในระหว่างการรักษาโดยวิธีการให้ยาซึ่งผู้ป่วยจำนวน 24 คนได้รับการติดตาม ชั้นเยื่อผนังหลอดเลือด (endothelium layers) มีการฟื้นตัวอย่างเพียงพอในช่วงระยะเวลา 3 – 4 สัปดาห์ และนี่ทำให้ระบบสรีรวิทยาของการแข็งตัวของเลือดและการทำงานของเยื่อผนังหลอดเลือดกลับคืนมาสู่ภาวะปกติ ในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับการรักษาลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กที่สำคัญๆ (significant microclots) ได้รับการกำจัดออกไปและการกระตุ้นของเกร็ดเลือดที่มากผิดปกติได้กลับคืนเข้าสู่ระดับปกติมากขึ้น ผู้ป่วยทั้งหมดในกลุ่มนี้มีการรายงานถึงการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของตน เราเสนอว่าควรใช้ระบบการแบ่งระดับ (grading system) สำหรับเกล็ดเลือดและการแข็งตัวของเลือดในฐานะที่เป็นวิธีการตรวจวินิจฉัยที่เรียบง่ายและคุ้มค่า (cost-effective) สำหรับการระบุผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ตั้งแต่เนิ่นๆ การตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) จำเป็นจะต้องมีวิธีการตรวจวินิจฉัยที่ไม่รวมเอา (excludes) พยาธิวิทยาอื่น ๆ เข้ามา รวมทั้งการใช้ช่วงระยะเวลาของอาการ (duration of symptoms) (มากกว่า 2 เดือนหลังจากการติดเชื้อเฉียบพลัน) ในกรณีที่มีความกังวลเรื่องแนวโน้มภาวะเลือดออกง่าย (โดยปกติไม่เห็น) ก็สามารถใช้วิธีการของการทดสอบประสิทธิภาพของการแข็งตัวของเลือด (TEG®) ในการจัดการเรื่องนั้นได้ เพราะมีบทบาทเป็น safety-net ไม่ให้มีการรักษาผู้ป่วยเกินความจำเป็น (overtreat) การรวมการรักษาที่แน่นอนชัดเจน (exact combination of treatment) และช่วงระยะเวลาสำหรับผู้ป่วยที่มีอาการเล็กน้อย (mild cases) อาจจะต้องมีการศึกษาวิจัยและการจัดปรับในรายละเอียด (refinement) กันต่อไป ผู้ป่วยจะต้องได้รับการแจ้งให้ทราบว่าการรักษาที่วุ่นวายนี้ยังไม่เป็นที่ยอมรับกันในวงกว้างแต่ก็อยู่บนพื้นฐานของแนวทาง/วิธีการปฏิบัติทางคลินิกที่ดีที่สุดและประสิทธิผลในการบริหารจัดการผู้ป่วยเหล่านี้

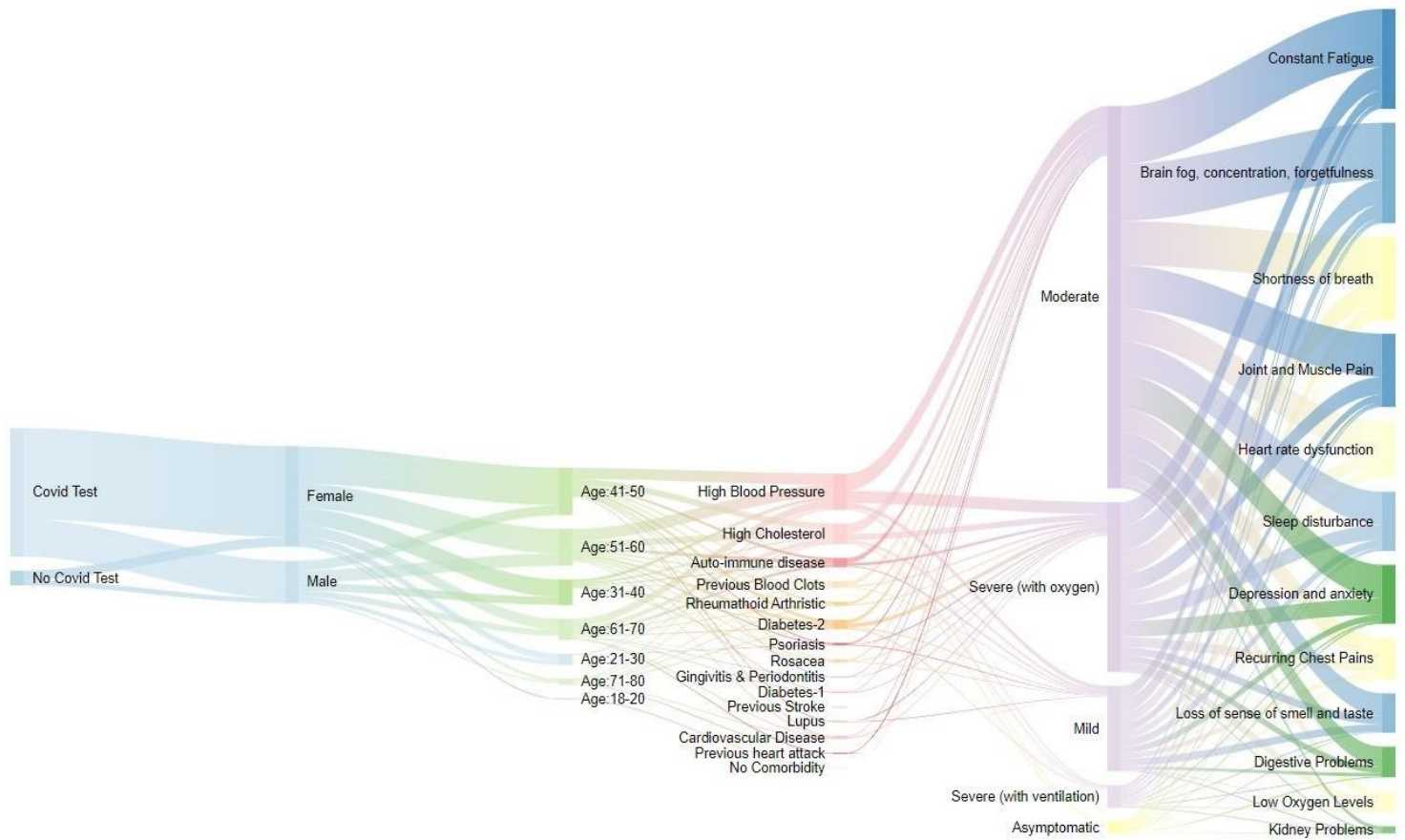
การศึกษาลงานการศึกษาวิจัยของเราเกี่ยวกับผลกระทบของโฮโมซิสทีน (homocysteine) ที่มีต่อเกร็ดเลือดและการกระตุ้นวิธีการแข็งตัวของเลือดซึ่งได้รับการสนับสนุนจากความแปรผัน (variation) ของยีน *MTHFR* มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับยุคสมัยโควิด 19 ในปี พ.ศ. 2564 Ponti และคณะ⁷⁰ ได้ correlate รูปแบบของการติดเชื้อ (infection patterns) กับความถี่ของ *MTHFR* 677 T-allele ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับการศึกษาวิจัยที่เราได้ดำเนินการมาก่อนหน้านี้ในกลุ่มชาติพันธุ์ต่าง ๆ ในแอฟริกาใต้⁷¹ นอกจากนี้เรายังได้ให้หลักฐานที่น่าเชื่อถือว่าระดับของโฮโมซิสทีนมีสื่อกลางคือผลกระทบของ *MTHFR* 677 C>T และอาหารต่อดัชนีมวลกายซึ่งเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับคะแนนโฟเลตที่ต่ำ^{33,72} คะแนนโฟเลตที่ต่ำมีการ correlate กับดัชนีมวลกายที่สูง ดังนั้นการตรวจพบ low-penetrance variation นี้จึงเป็นการสนับสนุน (reinforce) ความสำคัญของการได้รับโฟเลตในปริมาณสูง ๆ และวิตามิน บี ชนิดอื่น ๆ ในอาหาร เพื่อป้องกันหรือฟื้นฟูการทำงานของ methylation pathway จนถึงขณะนี้ยังไม่มีการศึกษาวิจัยที่มีกลุ่มควบคุม (controlled trials) อย่างไรก็ตามนี่จะเป็นก้าวต่อไปที่สำคัญที่จะต้องพิจารณาอย่างเร่งด่วนตามที่มีการติดตามเฝ้าสังเกตการณ์ทางคลินิก โดยการใช้วิธีการตรวจทางพันธุกรรมที่ได้รับการสนับสนุนจากพยาธิวิทยาหลายรูปแบบ (multi-modal pathology-supported genetic testing approach)²⁷

ภาพประกอบ

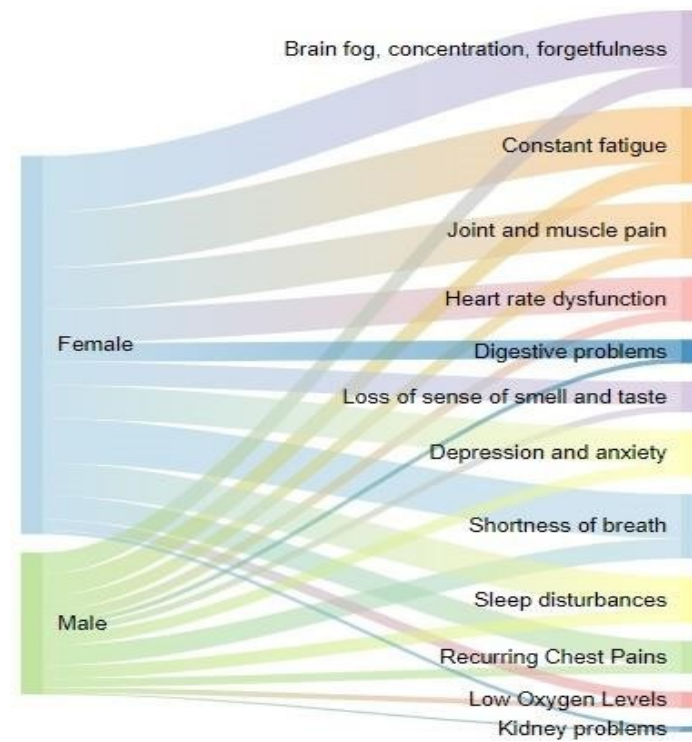
ภาพประกอบที่ 1: Layout ของการศึกษาวิจัยนี้.



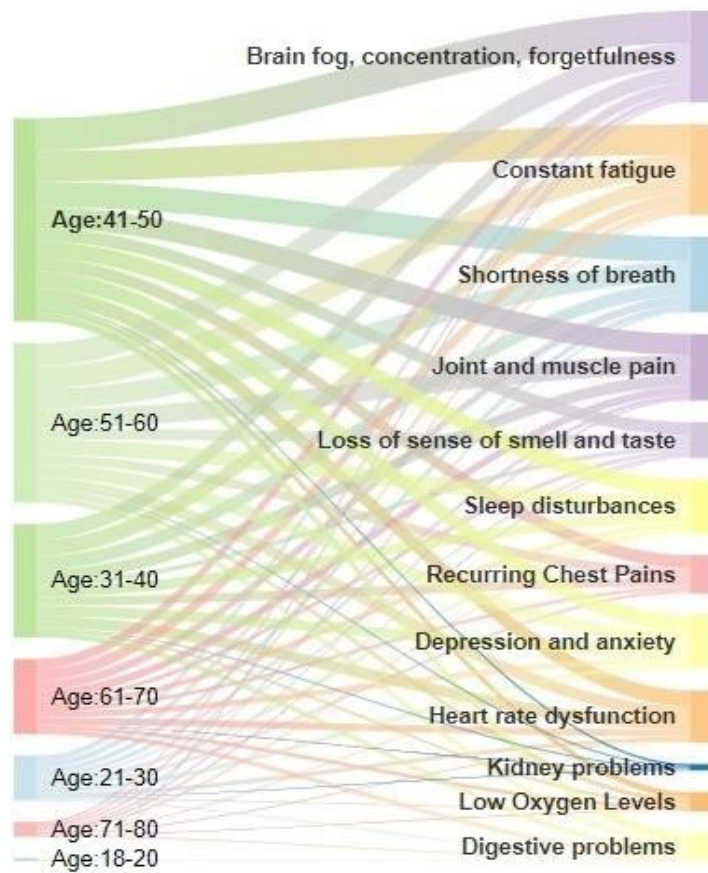
ภาพประกอบที่ 2: ภาพรวมทั่ว ๆ ไปของการกระจายของประชากร (population distribution) ของข้อมูลในฐานข้อมูล ส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้ซึ่งนำเสนอในรูปแบบ Sankey plot.



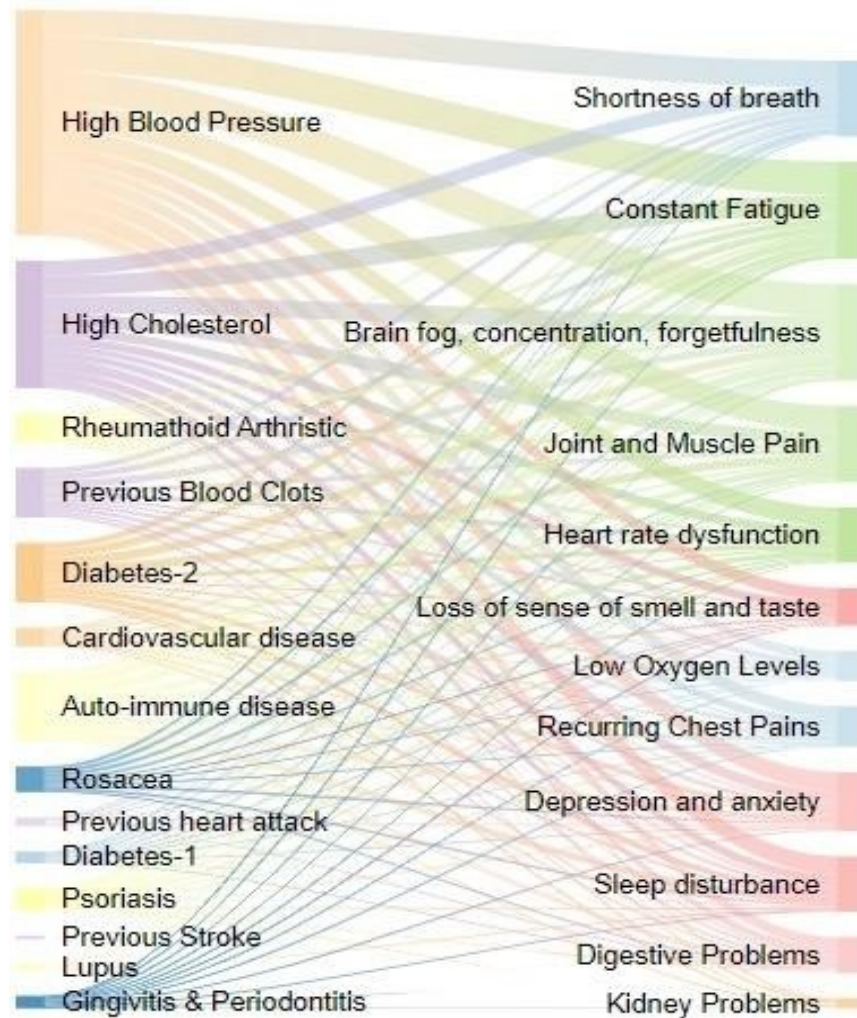
ภาพประกอบที่ 3: เพศกับการกระจายของประชากรอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (Long COVID) ของข้อมูลในฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้.



ภาพประกอบที่ 4: อายุ – การกระจายของอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของข้อมูลในฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้.

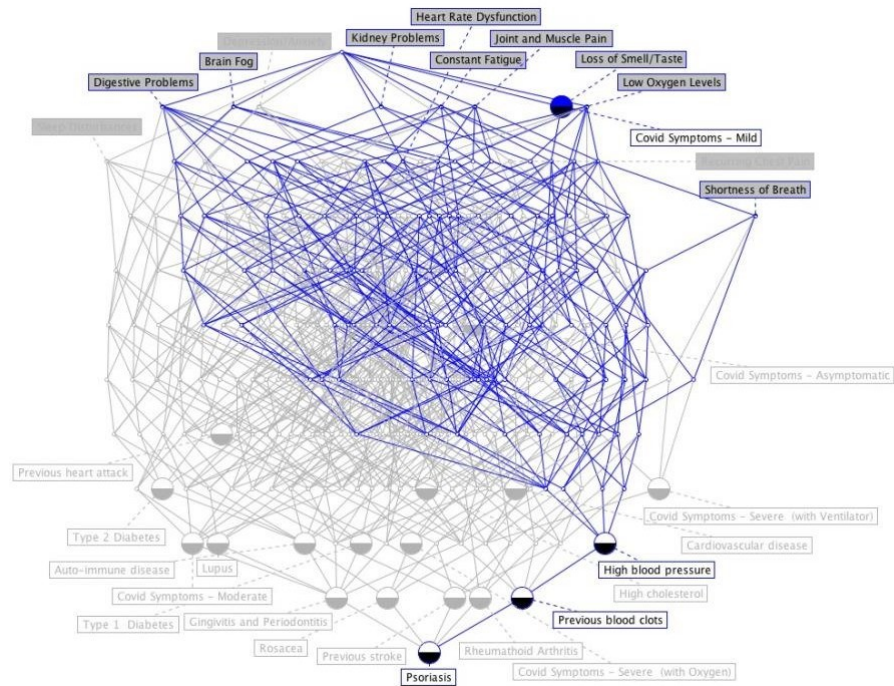


ภาพประกอบที่ 5: Sankey plot แสดงถึงโรคร่วมของผู้ป่วยกับการกระจายของประชากรอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของข้อมูลในฐานข้อมูลส่วนกลางสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ของแอฟริกาใต้.

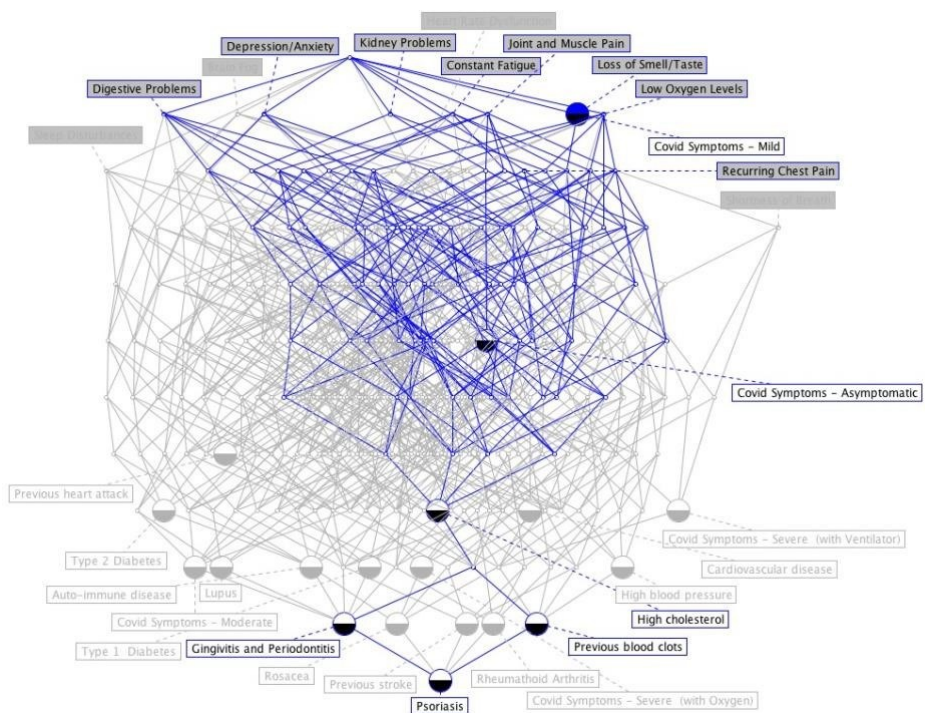


ภาพประกอบที่ 6A และ B: Lattice plots แสดงถึงโรคร่วมของผู้ป่วยกับ lattice ของอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ซึ่งเน้นย้ำถึงภาวะความดันโลหิตสูงและระดับไขมันในเลือดสูง.

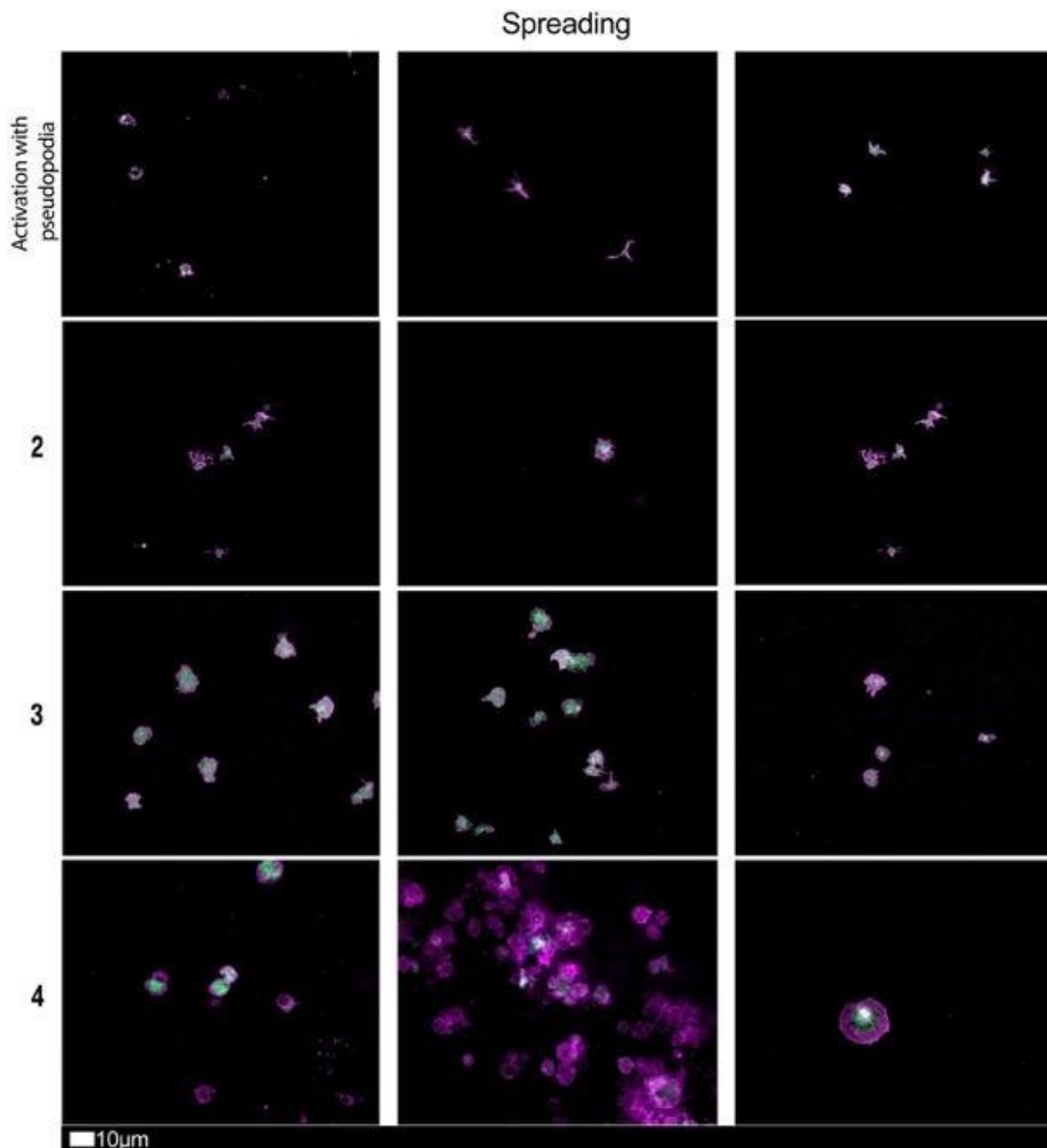
A



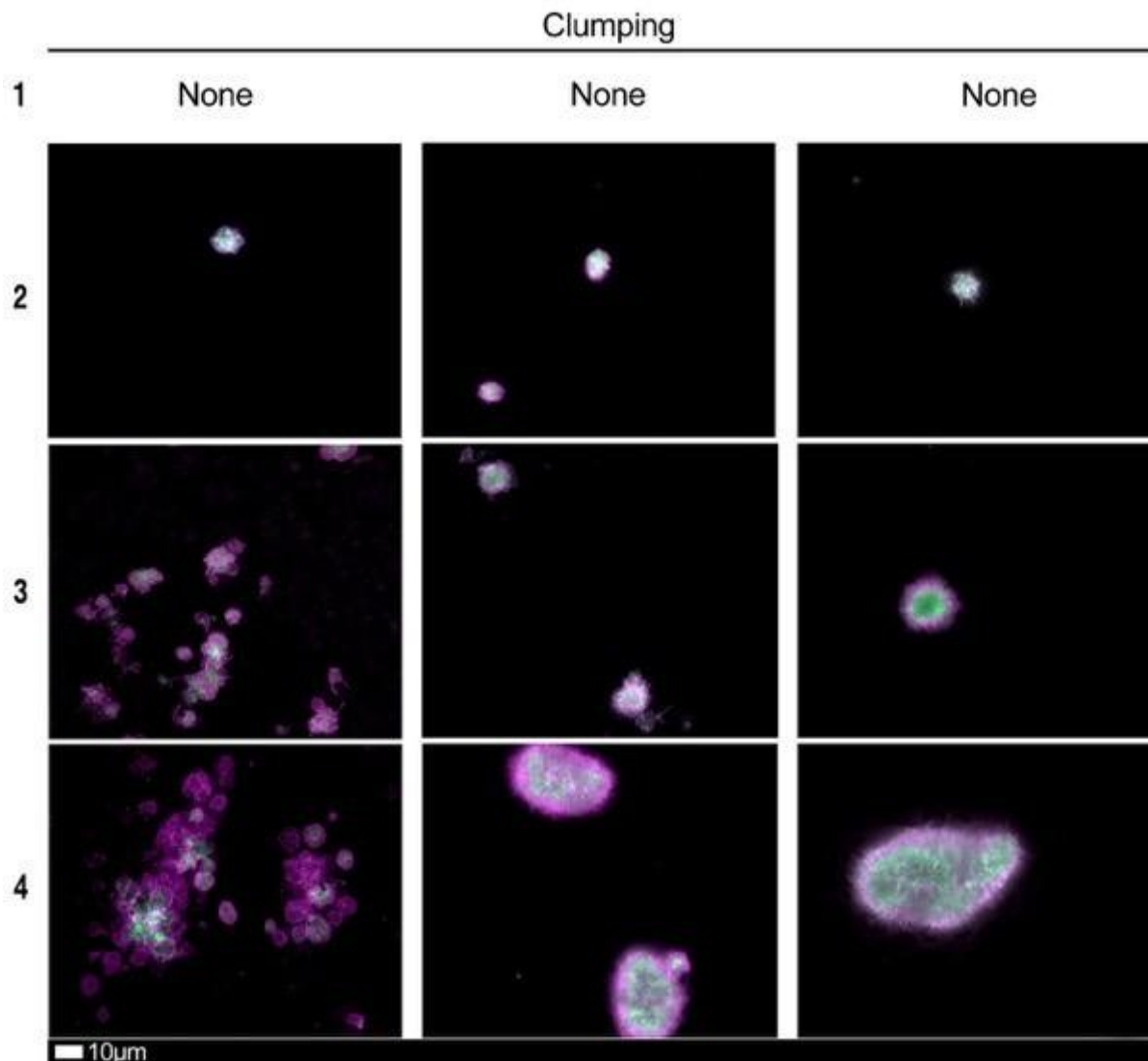
B



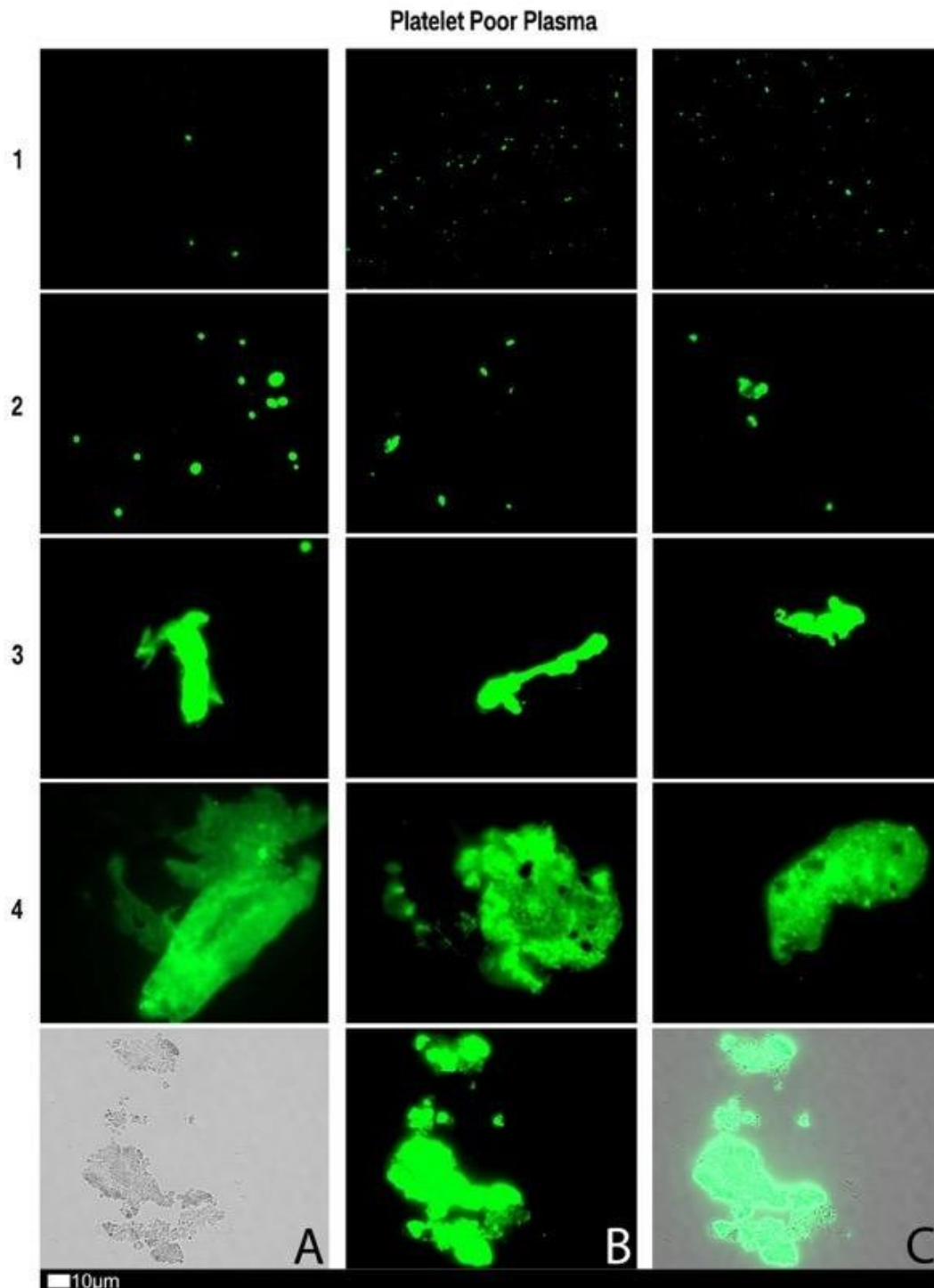
ภาพประกอบที่ 7: ตัวอย่างภาพ Fluorescence microscopy ของช่วงระยะต่าง ๆ กันของการกระตุ้นและการกระจายของเกร็ดเลือดซึ่งใช้ในการให้คะแนนการกระตุ้นของเกร็ดเลือดในผู้ป่วยที่มีอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) โดยที่ช่วงระยะ (Stage) ที่ 1 มีเกล็ดเลือดที่ได้รับการกระตุ้นน้อยสุด (minimally activated platelets) มองเห็นเป็นเกร็ดเลือดกลม ๆ ขนาดเล็กที่มี pseudopodia จำนวนเล็กน้อย มองเห็นเป็นเกร็ดเลือดที่มีสุขภาพดี/เกล็ดเลือดกลุ่มควบคุม (control platelets) ซึ่งดำเนินไปสู่ช่วงระยะ (Stage) ที่ 4 ที่มีเกร็ดเลือดรูปไข่ (egg-shaped platelets) ซึ่งบ่งชี้ถึงการกระจายตัวและการเริ่มการจับตัวเป็นก้อน (ได้จาก ²⁶ โดยได้รับอนุญาต).



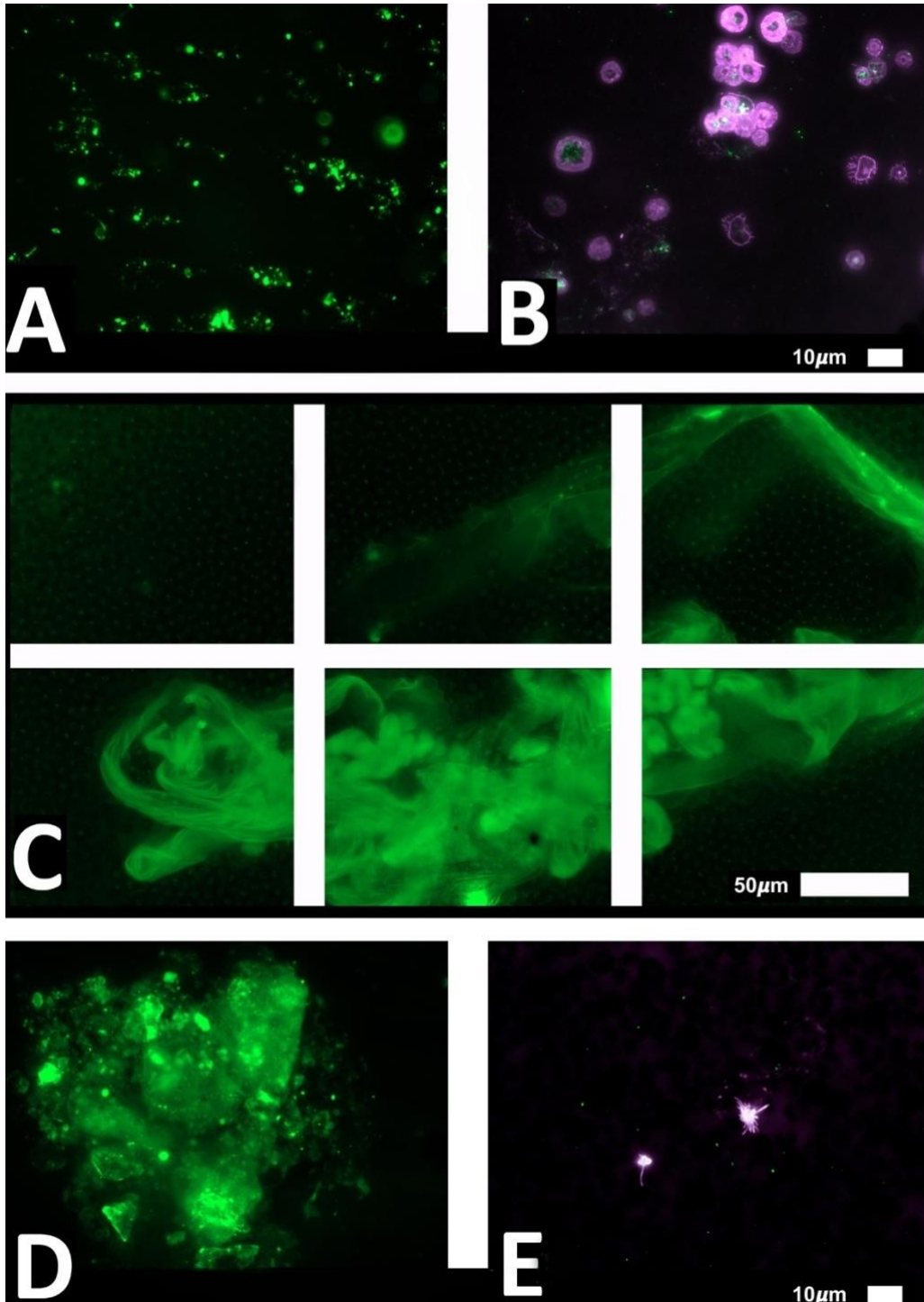
ภาพประกอบที่ 8: ตัวอย่างภาพ Fluorescence microscopy ของช่วงระยะต่าง ๆ กันของการจับตัวเป็นก้อนของเกร็ดเลือด (platelet clumping). ไม่มีการจับตัวเป็นก้อนเกิดขึ้นในตัวอย่างจากผู้ที่มีสุขภาพดี /กลุ่ม control ในช่วงระยะที่ (stage) 1 (ไม่ได้แสดงภาพประกอบ) ดำเนินไปถึงการจับตัวเป็นก้อนของเกร็ดเลือดที่รุนแรง (severe clumping of platelets) ตามที่แสดงในช่วงระยะที่ (stage) 4. (ได้จาก ²⁶ โดยได้รับอนุญาต).



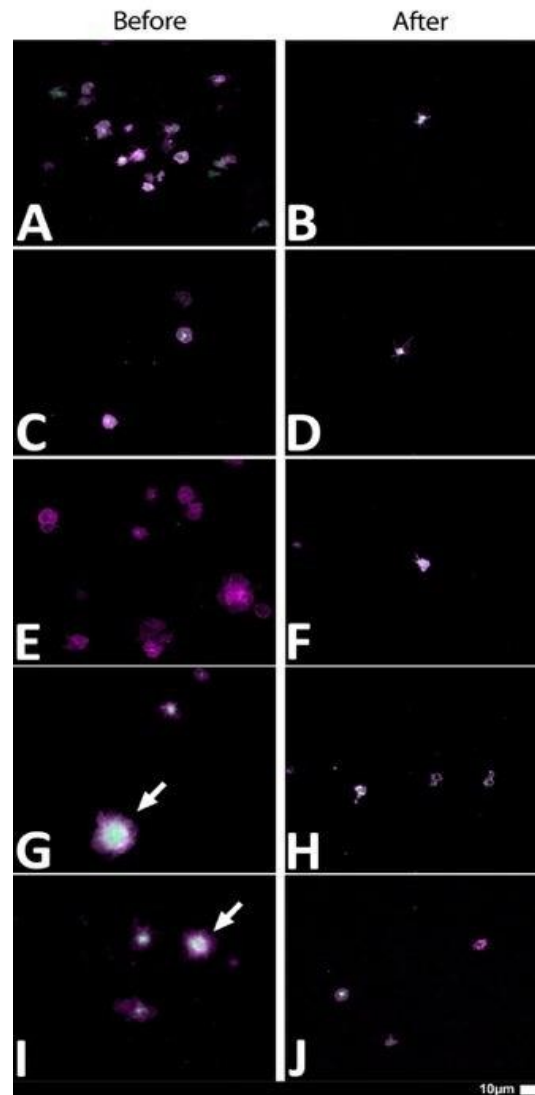
ภาพประกอบที่ 9: ภาพ fluorescence microscopy ที่แสดงถึงลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กใน platelet poor plasma (PPP) ที่มีตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของช่วงระยะต่าง ๆ ของการก่อตัวของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก. ช่วงระยะที่ 1 แสดงถึงการก่อตัวของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กในปริมาณน้อยสุด (minimal microclot formation) ใน platelet poor plasma ของผู้ที่มีสุขภาพดี /กลุ่ม control ซึ่งดำเนินไปถึงการที่มีลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กขึ้นรุนแรงในช่วงระยะที่ 4. แถวล่างเป็นตัวอย่างของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กในช่วงระยะที่ 4 โดยการใช้ (A) bright-field microscopy, (B) fluorescence microscopy, และ (C) an overlay ของ fluorescence และ bright-field microscopy. (ได้จาก ²⁶ โดยได้รับอนุญาต).



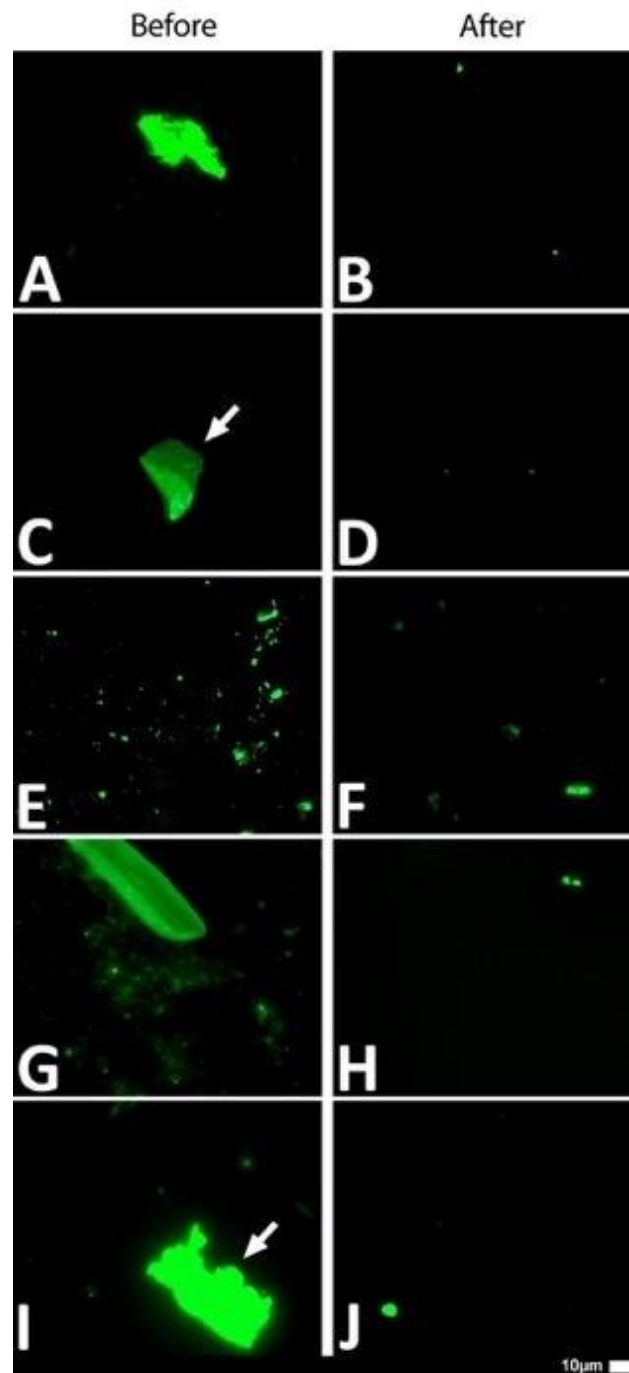
ภาพประกอบที่ 10: ลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กกับเกล็ดเลือดในผู้ป่วย 2 คนที่มีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC). (A): micrographs ที่เป็นตัวแทนของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) เป็นระยะเวลา 11 เดือน ที่ไม่ได้รับการรักษา. พลาสมาได้รับการย้อมด้วย thioflavin T (ThT); (B): การกระตุ้นของเกล็ดเลือดที่มากผิดปกติ (platelet hyperactivation) ของผู้ป่วยคนเดียวกัน ซึ่ง PAC-1 และ CD62PE ถูกใช้ในการ mark เกล็ดเลือด. (C) ในผู้ป่วยคนนี้เราสังเกตเห็นเศษซากของเซลล์ (cellular debris) ในฮีมาโตคริต – ในการศึกษาวิจัยนี้เศษซากของเซลล์แสดงในรูปแบบ tile scan. (D และ E): การมีอยู่ของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กและเกร็ดเลือดจากผู้ป่วยผู้ซึ่งได้รับการรักษาต้านเกร็ดเลือด (anti-platelet therapy) ก่อนการเก็บตัวอย่างเลือดซึ่งเราสังเกตเห็นลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กที่มีนัยสำคัญ แต่เกล็ดเลือดไม่ได้รับการกระตุ้นที่มากผิดปกติอย่างมีนัยสำคัญเนื่องมาจากการใช้การรักษาต้านเกร็ดเลือด.



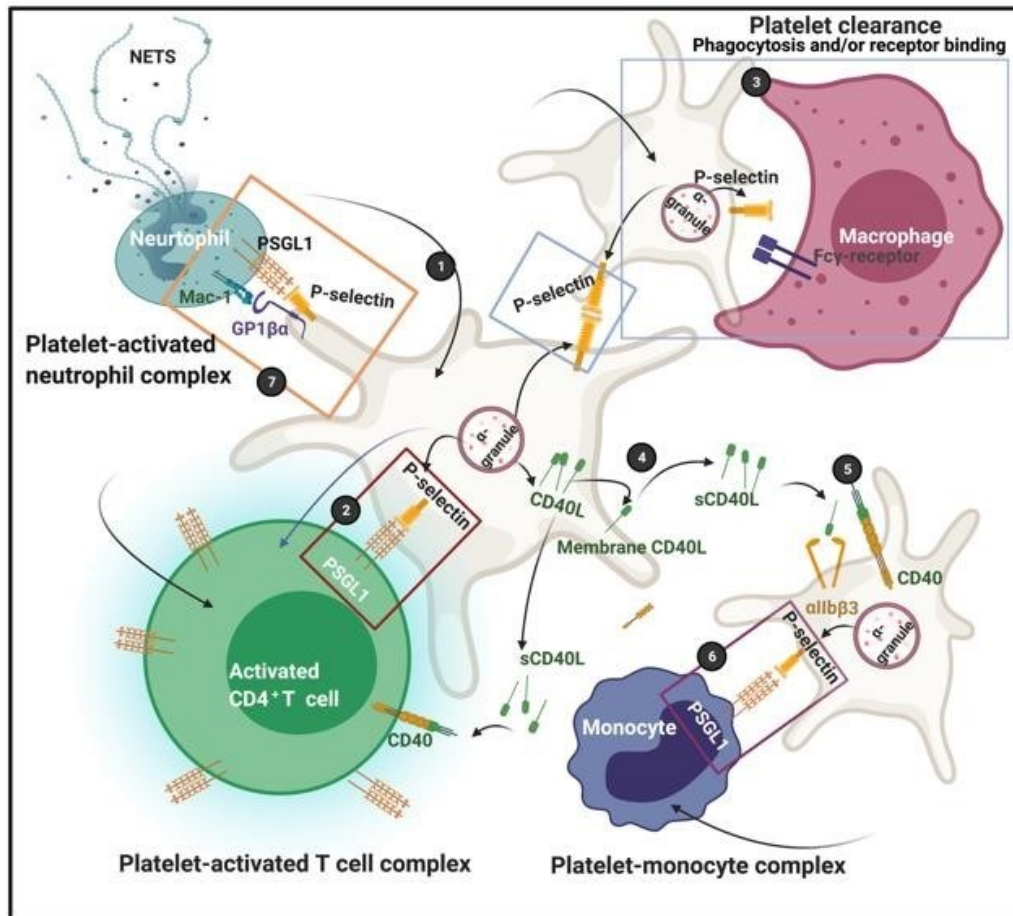
ภาพประกอบที่ 11: ภาพ fluorescence micrographs ที่เป็นตัวแทนของพยาธิวิทยาของเกร็ดเลือดก่อนและหลังการรักษา. เห็นการแพร่กระจายของเกร็ดเลือดในระดับปานกลางและการจับตัวเป็นก้อนของเกร็ดเลือดเล็กน้อย (ลูกศรสีขาว) ในตัวอย่างของผู้ป่วยที่เป็น naïve (ภาพประกอบ A, C, E, G, I) ซึ่งดีขึ้นหลังจากการรักษาและมีการแพร่กระจายของเกร็ดเลือดเล็กน้อยและไม่มีการจับตัวเป็นก้อน (ภาพประกอบ B, D, F, H, J).



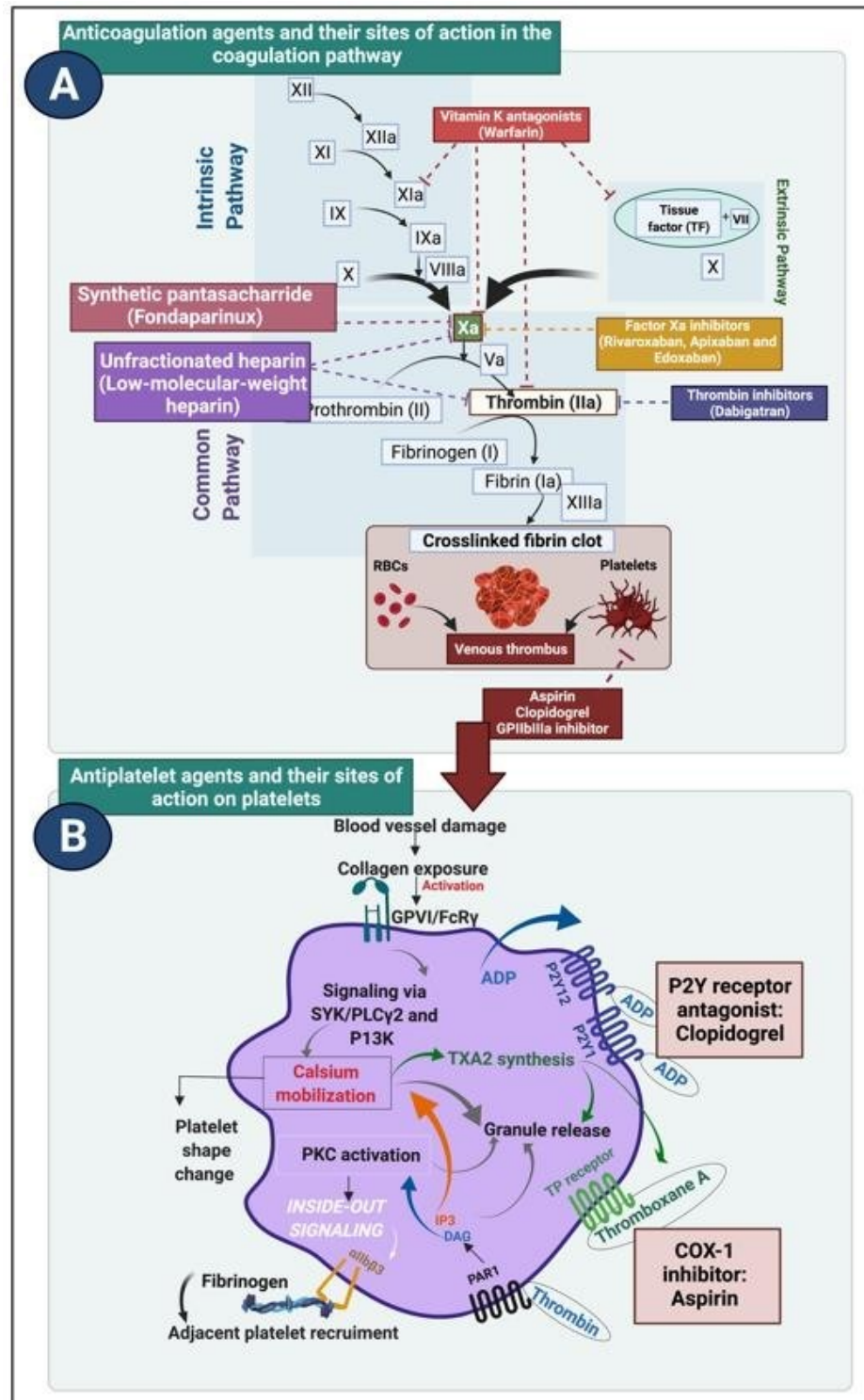
ภาพประกอบที่ 12: ภาพ fluorescence micrographs ของ platelet poor plasma (PPP) ที่เป็นตัวแทนที่มีบริเวณของ plasma protein misfolding forming microclots ปานกลาง (บางส่วนมีขนาดใหญ่กว่า 15 μm ; (ลูกศรสีขาว) ก่อนการรักษา (ภาพประกอบ A, C, E, G,I) ที่มีลิ้มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กที่สามารถมองเห็นได้อยู่ในปริมาณเล็กน้อยในตัวอย่างหลังจากการรักษา (ภาพประกอบ B, D, F, H, J).



ภาพประกอบที่ 13: (1) หลังจากการกระตุ้นเกล็ดเลือดมีการแสดงออกของ P-selectin บน membranes ตามมาด้วยการก่อตัวของ platelet-T cell complex (2); P-selectin บน platelet membranes ยังได้รับการ recognized จาก macrophages อีกด้วย ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าจาก Fc γ -receptor; อาจจะมี clearance เกิดขึ้นเนื่องมาจากการยึดจับของ receptor หรือกระบวนการ phagocytosis (3). CD40L ได้รับการปลดปล่อยจากเกล็ดเลือดและสามารถ migrate ไปยัง membranes หรือ shed เป็น CD40L ที่สามารถละลายน้ำได้ (4). sCD40L สามารถยึดจับกับทั้ง $\alpha_{IIb}\beta_3$ หรือ CD40 receptors (5). The P-selectin บน membranes ของเกล็ดเลือดที่ได้รับการกระตุ้นจาก sCD40L ยังสามารถก่อตัวเป็น complexes กับ monocytes (6). Platelet-neutrophils ก็ก่อตัวเป็น complexes ด้วยเช่นกัน (7). Diagram สร้างจาก BioRender (<https://biorender.com/>) และดัดแปลงจาก ⁶⁶.



ภาพประกอบที่ 14: ผลที่ได้จากยาต้านการแข็งตัวของเลือดชนิดรับประทาน (DOAC) ที่ได้รับการคัดเลือก และการใช้ยาต้านเกล็ดเลือดร่วมกัน (DAPT) ที่มีต่อการแข็งตัวของเลือดและการทำงานของเกร็ดเลือด . Diagram สร้างจาก BioRender (<https://biorender.com/>)



ภาพประกอบที่ 15: การทำความเข้าใจกับวิถีพยาธิวิทยา (pathological pathways) ของภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC). A) พยาธิวิทยาของหลอดเลือดที่มีการเปลี่ยนแปลงไปมาอย่างรุนแรงในผู้ป่วยโรคโควิด 19 เฉียบพลัน [ดัดแปลงจาก ⁴²]. B) พยาธิวิทยาของภาวะอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC) ส่งผลให้เกิดการก่อตัวของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็กที่เรื้อรังและการแข็งตัวของเลือดง่ายผิดปกติ. C) วิธีการปฏิบัติทางคลินิกที่ดีที่สุด (best clinical practice regime) ซึ่งลดการกระตุ้นที่มากเกินไปของเกล็ดเลือด (platelet hyperactivation) และป้องกันการก่อตัวของลิ่มเลือดแข็งตัวขนาดเล็ก. D) การรักษาควรจะส่งผลให้เกิดการเยียวยาเยื่อผนังหลอดเลือดและการลดลงของภาวะเนื้อเยื่อพร่องออกซิเจน และการลดลงของอาการหลงเหลือหลังจากติดเชื้อโควิด 19 ในระยะยาว (long Covid) / ผลตามหลังระยะเฉียบพลันของโควิด 19 (PASC). Image สร้างจาก BioRender (<https://biorender.com/>).

