

## ฉบับแปลไทย (Thai Translations)

### Long-term microstructure and cerebral blood flow changes in patients recovered from COVID-19 without neurological manifestations

<https://www.jci.org/articles/view/147329>

## การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลภาคในระยะยาวและการเปลี่ยนแปลงของการไหลเวียนของเลือดในสมองในผู้ป่วยที่ฟื้นตัวจากโรคโควิด 19 ที่ไม่มีการแสดงออกทางระบบประสาท

### บทนำ (Introduction)

โรคไวรัสโคโรนา (โควิด 19) ซึ่งติดเชื้อง่ายเป็นอย่างมาก (highly infectious) อันมีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสโคโรนาโรคระบบทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง (SARS-CoV-2) ได้มีการดำเนินไปข้างหน้าอย่างรวดเร็วไปสู่การแพร่ระบาดในวงกว้างไปทั่วโลก และก่อให้เกิดความวิตกกังวลไปทั่วโลกในปี พ.ศ. 2563 จนถึงขณะนี้โรคโควิด 19 ได้ทำให้เกิดการติดเชื้อเป็นจำนวนมากกว่า 79 ล้านราย และคร่าชีวิตผู้คนทั่วโลกไปแล้วเป็นจำนวนมากกว่า 1.7 ล้านชีวิต (1) อาการเด่น ๆ สำคัญ ๆ ของโรคโควิด 19 เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินหายใจ อย่างไรก็ตามมีหลักฐานเพิ่มมากขึ้นที่บ่งชี้ว่าเชื้อ SARS-CoV-2 ไม่ได้โจมตีแค่เพียงแต่ปอด ไต และหัวใจเท่านั้น แต่ยังมีผลกระทบต่อระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) ในช่วงระยะแรก ๆ ของการติดเชื้ออีกด้วย (2, 3) มีการรายงานเกี่ยวกับการแสดงของอาการทางประสาทต่าง ๆ (neurological manifestations) ที่เกี่ยวข้องกับสัมพันธ์กับโรคโควิด 19 อย่างเช่น โรคไขสมองอักเสบ (encephalitis) ภาวะสมองอักเสบเฉียบพลันชนิด acute necrotizing encephalopathy (ANE) การสูญเสียเยื่อหุ้มเส้นประสาท (demyelination) โรคหลอดเลือดสมอง (cerebrovascular disease) ตลอดจนกลุ่มอาการอักเสบเฉียบพลันของเส้นประสาทหลายเส้นพร้อม ๆ กันจนทำให้เกิดภาวะกล้ามเนื้ออ่อนแรง (Guillain-Barre syndrome) และรูปแบบที่แตกต่างกันออกไป (variants) ของกลุ่มอาการนี้ (2, 4-10) กลไกพื้นฐานเหล่านี้มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องอย่างมีศักยภาพความเป็นไปได้กับการติดเชื้อไวรัสโดยตรงของระบบประสาทส่วนกลาง ภาวะของการอักเสบมากผิดปกติ (hyperinflammatory) และการแข็งตัวของเลือดง่ายผิดปกติ (hypercoagulable) ที่ได้รับการกระตุ้นจากเชื้อไวรัส ตลอดจนกระบวนการต่าง ๆ ที่อาศัยภูมิคุ้มกัน (immune-mediated) ที่เกิดขึ้นภายหลังการติดเชื้อ (3, 11) อย่างไรก็ตามการศึกษาวินิจฉัยต่าง ๆ ก่อนหน้านี้ตั้งอยู่บนพื้นฐานของข้อมูลย้อนหลังของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาด่วนในโรงพยาบาล (retrospective hospitalized data) และมุ่งประเด็นไปที่ผลกระทบทันที (immediate effects) ของโรคโควิด 19 โดยที่ยังคงเป็นที่ไม่ทราบเกี่ยวกับผลกระทบในระยะยาวที่ต่อเนื่อง (12) ตามแนวปฏิบัติขององค์การอนามัยโลก (WHO) อาการทางคลินิกของโรคโควิด 19 มีตั้งแต่อาการเล็กน้อยถึงรุนแรงจนกระทั่งถึงอาการป่วยขั้นวิกฤต (13) บ่อยครั้งผู้ป่วยขั้นวิกฤต (critically ill) ที่มีภาวะพร่องออกซิเจน (hypoxia) และมี inflammatory storm รุนแรงมากกว่ามักจะมีอาการบาดเจ็บของระบบประสาท (nervous system injury) และภาวะแทรกซ้อนของระบบต่าง ๆ (systemic complications) ที่รุนแรงมากกว่า ในขณะที่ผู้ป่วยที่มีอาการของโรคชนิดเล็กน้อย (mild) และชนิดรุนแรง (severe) ไม่มีอาการของระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจง (specific neurological symptoms) ในระยะเฉียบพลัน และมีผลลัพธ์ทางคลินิก (clinical outcomes) ที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ (13, 14) ถึงแม้ว่าผู้ป่วยบางรายมีการฟื้นตัวอย่างสิ้นเชิง (totally recovered) จากโรคปอดบวมที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับโรคโควิด 19 (COVID-19 pneumonia) แต่ความเป็นไปได้หรือไม่ในการเกิดความเสียหายต่อสมองยังคงเป็นที่ไม่มีใครทราบ ดังนั้นผลกระทบในระยะยาวต่อสมองของผู้ป่วยที่ไม่มีการแสดงออกใด ๆ ทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจงของโรคโควิด 19 จึงจำเป็นต้องได้รับการศึกษาวิจัยต่อไป ซึ่งอาจจะทำให้เกิดความเข้าใจที่ดีขึ้นเกี่ยวกับผลกระทบทางระบบประสาทและทางจิตวิทยาของโรคซึ่งดำเนินไป และนำมาซึ่งแนวปฏิบัติทางคลินิกไปสู่การฟื้นตัวอย่างสมบูรณ์

ในการศึกษาวิจัยนี้ เรามีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางประสาทภายหลังจากที่มีการฟื้นตัวในระยะยาว (long-term recovery) ในผู้ป่วยโรคโควิด 19 ที่ไม่มีการแสดงออกของระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจง (specific neurological manifestations) ในระยะเฉียบพลันและในระหว่างช่วงการติดตามอาการเป็นเวลา 3 เดือน ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อโรคโควิด 19

ชนิดที่มีอาการเล็กน้อย (mild type) และชนิดที่มีอาการรุนแรง (severe type) ตามแนวปฏิบัติขององค์การอนามัยโลก และผู้ป่วยที่ไม่มีการแสดงอาการทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจงในระหว่างที่เข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลได้รับการลงทะเบียน (enrolled) และติดตามอาการเป็นระยะเวลา 3 เดือน ความเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่มีความเป็นไปได้ของโครงสร้างจุลภาคของสมอง (brain microstructure) และการไหลเวียนของเลือดในสมอง (cerebral blood flow (CBF)) ได้รับการศึกษาและเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นผู้ที่มีสุขภาพดี (healthy controls) ที่ได้รับการจับคู่ตามเพศและอายุ โดยใช้การตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเชิงปริมาณ (quantitative MRI) และโปรโตคอลต่าง ๆ ภายหลังการประมวลผลภาพ (postprocessing protocols) ที่ทันสมัยที่สุด

## Graphical Abstract



## ภูมิหลัง (BACKGROUND)

โรคไวรัสโคโรนา 2019 (โควิด 19) ได้มีการดำเนินไปข้างหน้าอย่างรวดเร็วไปสู่การแพร่ระบาดในวงกว้างไปทั่วโลก ถึงแม้ว่าผู้ป่วยบางรายได้มีการฟื้นตัวอย่างสิ้นเชิงจากโรคปอดบวมที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับโรคโควิด 19 (COVID-19 pneumonia) แต่ผลกระทบในระยะยาวของโรคนี้ต่อสมอง ยังคงจำเป็นต้องได้รับการศึกษา

## วิธีการ (METHODS)

เราได้ทำการรับสมัครผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 51 คนที่เป็นโรคโควิด 19 ใน 2 ประเภทย่อย ๆ (subtypes) (ผู้ป่วยจำนวน 19 คนเป็นประเภทมีอาการไม่รุนแรง (mild) และจำนวน 32 คนเป็นประเภทมีอาการรุนแรง (severe)) ที่ไม่มีการแสดงอาการทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจงในระยะเฉียบพลัน และไม่มีรอยโรค (lesions) ที่ชัดเจนในการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าตามปกติ (conventional MRI) ในช่วงระยะเวลา 3 เดือนหลังจากออกจากโรงพยาบาล การเปลี่ยนแปลงทางมอร์โฟเมตรี (morphometry) ของสมองเนื้อสีเทา (gray matter) การไหลเวียนของเลือดในสมอง (cerebral blood flow (CBF)) ตลอดจนโครงสร้างจุลภาค (microstructure) ของสมองเนื้อสีขาว (white matter) ได้รับการศึกษาโดยใช้การตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI) ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดการสร้างภาพสมอง (brain imaging measurements) กับตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammation markers) ได้รับการวิเคราะห์ต่อไป

## ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัย (RESULTS)

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นผู้ที่มีสุขภาพดี (healthy controls) การลดลงของความหนาของเปลือกสมอง (cortical thickness)/การไหลเวียนของเลือดในสมอง (cerebral blood flow (CBF)) และการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลภาค (microstructure) ของสมองส่วนเนื้อสีขาว (white matter) ในผู้ป่วยที่มีอาการของโรครุนแรง (severe disease) มีความรุนแรงมากกว่าในผู้ป่วยที่มีอาการของโรคเล็กน้อย (mild disease) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบสมองส่วนหน้าและสมองส่วนระบบลิมบิก (limbic system) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลภาค (microstructure) การไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF) และพารามิเตอร์ลำเส้นใยประสาทต่าง ๆ (tract parameters) ก็มีสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) กับตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory markers) ซึ่งได้แก่ C-reactive protein, procalcitonin, และ interleukin 6

## สรุปผลการศึกษาวิจัย (CONCLUSION)

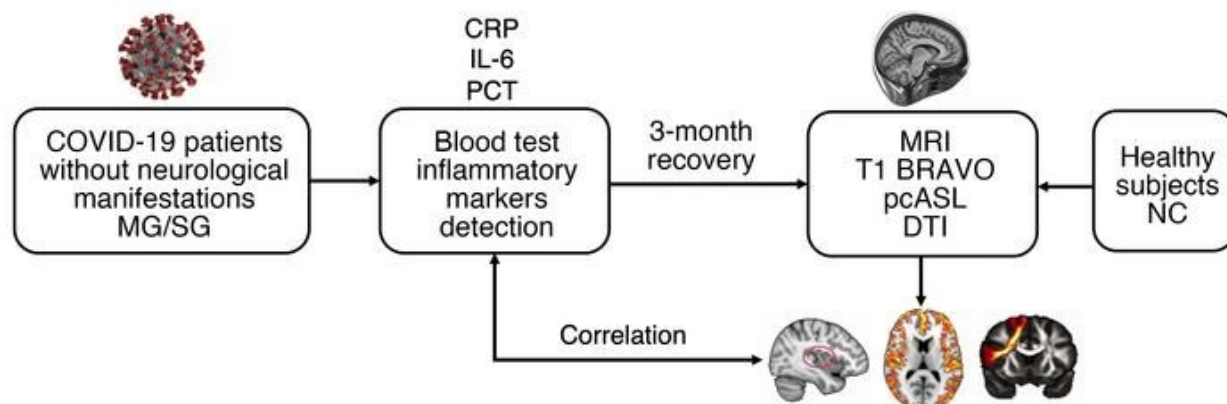
การบาดเจ็บโดยอ้อม (indirect injury) ที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับ inflammatory storm อาจจะทำให้ความเสียหายต่อสมองเปลี่ยนแปลงปริมาตรของสมอง (cerebral volume) การไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF) ตลอดจนลำเส้นใยประสาท (tracts) ของสมองส่วนเนื้อสีขาว (white matter) ภาวะที่ร่างกายมีปริมาณออกซิเจนในเลือดต่ำกว่าปกติที่สัมพันธ์เกี่ยวข้องกับโรคโควิด 19 (COVID-19 – related hypoxemia) และการทำงานของผิดปกติ (dysfunction) ของเยื่อปอดที่ลดลงก็ยังคงมีส่วนก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ทางระบบประสาทอีกด้วย ความผิดปกติในบริเวณเหล่านี้ของสมองจำเป็นต้องได้รับการเฝ้าติดตามตรวจสอบ (monitored) ในระหว่างการฟื้นตัว ซึ่งอาจจะสามารถช่วยให้แพทย์เข้าใจเกี่ยวกับผลสืบเนื่องทางประสาท (neurological sequelae) ที่เป็นไปได้ของโรคโควิด 19

## ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัย (RESULTS)

ผู้ป่วยทั้งหมดได้รับการลงทะเบียนรับสมัครตามแบบการศึกษาวิจัย (study design) ซึ่งแสดงไว้ใน [ภาพประกอบที่ 1](#) กล่าวโดยย่อ ๆ ก็คือผู้ป่วยอาสาสมัครที่เข้าร่วมถูกแบ่งออกเป็นกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (mild group - MG) และกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (severe group - SG) ตามแนวปฏิบัติขององค์การอนามัยโลก ไม่มีการแสดงออกทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจง (specific neurological manifestations) ในระยะเฉียบพลันของการเจ็บป่วย มีการใช้ตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory markers) และข้อมูลด้านประชากร (demographics) รวมทั้งค่าการวัดทางพฤติกรรม (behavioral measures) ในระหว่างที่ผู้ป่วยเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาล ในช่วงระยะเวลา 3 เดือนหลังจากการฟื้นตัวมีการใช้วิธีการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI) ชนิดต่าง ๆ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างสมอง และการไหลเวียนของเลือด

### ภาพประกอบ 1

แผนภาพแสดงรูปแบบการวิจัยเชิงทดลอง (experimental design). MG = กลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย; SG = กลุ่มที่มีอาการรุนแรง; CRP = C-reactive protein; IL-6 = interleukin-6; PCT = procalcitonin; MRI = magnetic resonance imaging (การตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า); BRAVO = brain volume (ปริมาตรสมอง); pcASL = pseudo-continuous arterial spin labeling (การติดตามหลอดเลือดแดงแบบต่อเนื่องไหล); DTI = diffusion tensor imaging (การถ่ายภาพเทนเซอร์แบบแพร่ด้วยคลื่นสนามแม่เหล็ก); NC = normal control (กลุ่มควบคุมปกติ).



ข้อมูลด้านประชากรและค่าการวัดทางพฤติกรรม (Demographics and behavioral measures). ตามที่แสดงไว้ใน ตารางที่ 1 มีการรับสมัครผู้ป่วยที่มีการฟื้นตัวจากโรคโควิด 19 จำนวนทั้งสิ้น 51 คนเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้ป่วยจำนวน 19 คนถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) และจำนวน 32 คนถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) ผลที่ได้ของค่าเฉลี่ยปริมาณความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง (mean hematocrit (Hct) value) แสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) กับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) ( $P = 0.835$ ) สำหรับเฉพาะผู้ป่วยเพศชายค่าปริมาณความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง (Hct value) แสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) กับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) ( $P = 0.923$ ) ผลที่ได้มีความคล้ายคลึงกันสำหรับผู้ป่วยเพศหญิง ( $P = 0.553$ ) ปรากฏการณ์นี้อาจจะสามารถลดผลกระทบของฮีมาโตคริต (Hct effect) ที่มีต่อการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF) และสะท้อนให้เห็นถึงผลกระทบของโรคในแต่ละกลุ่มได้มากกว่า สำหรับตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory markers) เราพบว่าการเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับของ C-reactive protein (CRP) ( $P$

$< 0.001$ ), procalcitonin (PCT) ( $P = 0.001$ ) และ interleukin-6 (IL-6) ( $P = 0.041$ ) ในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) ผู้ป่วยทั้งหมดที่มีการฟื้นตัวจากโรคปอดบวมที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับโรคโควิด 19 (COVID-19 pneumonia) ได้รับการตรวจวินิจฉัยและเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2563 ตามประวัติทางการแพทย์ของผู้ป่วยเหล่านี้ ผู้ป่วยไม่มีการแสดงอาการทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจงในระหว่างที่เข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาล ผู้ป่วยเหล่านี้มีอาการไอ มีไข้ หายใจลำบาก อูจจาระร่วง ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย ไม่มีแรง ปวดกล้ามเนื้อ และมีอาการแน่นหน้าอกในระหว่างระยะการติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ผู้ป่วยทั้งหมดมีการแสดงการดูดซับรอยโรค (lesion absorption) ของปอด อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) แล้วกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) มีผลสืบเนื่องมากกว่าในปอด เช่น เส้นใยไฟเบอร์ (fiber strands) และโรคหลอดลมโป่งพอง (bronchiectasis) ภาพประกอบเสริมที่ 1, A-D แสดงให้เห็นผู้ป่วย 2 คนชนิดที่มีอาการเล็กน้อยและอาการรุนแรงของโรคโควิด 19 ตอนเริ่มแรก (at baseline) และในช่วงระยะเวลา 3 เดือนหลังจากออกจากโรงพยาบาลแล้ว เพื่อหลีกเลี่ยงการติดเชื้อข้ามคน (cross-infection) จึงไม่มีการสแกนสมองด้วยการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (brain MRI scans) ในระหว่างที่ผู้ป่วยเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลในเดือนมีนาคม แต่ได้มีการดำเนินการในช่วงปลายเดือนมิถุนายนและต้นเดือนกรกฎาคมแทน ซึ่งเป็นช่วงระยะเวลาประมาณ 3 เดือนภายหลังจากที่ออกจากโรงพยาบาลแล้ว ผู้ป่วยทั้งหมดไม่มีการแสดงรอยโรคที่ชัดเจนในการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าปกติ (conventional MRI) ช่วงระยะเวลาเฉลี่ยนับจากออกจากโรงพยาบาลจนถึงมีการสแกนด้วยการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI scanning) อยู่ที่  $101.21 \pm 12.24$  วัน อาสาสมัครที่มีสุขภาพดีไม่ได้ป่วยเป็นโรคโควิด 19 จำนวน 31 คนซึ่งได้รับการจับคู่สำหรับอายุ เพศ และการศึกษาได้รับการลงทะเบียนเข้าร่วมเป็นกลุ่มควบคุมปกติ (normal control group).

**Table 1. Demographic information of recovered COVID-19 groups and the control group**

	COVID-19 group (n = 51)		Control group (n = 31)	P, (MG-NC)	P, (SG-NC)	P, (MG-SG)
	Mild (n = 19)	Severe (n = 32)				
Age, years	59.37 $\pm$ 5.87	63.19 $\pm$ 5.37	60.58 $\pm$ 6.42	0.507 <sup>A</sup>	0.085 <sup>A</sup>	<b>0.022<sup>A</sup></b>
Sex, male/female	7/12	16/16	18/13	0.774 <sup>B</sup>	0.616 <sup>B</sup>	0.398 <sup>B</sup>
Education, years	11.05 $\pm$ 3.12	10.84 $\pm$ 2.67	10.48 $\pm$ 3.51	0.789 <sup>A</sup>	0.960 <sup>A</sup>	0.800 <sup>A</sup>
Handedness, right/left	19/0	32/0	31/0	–	–	–
Hematocrit (%)	44.69 $\pm$ 3.05	44.92 $\pm$ 3.95	–	–	–	0.835 <sup>A</sup>
Underlying diseases, n (%)						
Hypertension	3 (16)	17 (53)	11 (35)	0.123 <sup>B</sup>	0.159 <sup>B</sup>	0.008 <sup>B</sup>
Diabetes	2 (11)	7 (22)	2 (6)	0.606 <sup>B</sup>	0.080 <sup>B</sup>	0.304 <sup>B</sup>
Coronary heart disease	1 (5)	3 (9)	1 (3)	0.722 <sup>B</sup>	0.668 <sup>B</sup>	0.597 <sup>B</sup>
Symptoms, n (%)			–			
Cough	13 (68)	25 (78)	–			
Fever	16 (84)	27 (84)	–			
Dyspnea	2 (11)	6 (19)	–			
Diarrhea	4 (21)	7 (22)	–			
Headache	1 (5)	5 (16)	–			
Fatigue	5 (26)	15 (47)	–			
Myalgia	2 (11)	6 (19)	–			
Chest tightness	5 (26)	14 (43)	–			
Inflammatory markers			–			
CRP	12.07 $\pm$ 20.03	91.40 $\pm$ 63.14	–	–	–	<b>0.000<sup>A</sup></b>
PCT	0.04 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.12	–	–	–	<b>0.001<sup>A</sup></b>
IL-6	5.63 $\pm$ 8.87	28.68 $\pm$ 43.06	–	–	–	<b>0.041<sup>A</sup></b>

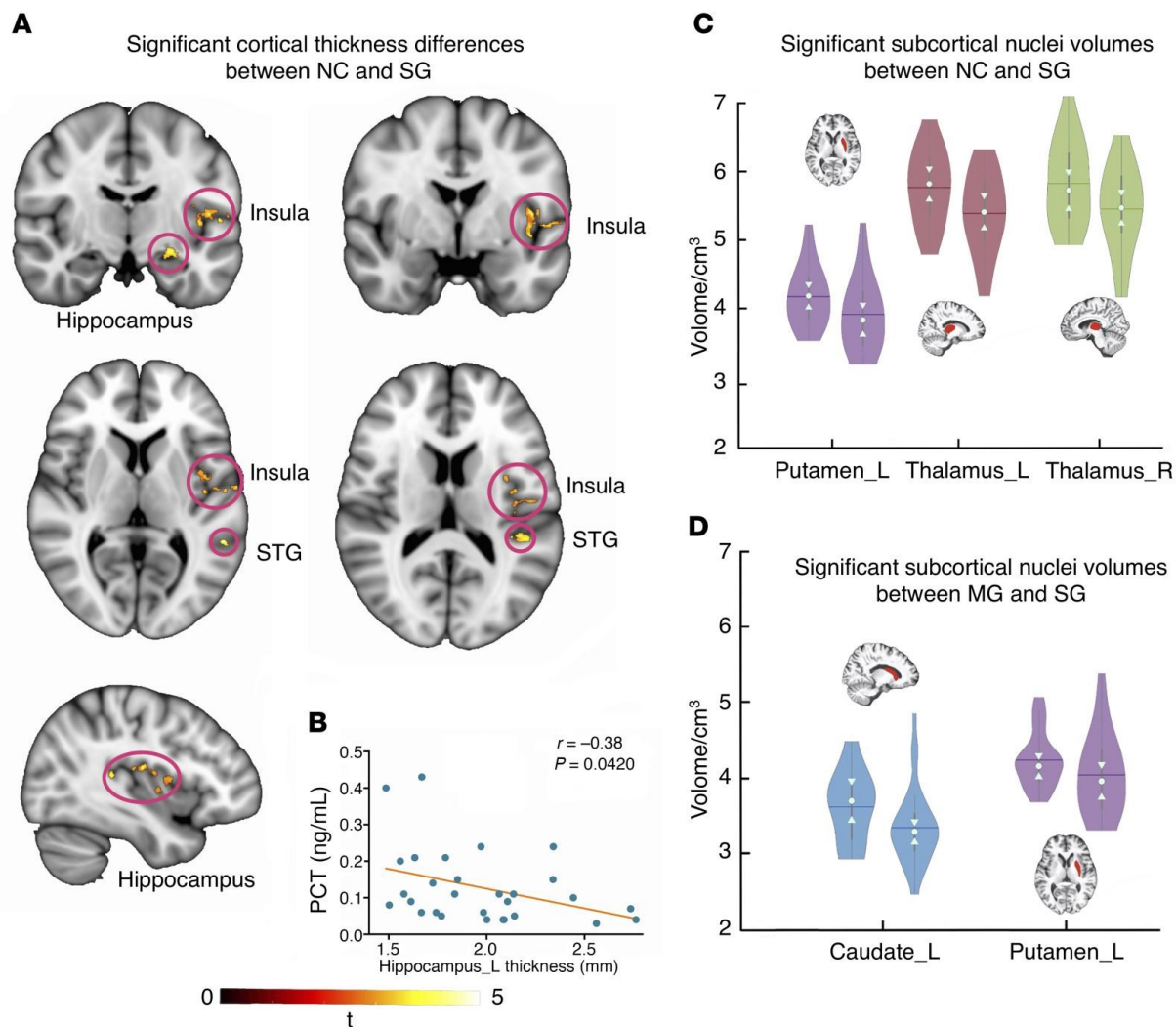
The significant differences are labeled in bold.  $P < 0.05$ . Data are mean  $\pm$  SD. <sup>A</sup>Significance of 2-sample  $t$  test. <sup>B</sup>Significance of  $\chi^2$  test.

การเปรียบเทียบความหนาของเปลือกสมอง (*cortical thickness*) และปริมาตรของส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (*subcortical volume*). เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ (NC group) แล้วกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) แสดงให้เห็นถึงความหนาของเปลือกสมอง (*cortical thickness*) ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (การทดสอบวิธี voxel-wise permutation test,  $P < 0.05$ ) ในสมองส่วน insula ด้านซ้าย (ภาพประกอบ 2A) (cluster volume [CV]: 1742 mm<sup>3</sup>, peak Montreal Neurological Institute [MNI] coordinates: -52 -14 12, peak  $t$  value [ $t$ ]: 5.4172), สมองส่วน hippocampus ด้านซ้าย (CV: 327 mm<sup>3</sup>, MNI: -25 -11 -12,  $t$ : 4.178) และในส่วน superior temporal gyrus ด้านซ้าย (CV: 366 mm<sup>3</sup>, MNI: -40 -35 11,  $t$ : 5.2035) เราสังเกตไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มควบคุมปกติ (NC group) กับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) หรือระหว่างกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) กับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) การวิเคราะห์เชิงสหสัมพันธ์ต่อมาได้แสดงให้เห็นว่าความหนาของเปลือกสมอง (*cortical thickness*) ของสมองส่วน hippocampus ด้านซ้ายมีสหสัมพันธ์ในเชิงลบกับ procalcitonin (PCT) ในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) (ภาพประกอบ 2B)



## ภาพประกอบที่ 2

การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา (**morphology**) ของเปลือกสมองและส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมองในผู้ป่วยที่ฟื้นตัวจากโรคโควิด 19.



(A) ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของความหนาของเปลือกสมอง (**cortical thickness**) ระหว่างกลุ่มควบคุมปกติ (NC group) กับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG). (B) สหสัมพันธ์กันเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญระหว่างความหนาของสมองส่วน hippocampus ด้านซ้ายกับค่าตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory marker) procalcitonin (PCT) ในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) ( $r = -0.38$ ,  $P = 0.0420$ ). ผลที่ได้จากการเปรียบเทียบปริมาตรของนิวเคลียสในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (**subcortical nuclei**) ระหว่างกลุ่มควบคุมปกติ (NC group) กับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) (C) (ซ้าย: กลุ่มควบคุมปกติ; ขวา: กลุ่มที่มีอาการรุนแรง), และระหว่างกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) กับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) (D) (ซ้าย: กลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย; ขวา: กลุ่มที่มีอาการรุนแรง) ตามที่แสดงในรูป violin plot. ขนาดของลำเส้นกราฟ (trunk size) แสดงถึงความหนาแน่นของความเป็นไปได้ (probability density) ของข้อมูลที่ค่าต่าง ๆ กัน ยิ่งลำเส้นกราฟ (trunk) มีขนาดใหญ่ขึ้นก็หมายถึงค่าที่ยิ่งหนาแน่นมากขึ้นที่ระดับนั้น ๆ ส่วนหัวหรือรอยบาก (notch) แสดงถึงค่ากลางมัธยฐาน (median) ที่ 25% และค่าพิสัยระหว่างควอไทล์

(interquartile range) ที่ 75% ค่าเฉลี่ยเลขคณิต (mean) ของกลุ่มแสดงเป็นเส้นทึบ ซึ่งส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) มีมากขึ้น violin plot ก็ยังมีขนาดผอมเล็กลง. Slices ของสมองในนิวเคลียสของส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างเปลือกสมอง (subcortical nuclei) ได้รับการตัดแยก (extracted) จากผู้ป่วยอาสาสมัคร. violin plots ด้านซ้ายแสดงถึงกลุ่มควบคุมปกติ (NC)/กลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG); violin plots ด้านขวาแสดงถึงกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG). STG = superior temporal gyrus. ขนาดกลุ่มตัวอย่าง (sample sizes): กลุ่มควบคุมปกติ (NC)  $n = 31$ ; กลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG)  $n = 19$ ; กลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG)  $n = 32$ . การทดสอบ permutation test,  $p < 0.05$ .

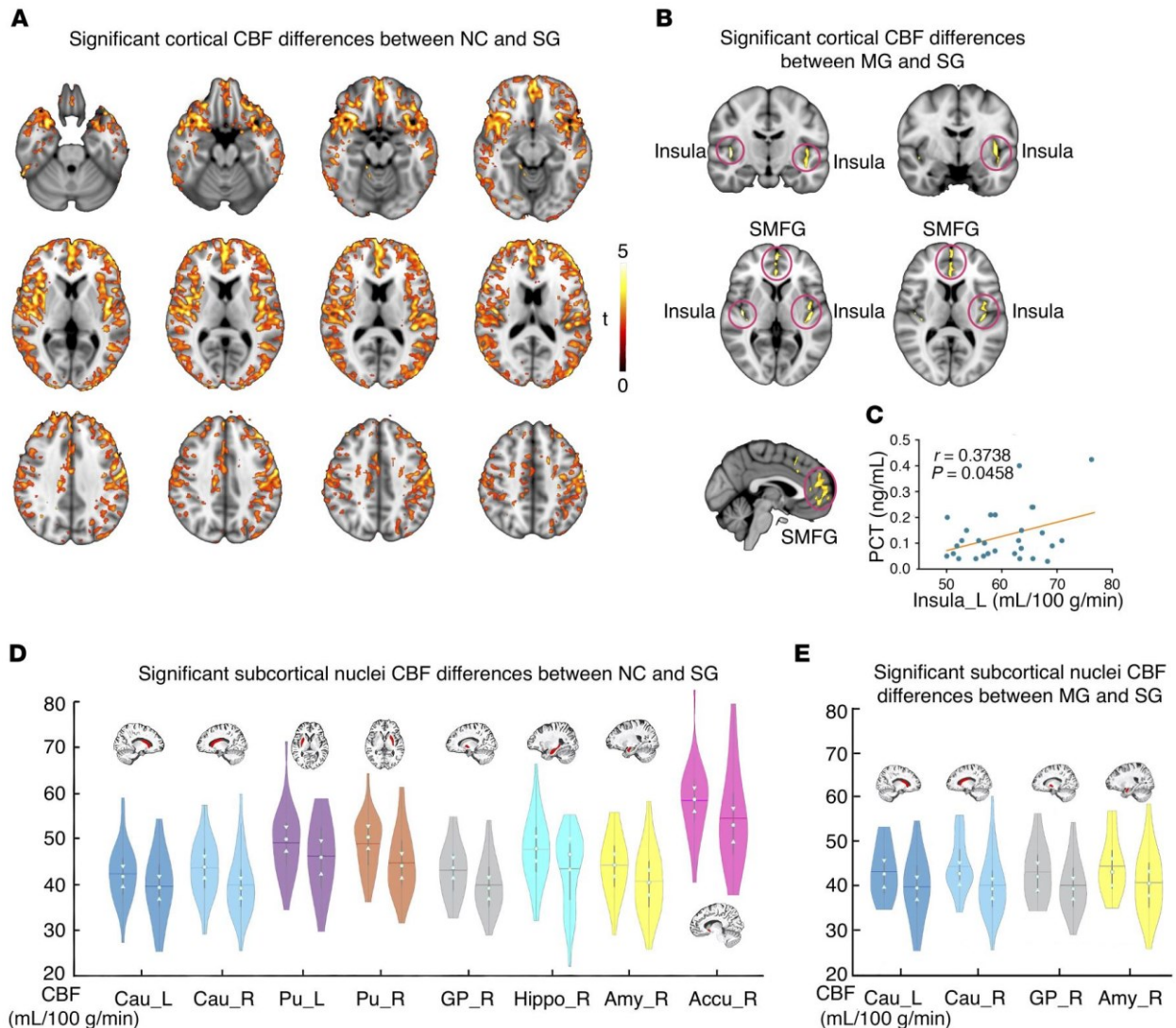
ในการเปรียบเทียบสมองในนิวเคลียสของส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างเปลือกสมอง (subcortical nuclei) มีการเก็บปริมาตรของนิวเคลียสจำนวน 14 รายการจากขั้นตอนการเตรียมข้อมูลก่อนการประมวลผลภาพ (preprocessing) ได้แก่ caudate ด้านซ้าย caudate ด้านขวา putamen ด้านซ้าย putamen ด้านขวา thalamus ด้านซ้าย thalamus ด้านขวา globus pallidus ด้านซ้าย globus pallidus ด้านขวา hippocampus ด้านซ้าย hippocampus ด้านขวา amygdala ด้านซ้าย amygdala ด้านขวา accumbens ด้านซ้าย และ accumbens ด้านขวา สำหรับการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มต่าง ๆ กลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) มีแนวโน้มที่จะมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของปริมาตร putamen ด้านซ้าย ( $P = 0.0202$ ) thalamus ด้านซ้าย ( $P = 0.0370$ ) และ thalamus ด้านขวา ( $P = 0.0084$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ (ภาพประกอบ 2C) นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) มีการแสดงถึงการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของปริมาตรของ caudate ด้านซ้าย ( $P = 0.0368$ ) และของ putamen ด้านซ้าย ( $P = 0.0284$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) (ภาพประกอบ 2D)

การเปรียบเทียบการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF). สำหรับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) ค่าอัตราการไหลเวียนของเลือดในสมองโดยปกติทั่วไปต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ , voxel-wise permutation test) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ (NC) ตลอดทั่วเปลือกสมองเนื้อสีเทา (gray matter cortex) และค่าสูงสุด (peak value) ถูกสังเกตพบใน insula ด้านซ้าย (ภาพประกอบ 3A, MNI: -43 -6 1,  $t$ : 6.0816) นอกจากนี้ส่วน peak region insula ได้รับการตัดแยกด้วยมือ (manually extracted) เพื่อทำการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (correlational analysis) กับระดับของตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory markers) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) แล้ว (ภาพประกอบ 3B) กลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) มีการแสดงค่าอัตราการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF) ที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญของสมองส่วน bilateral superior medial frontal gyrus (CV: 3417 mm<sup>3</sup>, MNI: 1 51 24,  $t$ : 5.6017) ส่วน insula ด้านซ้าย (CV: 2650 mm<sup>3</sup>, MNI: -43 -11 -9,  $t$ : 5.3929) และส่วน insula ด้านขวา (CV: 381 mm<sup>3</sup>, MNI: 43 -15 2,  $t$ : 5.377) อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มควบคุมปกติ (NC) กับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าอัตราการไหลเวียนของเลือดในสมองเฉลี่ย (mean CBF) ของ insula ด้านซ้ายในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) มีสหสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับระดับของ procalcitonin (PCT) (ภาพประกอบ 3C)



### ภาพประกอบที่ 3

ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการไหลเวียนของเลือดในสมองบริเวณเปลือกสมองและบริเวณส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมองระหว่างกลุ่มต่าง ๆ. (A) กลุ่มควบคุมปกติ ( $n = 31$ ) กับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง ( $n = 32$ ). (B) กลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย ( $n = 19$ ) กับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง ( $n = 32$ ). (C) สหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญในเชิงบวกระหว่างการไหลเวียนของเลือดในสมองส่วน insula ด้านซ้ายกับค่าตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory marker) procalcitonin (PCT) ในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง ( $r = 0.3738$ ,  $P = 0.0458$ ). ผลที่ได้จากการเปรียบเทียบการไหลเวียนของเลือดในสมองในนิวเคลียสของส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างเปลือกสมอง (subcortical nuclei) ระหว่างกลุ่มต่าง ๆ: (D) กลุ่มควบคุมปกติกับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง; (E) กลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยกับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง. SMFG = superior medial frontal gyrus. ด้านซ้ายของภาพสมองจริง ๆ แล้วคือด้านขวาของสมอง. Accu = accumbens; Amy = amygdala; Cau = caudate; GP = globus pallidus; Hippo = hippocampus; Pu = putamen; L = ซ้าย; R = ขวา. violin plots ด้านซ้ายแสดงถึงกลุ่มควบคุมปกติ/กลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย, violin plots ด้านขวาแสดงถึงกลุ่มที่มีอาการรุนแรง. Permutation test,  $P < 0.05$ .



สำหรับการเปลี่ยนแปลงของอัตราการไหลเวียนของเลือดในนิวเคลียสในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical nuclei) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ (NC) กลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) มีการแสดงถึงการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของค่าอัตราการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF values) ในส่วน caudate ด้านซ้าย ( $P = 0.0460$ ) caudate ด้านขวา ( $P = 0.0140$ ) putamen ด้านซ้าย ( $P = 0.0344$ ) putamen ด้านขวา ( $P = 0.0048$ ) globus pallidus ด้านขวา ( $P = 0.0106$ ) hippocampus ด้านขวา ( $P = 0.0166$ ) amygdala ด้านขวา ( $P = 0.0160$ ) และ accumbens ด้านขวา ( $P = 0.0194$ ; [ภาพประกอบ 3D](#)) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) กลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) มีการแสดงถึงค่าอัตราการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF values) ที่ลดต่ำลงในส่วน caudate ด้านซ้าย ( $P = 0.0346$ ) caudate ด้านขวา ( $P = 0.0162$ ) globus pallidus ด้านขวา ( $P = 0.0208$ ) และ amygdala ด้านขวา ( $P = 0.0258$ ) ([ภาพประกอบ 3E](#)) เราสังเกตไม่พบว่ามีผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มควบคุมปกติ (NC) กับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG)

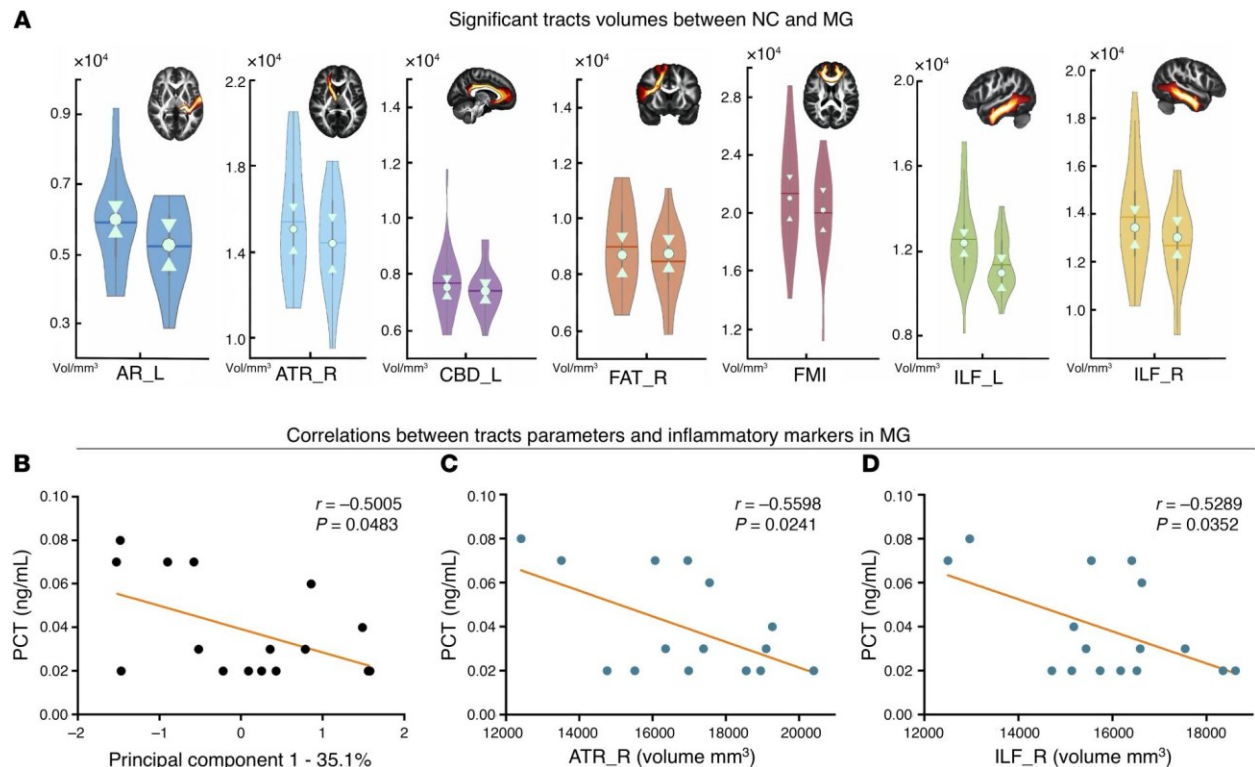
การวิเคราะห์สมองส่วนเนื้อสีขาวโดยใช้โปรแกรม *XTRACT (white matter XTRACT)*. สำหรับลำเส้นใยประสาท (tract) ที่จำเพาะเจาะจงซึ่งประมาณ (estimated) จากผู้ป่วยอาสาสมัครนั้น ๆ ลักษณะรูปร่าง (shape) และตำแหน่ง (position) ของลำเส้นใยประสาท (tract) นั้นมีความแตกต่างกันเล็กน้อย และเป็นเรื่องที่ไม่เหมาะสมที่จะทำการเปรียบเทียบชนิด spatially corresponding voxel-wise comparison สำหรับลำเส้นใยประสาท (tract) นั้น ๆ โปรแกรม XTRACT ให้ค่าสถิติหลังการวิเคราะห์มากมายหลายรายการ (multiple postanalysis statistics) มีการแสดงค่าสถิติที่มีความหมาย (meaningful) 3 ตัว ได้แก่ ปริมาตร ความยาว และค่า fractional anisotropy (FA) กล่าวโดยจำเพาะปริมาตรเป็นค่าสถิติชนิด voxel-wise statistic ทุก ๆ voxel ที่สอดคล้องเข้าเกณฑ์ threshold ของการประมาณ (estimation) สำหรับการทำ probabilistic diffusion tractography ได้รับการพิจารณา และขนาดของ voxel-wise trajectory ทั้งหมดได้รับการพิจารณาว่าเป็นปริมาตร ค่าปริมาตรนี้เป็นค่าสถิติที่มีความไว (sensitive) และเที่ยงตรงแม่นยำ (accurate) มากที่สุดในลำเส้นใยประสาท (tract) นั้น ๆ และถูกใช้เป็นค่าสถิติเชิงปริมาณที่ดีที่เหมาะสมมากที่สุด (optimal) ค่าความยาวทางสถิติ (statistic length) เป็นไปตามหลักตรรกะอย่างเดียวกัน แต่เนื่องจากลักษณะรูปร่างที่แตกต่างกันเล็กน้อยของ trajectory นั้น ๆ ความยาวจึงไม่ได้รับการพิจารณาให้เป็นค่าสถิติที่ดีหรือที่เหมาะสม ค่า fractional anisotropy (FA) เป็นตัวชี้วัดชนิด tract-wise อย่างหยาบซึ่งแสดงเพียงแค่ว่าข้อมูลที่น่า (suggestive) และคลุมเครือ (vague) เกี่ยวกับลำเส้นใยประสาท (tract) ที่จำเพาะเจาะจงนั้น การเปรียบเทียบที่มีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มต่าง ๆ ได้รับการทำเครื่องหมาย (marked) และแสดงไว้ใน [ตารางเสริมที่ 1](#); ข้อมูลเสริมสามารถหาได้ทางออนไลน์ที่เว็บไซต์ <https://doi.org/10.1172/JCI147329DS1> เราพบว่าการลดลงที่แพร่กระจาย (widespread decrease) ของปริมาตร ความยาว และค่า fractional anisotropy เฉลี่ย (mean FA values) ในมัดใยประสาทประสานงาน (association fiber bundle) มัดใยประสาทเชื่อมซีกสมอง (commissural fiber bundle) มัดใยประสาทโปรเจกชัน (projection fiber bundle) และมัดใยประสาทลิมบิก (limbic fiber bundle) ในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) และกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ (NC)

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ (NC) กลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของลำเส้นใยประสาท (tract changes) จำนวน 17 รายการในการวัด 3 อย่างที่แตกต่างกัน (ปริมาตร: 7 รายการ; ความยาว: 8 รายการ; fractional anisotropy: 2 รายการ; [ตารางเสริมที่ 1](#)) สำหรับปริมาตรของพารามิเตอร์กลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) มีค่าโดยรวมลดต่ำลงในส่วนของ acoustic radiation (AR) ด้านซ้าย ( $P = 0.0076$ ) anterior thalamic radiation (ATR) ด้านขวา ( $P = 0.0264$ ) cingulum bundle ด้านซ้าย dorsal (CBD) ( $P = 0.0410$ ) frontal aslant tract (FAT) ด้านขวา ( $P = 0.0464$ ) forceps minor (FMI) ( $P = 0.0410$ ) inferior longitudinal fasciculus (ILF) ด้านซ้าย ( $P = 0.0084$ ) และ ILF ด้านขวา ( $P = 0.0094$ ; [ภาพประกอบ 4A](#)) จากการวัดค่าการวัดลำเส้นใยประสาท (tract measurements) ที่แตกต่างกัน 17 รายการเหล่านี้จึงทำให้ได้องค์ประกอบหลักอันดับแรก (first principal component หรือ PC1) ซึ่งเป็นตัวแทนของ 35.1% ของความแปรปรวน

ทั้งหมด (total variance) ของพารามิเตอร์ต่าง ๆ กัน การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ซึ่งกันและกันพบว่า PC1 มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญแค่เพียงกับ 1 ใน 3 ตัวของตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory markers) เท่านั้น คือ PCT ( $P = 0.0483$ , [ภาพประกอบ 4B](#)) เพื่อที่จะคำนวณการมีส่วนร่วม (contribution) ของลำเส้นใยประสาทต่าง ๆ กัน การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ต่าง ๆ กันกับ PCT ได้รับการคำนวณ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาตรของ ATR ด้านขวา ([ภาพประกอบ 4C](#)) และ ILF ด้านขวา ([ภาพประกอบ 4D](#)) มีสหสัมพันธ์ในเชิงลบ และ อย่าง มี นัย สำคัญ กับ PCT ใน กลุ่ม ที่มี อาการ เล็ก น้อย (MG)

#### ภาพประกอบที่ 4

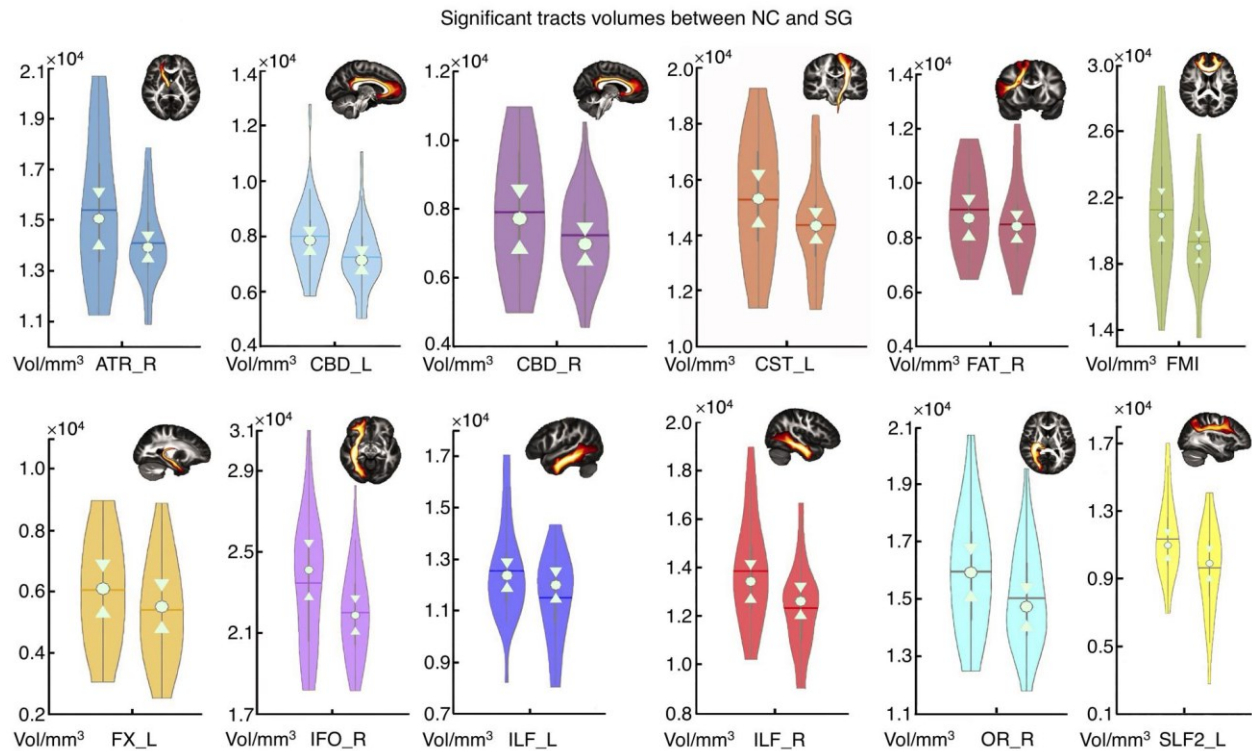
การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มและการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย. (A) ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาตรลำเส้นใยประสาท (tract volume) ระหว่างกลุ่มควบคุมปกติ ( $n = 31$ ) กับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย ( $n = 19$ ). Permutation test,  $P < 0.05$ . Brain slice ของลำเส้นใยประสาท (tract) ที่จำเพาะเจาะจงจากประชากรของ Human Connectome Project (HCP) แสดงที่มุมด้านขวา. เพื่อให้เป็นมาตรฐาน (standardization) ลำเส้นใยประสาทเหล่านี้ได้รับการคัดแยก (extracted) ออกจากประชากร HCP แทนที่จะเป็นลำเส้นใยประสาทที่จำเพาะเจาะจงของผู้ป่วยอาสาสมัคร. PC1 (B) และปริมาตรของ ATR ด้านขวา (C) และ ILF ด้านขวา (D) แสดงให้เห็นถึงสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับระดับของ PCT ในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย ( $P < 0.05$ ). Violin plots ด้านซ้ายแสดงกลุ่มควบคุมปกติ; violin plots ด้านขวาแสดงกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย.



เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ (NC) กลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของลำเส้นใยประสาท (tract changes) จำนวน 33 รายการใน 3 พารามิเตอร์ที่แตกต่างกัน (ปริมาตร: 12 รายการ; ความยาว: 5 รายการ; ค่า fractional anisotropy: 16 รายการ; ตารางเสริม 1) สำหรับปริมาตรของพารามิเตอร์กลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) แสดงให้เห็นถึงค่าโดยรวมที่ต่ำลงของ ATR ด้านขวา ( $P = 0.0134$ ) CBD ด้านซ้าย ( $P = 0.0076$ ) CBD ด้านขวา ( $P = 0.0312$ ) corticospinal tract (CST) ด้านซ้าย ( $P = 0.0412$ ) FAT ด้านขวา ( $P = 0.0284$ ) FMI ( $P = 0.0130$ ) fornix (FX) ด้านซ้าย ( $P = 0.0232$ ) inferior fronto-occipital fasciculus (IFO) ด้านขวา ( $P = 0.0162$ ) ILF ด้านซ้าย ( $P = 0.0046$ ) ILF ด้านขวา ( $P = 0.0014$ ) optic radiation (OR) ด้านขวา ( $P = 0.0146$ ) และ superior longitudinal fasciculus II (SLF2) ด้านซ้าย ( $P = 0.0206$ ; ภาพประกอบที่ 5) สังกัดว่าปริมาตรของ ATR ด้านขวา CBD ด้านซ้าย FAT ด้านขวา FMI ILF ด้านซ้าย และ ILF ด้านขวามีการลดลงในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย (MG) และกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (SG) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ (NC) พร้อมกับลำเส้นใยประสาท (tracts) เหล่านี้ที่เปลี่ยนแปลงไป ( $n = 33$ ) PC1 จึงได้รับการคำนวณ ซึ่งเป็นตัวแทนของ 26.1% ของความแปรปรวนทั้งหมด (total variance) ของพารามิเตอร์ต่าง ๆ การวิเคราะห์สหสัมพันธ์บ่งชี้ว่า PC1 มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญเฉพาะกับ IL-6 เท่านั้น ( $P = 0.0430$ ; ภาพประกอบ 6A) เพื่อที่จะคำนวณการมีส่วนร่วม (contribution) ของสมองส่วนเนื้อสีขาว (white matters) สหสัมพันธ์ของลำเส้นใยประสาทต่าง ๆ กับ IL-6 จึงได้รับการคำนวณ การวิเคราะห์สหสัมพันธ์แสดงให้เห็นว่าปริมาตรของ corticospinal tract (CST) ด้านซ้ายและ OR ด้านขวามีสหสัมพันธ์กันในเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับ IL-6 นอกจากนี้แล้วค่า fractional anisotropy (FA) ทางด้านซ้ายของ middle longitudinal fasciculus (MDLF) ก็ยังมีสหสัมพันธ์กันในเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับ IL-6 อีกด้วย (ภาพประกอบที่ 6, B-D)

## ภาพประกอบที่ 5

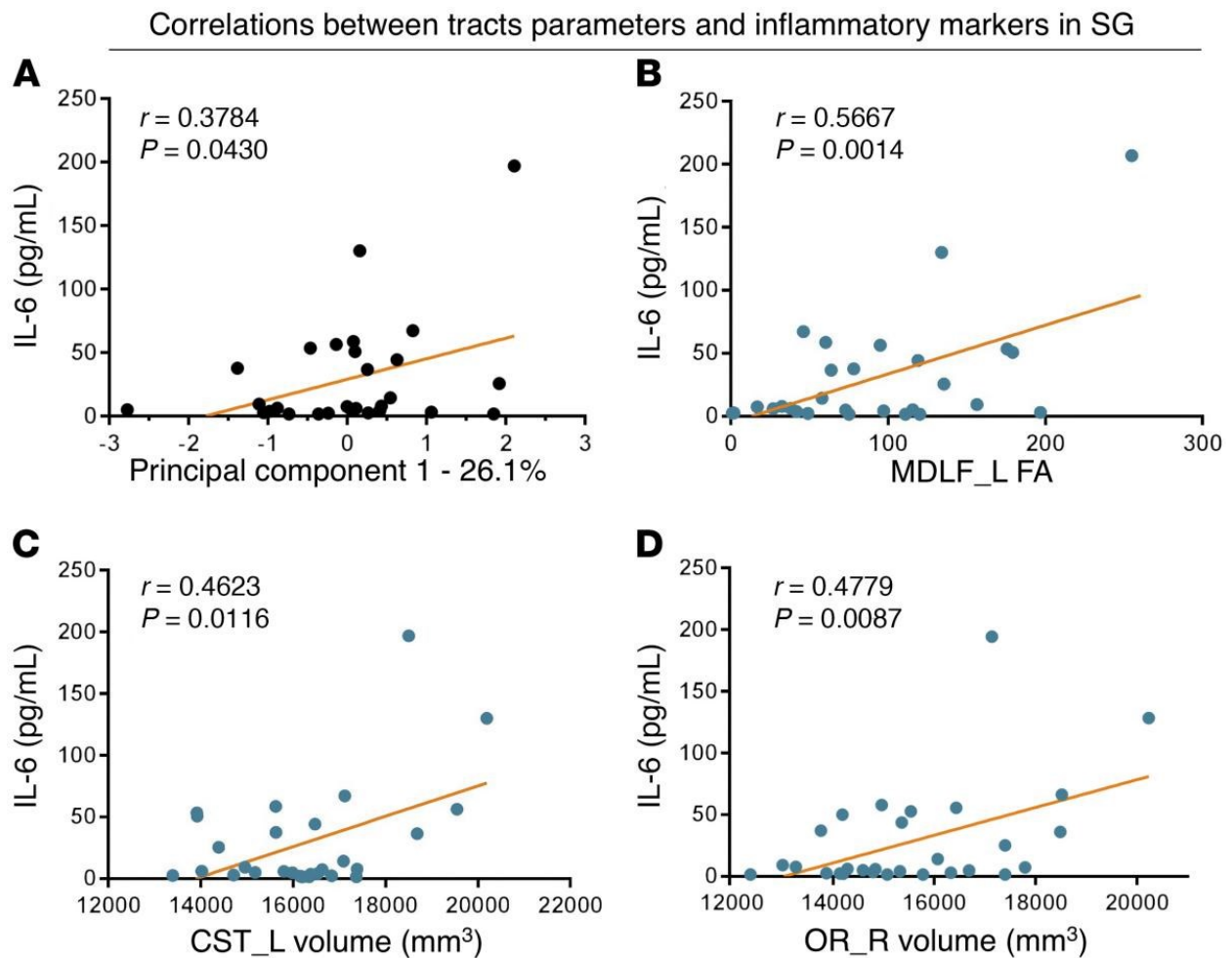
ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาตรลำเส้นใยประสาท (**tracts**) ระหว่างกลุ่มควบคุมปกติ (**NC**) กับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (**SG**). Violin plots สำหรับกลุ่มควบคุมปกติ (plots ด้านซ้าย,  $n = 31$ ) และกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (plots ด้านขวา,  $n = 32$ ). Permutation test,  $P < 0.05$ . Brain slice ของลำเส้นใยประสาท (tract) ที่จำเพาะเจาะจงจากประชากรของ Human Connectome Project (HCP) แสดงที่มุมด้านขวา. เพื่อให้เป็นมาตรฐาน (standardization) ลำเส้นใยประสาทเหล่านี้ได้รับการคัดแยก (extracted) ออกจากประชากร HCP แทนที่จะเป็นลำเส้นใยประสาทที่จำเพาะเจาะจงของผู้ป่วยอาสาสมัคร.





## ภาพประกอบที่ 6

สหสัมพันธ์ระหว่างลำเส้นใยประสาท (**tracts**) ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (**inflammatory markers**) ในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (**SG**). สหสัมพันธ์ระหว่าง PC1 (**A**), fractional anisotropy (FA) ของ MDLF ด้านซ้าย (**B**), ปริมาตรของ CST ด้านซ้าย (**C**), ปริมาตรของ OR ด้านขวา (**D**), และ IL-6 ตามลำดับ. L = ซ้าย; R = ขวา.  $n = 32$ ;  $P < 0.05$ .





## การอภิปราย (Discussion)

ข้อมูลต่าง ๆ ที่เราพบ (findings) แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยโควิด 19 ประเภทที่มีอาการเล็กน้อย (mild type) และประเภทที่มีอาการรุนแรง (severe type) ที่ไม่มีการแสดงออกทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจง (specific neurological manifestations) หรือรอยโรคที่ชัดเจน (obvious lesions) ในการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าตามปกติ (conventional MRI) นั้น ถึงแม้ว่ามีการพบบางอย่างขึ้นจริงจากโรคปอดบวม แต่ก็ยังคงมีการแสดงออกให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ของโครงสร้างจุลภาคของสมอง (brain microstructure changes) และการลดลงของการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF) ภายหลังจากการติดตามอาการเป็นเวลา 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นผู้ที่มีสุขภาพดี พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงแค่เพียงเล็กน้อยในลำเส้นใยประสาทของสมองส่วนเนื้อสีขาว (white matter tract) สำหรับผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย และไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในสมองส่วนเนื้อสีเทา (gray matter) และการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF) การลดลงของความหนาของเปลือกสมอง (cortical thickness) การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลภาคในสมองส่วนเนื้อสีขาว และการลดลงของ regional CBF ในผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงมีความลึกซึ้ง รุนแรง และกว้างขวางมากกว่าในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน frontal และ limbic systems นอกจากนี้แล้วการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลภาคในสมอง และการลดลงของการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF) ก็มีความสัมพันธ์กันเป็นอย่างดีกับระดับของตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory markers) ในผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรง ความผิดปกติในสมองเหล่านี้จะสามารถช่วยให้แพทย์เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับผลสืบเนื่องทางระบบประสาทที่มีความเป็นไปได้ (potential neurological sequelae) จากโรคโควิด 19

*ความผิดปกติของเปลือกสมอง (Cortical abnormality).* ปรากฏว่าสภาพความปกติสมบูรณ์ของสมอง (brain integrity) มีความแปรปรวนต่อการอักเสบทั่วร่างกาย (systemic inflammation) ในระหว่างการเจ็บป่วยขั้นวิกฤต ในการศึกษาวิจัยของเราผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของความหนาของเปลือกสมอง (cortical thickness) ในส่วนของ insula ด้านซ้าย hippocampus ด้านซ้าย และ superior temporal gyrus ด้านซ้ายเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยกับกลุ่มควบคุมปกติ การศึกษาวิจัยของ Lindlau และคณะ (15) ได้เสนอแนะว่าระดับที่สูงของ PCT และ IL-6 ในซีรัมของผู้ป่วยขั้นวิกฤตมีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับระดับความเป็นไปได้ที่สูงขึ้นของภาวะสมองฝ่อในส่วนของฮิปโปแคมปัส (hippocampal atrophy) ในช่วงระยะ 6 เดือนหลังจากผู้ป่วยออกจากหออภิบาลผู้ป่วยวิกฤต (ICU) ในทำนองเดียวกันเรายังพบด้วยว่าภาวะสมองฝ่อในส่วนของฮิปโปแคมปัสมีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับ PCT ในผู้ป่วยที่ฟื้นตัวจากโรคโควิด 19 สมองส่วนฮิปโปแคมปัส (hippocampus) มีบทบาทสำคัญทั้งในกระบวนการสร้างความจำ (memory formation) และในการนำทางเชิงพื้นที่ (spatial navigation) ตลอดจนมีความสามารถ (capacity) ในการสนับสนุนความคิดที่ยืดหยุ่น (flexible cognition) และพฤติกรรม (behavior) (16) นอกจากนี้ก็ยังมีการแสดงให้เห็นว่าปริมาตรของฮิปโปแคมปัส (hippocampus) มีความอ่อนไหว ไว (sensitive) ต่อความรุนแรงของความเครียด (stress severity) (17) ในการศึกษาวิจัยของเราการติดเชื้อโรคโควิด 19 นับว่าเป็นเหตุการณ์ที่ก่อให้เกิดความเครียดอย่างมากสำหรับผู้ป่วยและแม้กระทั่งสำหรับสมาชิกในครอบครัวผู้ป่วยด้วย ด้วยเหตุนี้ความบกพร่องหรือการสูญเสียหน้าที่ของฮิปโปแคมปัส (hippocampal impairment) จึงอาจจะมีสาเหตุส่วนหนึ่งมาจากอิทธิพล (influence) ของเหตุการณ์ที่ก่อให้เกิดความเครียด (stressful event) และส่วนหนึ่งมาจากภาวะพร่องออกซิเจน (hypoxia) หรือกระบวนการอื่น ๆ การศึกษาวิจัยจากข้อมูลย้อนหลัง (retrospective study) เมื่อไม่นานมานี้เกี่ยวกับข้อมูลที่พบจากการตรวจสมองด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (brain MRI findings) ในการติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 เชียบพลันบ่งชี้ว่าความผิดปกติต่าง ๆ ของสัญญาณ (signal abnormalities) ในสมองกลีบขมับส่วนใน (medial temporal lobe) ปรากฏบ่อยครั้งมากขึ้นในผู้ป่วยโรคโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง (18) อย่างเช่นในกรณีของโรคไข้สมองอักเสบจากไวรัส (herpesvirus encephalitis) หรือโรคไข้สมองอักเสบภูมิคุ้มกันจากภาวะแพ้ภูมิตนเอง (autoimmune limbic encephalitis) จากการที่ไม่มีการแสดงออกเชิงพลันทางระบบประสาท ผู้ป่วยประเภทที่มีอาการรุนแรงซึ่งฟื้นตัวแล้วยังคงมีการแสดงภาวะสมองฝ่อ (atrophy) ของสมองส่วนเนื้อสีเทา (gray matter) ใน insula ด้านซ้าย hippocampus ด้านซ้าย และ superior temporal gyrus ด้านซ้ายในการศึกษาวิจัยนี้ ซึ่งทั้งหมดล้วนเป็นองค์ประกอบสำคัญของระบบลิมบิก (limbic system) การศึกษาวิจัย

ของเราซึ่งชี้ถึงความอ่อนแอหรือจุดอ่อน (vulnerability) ที่เป็นไปได้ของระบบลิมบิกสำหรับการติดเชื้อโรคโควิด 19 ซึ่งอาจจะสอดคล้องตรงกันเป็นบางส่วนกับบริเวณ angiotensin converting enzyme 2-rich (ACE-2-rich) ในสมอง

ในการศึกษาวิจัยนี้อัตราการไหลเวียนของเลือดในเปลือกสมองส่วน bilateral frontal และส่วน temporal cortex ในผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงโดยทั่วไปมีระดับต่ำกว่าในกลุ่มควบคุมปกติ โดยมีระดับต่ำสุดในส่วนของ insula ด้านซ้าย สอดคล้องกับการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ (19) ผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงที่มีความเกี่ยวข้องกับเปลือกสมองส่วน bilateral frontal และส่วน temporal อาจจะเผชิญกับภาวะขาดออกซิเจน (hypoxic state) ที่รุนแรงกว่ามาก ซึ่งอาจจะเป็นพยาธิกำเนิดพื้นฐาน (underlying pathogenesis) ในทางคลินิกแล้วการล้มเหลว (breakdown) หรือการทำหน้าที่ผิดปกติ (dysfunction) ของแนวกันระหว่างเลือดกับสมอง (blood brain barrier) สามารถมาพร้อมกันกับภาวะพร่องออกซิเจน (hypoxia) ซึ่งส่งผลให้เกิดการลดลงของการไหลเวียนของเลือดในส่วนเปลือกสมองโดยรวม (20) การเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยกับกลุ่มที่มีอาการรุนแรงได้แสดงให้เห็นว่าการไหลเวียนของเลือดที่ผิดปกติอย่างมีนัยสำคัญเกิดขึ้นในสมองส่วน bilateral insula และส่วน superior medial frontal gyrus

ในการวิเคราะห์ความหนาของเปลือกสมองและการไหลเวียนของเลือดในเปลือกสมอง สมองส่วน insula มีการแสดงออกซึ่งความผิดปกติอย่างเสมอต้นเสมอปลาย (constantly) ในการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม การศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ได้แสดงให้เห็นว่าเปลือกสมองส่วน insular cortex ถูกซ่อนอยู่ภายใต้เส้นเลือดแดงและเส้นเลือดดำที่หนาแน่น (21) ทำให้มันได้รับอิทธิพลได้ง่ายจากภาวะพร่องออกซิเจนที่เริ่มโดยโรคปอดบวม (pneumonia-introduced hypoxia) การผิดรูปร่าง (deformation) และการทำหน้าที่ผิดปกติ (dysfunction) ของ insula ในผู้ป่วยโรคโควิด 19 มีความชัดเจน มีหลักฐานเพียงพอที่แสดงว่า insula ส่งเสริมสนับสนุนการทำหน้าที่ต่าง ๆ มากมายในมนุษย์ ตั้งแต่การประมวลผลระบบการรับรู้และความรู้สึก (sensory and affective processing) ไปจนถึงกระบวนการทางความคิดความเข้าใจระดับสูง (high-level cognition) (21) ในขณะที่ผลกระทบเกี่ยวกับหน้าที่การทำงาน (functional impact) ที่แม่นยำแน่นอนจากความผิดปกติของ insula ยังคงไม่มีความชัดเจน นอกจากนี้ก็ยังมีคำอธิบายเป็นอย่างอื่นอีกด้วย สำหรับความหนาของสมองส่วนเนื้อสีเทา (gray matter thickness) ในตอนแรกสุดเราได้ใช้ภาพ 3 มิติ (3D-T1 images) ในการแยกส่วน (segment) สมองทั้งหมด (whole brain) ออกเป็นสมองส่วนเนื้อสีเทา (gray matter) ส่วนเนื้อสีขาว (white matter) และน้ำสมองไขสันหลัง (CSF) และต่อจากนั้นก็ใช้ค่า T1 values ในการประมาณความหนาของสมองส่วนเนื้อสีเทา ถ้าหากว่าการติดเชื้อโรคโควิด 19 ทำให้ภาพ T1 ของสมองส่วนเนื้อสีเทาเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งก็มีความเป็นไปได้จากการที่มีความเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลภาคของเนื้อเยื่อ ค่า T1 values ที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ก็อาจจะทำให้มันดูเหมือนว่าความหนาของสมองส่วนเนื้อสีเทาเปลี่ยนแปลงไปด้วย สิ่งที่พบ (finding) ที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่งก็คือในผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงการไหลเวียนของเลือดที่ไปเลี้ยงสมองส่วน insula ด้านซ้ายมีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์ในเชิงบวกไม่ใช่ว่าในเชิงลบกับ procalcitonin (PCT) มีความเป็นไปได้ว่าสหสัมพันธ์ในเชิงบวกอาจจะบ่งบอกว่ายังมีการอักเสบรุนแรงมากขึ้นความเสียหายในสมองส่วน insula ก็ยังมีความรุนแรงมากขึ้นตามไปด้วยในขณะที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาตัวในโรงพยาบาล เนื่องจากการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI) ดำเนินการในช่วง 3 เดือนหลังจากผู้ป่วยออกจากโรงพยาบาล เราจึงคาดการณ์ว่ายิ่งความเสียหายมีความรุนแรงมากขึ้นการฟื้นตัวก็จะยิ่งเป็นไปได้เร็วขึ้นสำหรับผู้ป่วยประเภทที่มีอาการรุนแรง การศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิจัยในเบื้องต้น และจำเป็นจะต้องมีการศึกษาวิจัยติดตามผลในระยะยาวเพิ่มเติมต่อไปเพื่อยืนยันสิ่งที่คาดนี้

ความผิดปกติของส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (Subcortical abnormality). การวิเคราะห์ปริมาตรนิวเคลียสในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง และการไหลเวียนของเลือดในสมองก็แสดงให้เห็นรูปแบบที่ลดลง (decreasing pattern) ซึ่งสอดคล้องตรงกันกับการวิเคราะห์ความหนาของเปลือกสมอง ซึ่งทำให้น่าเชื่อถือได้ว่าผลกระทบของโรคโควิด 19 เกิดอยู่ทั่วในสมอง (brain-wide) สมองส่วน bilateral thalamus และ putamen ด้านซ้ายแสดงให้เห็นถึงปริมาตรที่ลดลงในผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันของปริมาตรนิวเคลียสในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมองระหว่างกลุ่มควบคุมปกติกับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย ในขณะที่การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยกับกลุ่มที่มีอาการรุนแรงได้แสดงให้เห็นถึงความผิดปกติในส่วน

putamen และ caudate ด้านซ้าย สมอส่วน bilateral thalamus เป็นเป้าหมายที่อ่อนแอ (susceptible target) ต่อภาวะสมองอักเสบเฉียบพลันชนิด acute necrotizing encephalopathy (ANE) ที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับการสูญเสียเยื่อหุ้มเส้นประสาทชนิด late immune demyelination ในผู้ป่วยโรคโควิด 19 (6) และรวมทั้งบริเวณของสมองที่อ่อนไหว ไวต่อภาวะที่ร่างกายมีปริมาณออกซิเจนในเลือดต่ำกว่าปกติ (hypoxemia) สมอส่วน caudate และ putamen ในฐานะที่เป็นส่วนของ striatum ของมนุษย์มีความเด่นชัด (distinguished) จากความแตกต่างไม่เป็นเนื้อเดียวกันที่เด่นชัด (marked heterogeneity) ของรูปแบบ ในการทำหน้าที่ (functional pattern) รูปแบบทางกายวิภาคศาสตร์ (anatomical pattern) และรูปแบบทางประสาทเคมี (neurochemical pattern) (22) สำหรับการเปรียบเทียบการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF) ผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงได้แสดงให้เห็นถึงการลดลงของการไหลเวียนของเลือดในสมองที่แพร่กระจายออกไปมากกว่าในนิวเคลียสของส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical nuclei) ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ใน striatum และ amygdala เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย ผลที่ได้เหล่านี้ทำให้เราเชื่อได้ว่าความรุนแรงของโรคโควิด 19 อาจจะกระตุ้น (elicit) อิทธิพลต่างกัน (different influence) รวมทั้งความเสียหายต่อนิวเคลียสในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมองที่สำคัญ (critical subcortical nuclei) ควรมีการดำเนินการวิเคราะห์ติดตามการทำหน้าที่ (follow-up functional analysis) เพื่อคลี่คลายประเด็นความผิดปกติในการทำหน้าที่ที่ถูกต้องแม่นยำ (precise functional abnormality) ของนิวเคลียสในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical nuclei)

สำหรับการวิเคราะห์ลำเส้นใยประสาทของสมองส่วนเนื้อสีขาวในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical white matter tract analysis) เราได้ใช้เครื่องมือชนิดใหม่ที่มีความแข็งแกร่ง (robust) และสามารถทำซ้ำได้ (reproducible) คือ โปรแกรม XTRACT ซึ่งสามารถทำให้การสร้างลำเส้นใยประสาทของสมองเนื้อสีขาวขึ้นมาใหม่ (reconstruction) ในลักษณะที่สอดคล้องกันเสมอ (consistent) สำหรับผู้ป่วยอาสาสมัครทั้งหมด ในขณะที่ยังคงเคารพให้ความสำคัญต่อความแตกต่างทางกายวิภาคศาสตร์พื้นฐาน (underlying anatomical variation) และความแตกต่างระหว่างผู้ป่วยอาสาสมัครแต่ละคน (23) เราพบว่าการลดลงที่แพร่กระจาย (widespread decreases) ของปริมาตร ความยาว และค่า fractional anisotropy เฉลี่ยในมัดใยประสาทประสานงาน (association fiber bundle) มัดใยประสาทเชื่อมซีกสมอง (commissural fiber bundle) มัดใยประสาทโปรเจกชัน (projection fiber bundle) และมัดใยประสาทลิมบิก (limbic fiber bundle) ในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยและกลุ่มที่มีอาการรุนแรง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ ในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยและกลุ่มที่มีอาการรุนแรงปริมาตรของลำเส้นใยประสาทต่าง ๆ มากมายซึ่งอยู่ในกลุ่มมัดใยประสาทต่าง ๆ กัน 4 กลุ่มนี้มีการลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มที่มีอาการรุนแรงแสดงให้เห็นถึงการบกพร่องสูญเสียหน้าที่ (impairment) ของเส้นใย (fiber) มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย ลำเส้นใยประสาท (tracts) ที่มีนัยสำคัญ (ATR ด้านขวา CBD ด้านซ้าย FAT ด้านขวา FMI ILF ด้านซ้าย ILF ด้านขวา) มีการคาบเกี่ยวซ้อนกัน (overlapped) ในการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมปกติกับกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย และระหว่างกลุ่มควบคุมปกติกับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยกับกลุ่มที่มีอาการรุนแรง ซึ่งทำให้เราเชื่อได้ว่าโรคโควิด 19 สร้างความเสียหายให้กับสมองส่วนเนื้อสีขาวในขอบเขตต่าง ๆ กันทั้งในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยและในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง

สำหรับการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ ในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยการลดลงของปริมาตรของ ATR ด้านขวาและ ILF ด้านขวามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญกับการเพิ่มสูงขึ้นของ procalcitonin (PCT) ในระหว่างที่ผู้ป่วยเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาล ซึ่งบ่งชี้ว่ายิ่งการเจ็บป่วยมีความรุนแรงมากขึ้นปริมาตรของลำเส้นใยประสาทต่าง ๆ ก็ยิ่งต่ำลง นี่เป็นการบ่งชี้ว่าระดับที่สูงของตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory markers) ในระหว่างที่ผู้ป่วยเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลมีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับความเป็นไปได้ที่มากขึ้นของการสูญเสียปริมาตรในผู้ป่วยโรคโควิด 19 ที่พื้นผิว โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน frontal และ limbic systems สิ่งนี้สอดคล้องตรงกันกับการเปลี่ยนแปลงของความหนาของเปลือกสมองในการศึกษาวิจัยของเรา

เรายังพบข้อมูลอีกอย่างหนึ่งที่มีความน่าสนใจในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง ปริมาตรของ CST ด้านซ้ายและ OR ด้านขวารวมทั้งค่า fractional anisotropy (FA) เฉลี่ยของ MDLF ด้านซ้ายแสดงให้เห็นถึงสหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับระดับของ IL-6 ดังนั้นเราจึงได้ตั้งสมมติฐานว่าสมองส่วนเนื้อสีขาวอาจจะได้รับความเสียหายอย่างรุนแรงเนื่องจากการติดเชื้อโรคโควิด 19 โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับในผู้ป่วยที่มีการเจ็บป่วยรุนแรง ปริมาตรและค่า fractional anisotropy (FA) เฉลี่ยของลำเส้นใยประสาท (tracts) ในสมองส่วนเนื้อสีขาวอาจจะมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญในบริเวณต่าง ๆ ของสมอง อย่างไรก็ตามมันก็มีการฟื้นตัวอย่างค่อยเป็นค่อยไปหลังจากที่ผู้ป่วยได้รับการรักษา ยิ่งสภาวะโรคโควิด 19 มีความรุนแรงมากขึ้นก็ยิ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นในสมองส่วนเนื้อสีขาวในบริเวณสมองส่วนต่าง ๆ เราคาดการณ์ว่าการบาดเจ็บของสมองในผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงมีความรุนแรงมากกว่าในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยในระหว่างการเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาล เนื่องจากว่าอัตราการฟื้นตัวของลำเส้นใยประสาทบางส่วนในผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงเป็นไปอย่างรวดเร็วมากกว่าในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยหลังจาก 3 เดือนของการฟื้นตัว สิ่งนี้มีความคล้ายคลึงกันอย่างไรอย่างหนึ่งกับกระบวนการ structural remodeling ที่สังเกตพบในการแสดงออกของภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะ (arrhythmia) จากการติดเชื้อโรคโควิด 19 (24) ไม่ว่าสหสัมพันธ์จะเป็นไปในเชิงบวกหรือเชิงลบก็ตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจุลภาคของสมองส่วนเนื้อสีขาวก็มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับการอักเสบในระดับหนึ่ง ที่มีความสำคัญมากกว่านั้นก็คือในผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันระหว่างค่าการวัดการสร้างภาพสมอง (brain imaging measurements) กับตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory markers) มีความชัดเจนมากกว่าในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อย อย่างไรก็ตามกลไกพื้นฐานก็ยังคงไม่เป็นที่ชัดเจนและจำเป็นจะต้องมีการวิเคราะห์เชิงปริมาณเพิ่มเติมต่อไป

กลไกที่เป็นไปได้ของการบาดเจ็บของสมอง (*Potential mechanism of brain injury*). ถึงแม้ว่าจะมีการฟื้นตัวอย่างสิ้นเชิงจากอาการของโรคปอดบวมแล้วก็ตาม แต่ผู้ป่วยที่ฟื้นตัวจากโรคโควิด 19 ก็ยังคงมีการแสดงออกของการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจุลภาคของสมอง (brain microstructure) และการเปลี่ยนแปลงของการไหลเวียนของเลือดในสมอง (CBF) ในช่วงระยะ 3 เดือนหลังจากการฟื้นตัว น่าจะมีกลไกการก่อโรคที่เป็นไปได้หลายอย่างในการอธิบายถึงอิทธิพลของโรคโควิด 19 ที่มีผลต่อความเสียหายของสมอง (cerebral damage) เช่น โรคไขสมองอักเสบจากไวรัสโดยตรง (direct viral encephalitis) การทำหน้าที่ที่ผิดปกติของอวัยวะรอบนอก (peripheral organ dysfunction) (เช่น ปอด ตับ ไต) การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมอง (cerebrovascular changes) ตลอดจนการอักเสบของระบบต่าง ๆ ทั่วร่างกาย (systemic inflammation) (25) การแพร่กระจายของโรคโควิด 19 ในกระแสเลือดทั่วร่างกายหรือข้ามแผ่นกระดูกพรุน (cribriform plate) ของกระดูกเอทมอยด์ (ethmoid bone) สามารถนำไปสู่การมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับสมอง (cerebral involvement) ซึ่งมีการรายงานในอดีตสำหรับผู้ป่วยที่ได้รับผลกระทบจากเชื้อไวรัส SARS-CoV (26) นี่เป็นกลไกโดยตรง (direct mechanism) ของความเสียหายของสมองที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับโรคโควิด 19 ในระหว่างระยะเฉียบพลันซึ่งได้รับการรายงานในการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ (2, 4, 5) ในการศึกษาวิจัยติดตามอาการเป็นระยะเวลา 3 เดือนของเรา ผู้ป่วยไม่มีปัญหาทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจงหรือเฉียบพลันในระหว่างระยะเฉียบพลันของโรค และความแตกต่างหลัก ๆ ระหว่างกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยกับกลุ่มที่มีอาการรุนแรงก็คือว่ากลุ่มที่มีอาการรุนแรงมีภาวะพร่องออกซิเจน (hypoxic state) และ inflammatory storm ที่รุนแรงมากกว่า ที่สอดคล้องกันก็คือว่าค่าการวัดการสร้างภาพสมอง (brain imaging measurements) ในกลุ่มที่มีอาการรุนแรงเป็นไปครอบคลุมกว้างขวางมากกว่าในกลุ่มที่มีอาการเล็กน้อยเป็นอย่างมาก ซึ่งพบว่ามีเปลี่ยนแปลงเพียงไม่กี่อย่างเท่านั้นในลำเส้นใยประสาทของสมองส่วนเนื้อสีขาว การเปลี่ยนแปลงของสมองเช่น ปริมาตรของสมอง (cerebral volumes) การไหลเวียนของเลือดในสมอง (cerebral blood flow) และลำเส้นใยประสาทของสมองส่วนเนื้อสีขาว (white matter tracts) มีสหสัมพันธ์กันเป็นอย่างสูงกับปัจจัยของการอักเสบ (inflammatory factors) ในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง ด้วยเหตุนี้เราจึงอนุมานว่ากลไกพื้นฐานหลัก ๆ อาจจะมีผลเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับการบาดเจ็บโดยอ้อม (indirect injury) เนื่องจาก inflammatory storm ที่ได้รับการกระตุ้นจากปฏิกิริยาตอบสนองของภูมิคุ้มกัน (immune response) (27) หรือภาวะพร่องออกซิเจน (hypoxia) นอกจากนี้ลักษณะทางจุลกายวิภาควิทยาที่เกี่ยวกับประสาท (neuropathologic features) จากการผ่าศพผู้ป่วยโรคโควิด 19 ก็แสดงให้เห็นถึงการบาดเจ็บต่าง ๆ จากภาวะพร่องออกซิเจน (hypoxia injury) ของสมอง เช่น ช่องว่างที่ขยายใหญ่ขึ้นซึ่งอยู่ระหว่างหลอดเลือดและอวัยวะที่เป็นโฮสต์จากการที่มีเซลล์อุดมสมบูรณ์ (cell-abundant enlarged perivascular spaces) โดยที่ไม่มีสัญญาณของโรคไขสมองอักเสบ (encephalitis) หรือโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) (28, 29) การวัดค่าทางประสาทเคมี

(neurochemical measurements) ได้แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยโรคโควิด 19 ที่มีภาวะความรุนแรงแตกต่างกันมีระดับปริมาณที่แตกต่างกันของการบาดเจ็บของเซลล์ประสาท (neuronal injury) และการกระตุ้นเซลล์เกลีย (glial activation) ซึ่งสนับสนุนว่าการบาดเจ็บโดยอ้อม (indirect injury) เป็นกลไกหลักและไม่ใช่การบุกรุกโดยตรง (direct invasion) ของเชื้อไวรัส (13) ในทางกลับกันภาวะที่เกิดลิ่มเลือดได้ง่ายกว่าปกติ (hypercoagulability) และกระบวนการ microembolization ของเยื่อผนังหลอดเลือด (vascular endothelium) ก็อาจมีส่วนเกี่ยวข้องด้วย ตามที่มีหลักฐานจากภาวะ hypoperfusion ในการติดฉลากแม่เหล็กของหลอดเลือดแดง (arterial spin label หรือ ASL) ตลอดทั่วเปลือกสมองเนื้อสีเทา (gray matter cortex) ในผู้ป่วยที่มีอาการของโรคชนิดรุนแรง ในจำนวนผู้ป่วยของเราที่มีอยู่จำกัด ผู้ป่วยจำนวนเล็กน้อยที่มีอาการของโรคชนิดรุนแรงก็ยังมีผลเสียของไตหรือหัวใจอีกด้วย ซึ่งทำให้เราเชื่อว่าการบาดเจ็บของหลายอวัยวะ (multi-organ injury) อาจจะเป็นอีกกลไกหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ เมื่อประกอบสิ่งเหล่านี้เข้าด้วยกันแล้ว สิ่งที่ได้จากการสังเกตเหล่านั้นทั้งหมดล้วนชี้ไปที่กลไกการบาดเจ็บโดยอ้อม (indirect injury mechanism) ในสมองในระหว่างการฟื้นตัวระยะยาว (long-term recovery)

**ข้อจำกัด (Limitations).** ในการศึกษาวิจัยนี้มีข้อจำกัดอยู่หลายประการ ประการแรกคือขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่เล็ก เราจะต้องตั้งเป้าในการเพิ่มขนาดของกลุ่มตัวอย่างในการศึกษาวิจัยติดตามอาการเพิ่มเติมต่อไป ประการที่ 2 ผู้ป่วยไม่มีการแสดงอาการทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจง (specific neurological manifestation) และดังนั้นเพื่อที่จะหลีกเลี่ยงการติดเชื้อข้ามคน (cross-infection) จึงไม่มีการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าสมอง (head MRI) ในระหว่างระยะเฉียบพลัน ประการที่ 3 ควรจะมีการศึกษาวิจัยติดตามอาการ (follow-up study) เพื่อดูว่าการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคศาสตร์และการเปลี่ยนแปลงของการทำหน้าที่ของสมองมีความก้าวหน้า (progress) หรือว่าถดถอยหลัง (regress)

**สรุปผลการศึกษาวิจัย (Conclusion).** ในการศึกษาวิจัยนี้ภาวะฝ่อลีบของสมองส่วนเนื้อสีเทา (gray matter atrophy) การลดลงของการไหลเวียนของเลือดในสมองที่แพร่กระจาย (widespread CBF reduction) และการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลภาคของสมองส่วนเนื้อสีขาว (white matter microstructure changes) ซึ่งตรวจหาโดยเทคนิคการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเชิงปริมาณ (quantitative MRI) ถูกพบในผู้ป่วยที่ฟื้นตัวจากโรคปอดบวมที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับโรคโควิด 19 (COVID-19 pneumonia) ซึ่งเป็นการให้หลักฐานใหม่ ๆ ต่อความเสียหายทางระบบประสาท (neurological damage) จากโรคโควิด 19 ในการฟื้นตัวระยะยาว (long-term recovery) ความผิดปกติในบริเวณเหล่านี้ของสมองควรได้รับการติดตามตรวจสอบในกระบวนการของการฟื้นตัวที่สมบูรณ์ ซึ่งจะช่วยให้แพทย์เกิดความเข้าใจในผลสืบเนื่องทางระบบประสาทที่มีความเป็นไปได้จากโรคโควิด 19

## วิธีการ (Methods)

**อาสาสมัครผู้เข้าร่วม (Participants).** ผู้ป่วยที่ฟื้นตัวจากโรคปอดบวมที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับโรคโควิด 19 (COVID-19 pneumonia) ได้รับการรับสมัครจากแผนกโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลตงจี (Tongji Hospital) โดยมีเกณฑ์ในการรับเข้า (inclusion criteria) ดังต่อไปนี้: (a) เป็นผู้ที่อายุระหว่าง 50 – 70 ปี; (b) เป็นผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าป่วยเป็นโรคโควิด 19 ชนิดที่มีอาการเล็กน้อย (mild type) หรือชนิดที่มีอาการรุนแรง (severe type) ตามแนวปฏิบัติชั่วคราวขององค์การอนามัยโลก (WHO interim guidance) ในระหว่างการเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาล และไม่จำเป็นต้องได้รับการเข้าพักรักษาตัวในหน่วยดูแลผู้ป่วยวิกฤติ (intensive care unit); (c) เป็นผู้ที่ไม่มีการแสดงอาการทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจง (specific neurological manifestations) ในระหว่างระยะเฉียบพลัน เช่น การสูญเสียการรับรู้กลิ่น/ภาพการมองเห็น/การได้ยิน/การรับรู้รส/ความจำ อาการชัก ความบกพร่องในการเคลื่อนไหว; (d) เป็นผู้ที่ไม่มีการแสดงอาการทางระบบประสาทที่จำเพาะเจาะจงและไม่มียารักษาที่ชัดเจน (obvious lesion) ในการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าตามปกติ (conventional MRI) เป็นเวลา 3 เดือนหลังจากออกจากโรงพยาบาล; (e) เป็นผู้ที่ไม่มีประวัติการบาดเจ็บบริเวณศีรษะ (head trauma) โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) เนื้องอกในสมอง (brain tumors) ความผิดปกติของการเผา

ผลาญ (metabolic disturbance) หรือโรคลมชัก (epilepsy); และ (f) เป็นผู้ที่สามารถได้รับการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจหาค่าความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง (hematocrit value) ก่อนการสแกน MRI ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยโรคโควิด 19 ได้รับจากเวชระเบียนผู้ป่วยของโรงพยาบาล และรวมเอาประเภททางคลินิก (clinical type) และตัวชี้วัดระดับการอักเสบต่างๆ (inflammatory markers) เช่น C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT) และ IL-6 อาสาสมัครซึ่งเป็นผู้ที่มีสุขภาพดีที่ได้รับการจับคู่ (matched) ตามเพศ อายุ และระดับการศึกษาได้รับสมัครจากชุมชน ซึ่งไม่รวมเอาผู้ที่เคยมีประวัติการบาดเจ็บบริเวณศีรษะ โรคหลอดเลือดสมอง เนื่องจากในสมอง ความผิดปกติของการเผาผลาญ และโรคลมชัก นอกจากนี้ก็ยังไม่รวมเอาผู้ที่มีภาวะเลือดข้นผิดปกติ (polycythemia) และภาวะโลหิตจาง (anemia) เพื่อเป็นการรับประกันความถูกต้องแม่นยำของการคำนวณอัตราการไหลเวียนของเลือดในสมอง อาสาสมัครผู้เข้าร่วมทั้งหมดได้รับการบอกกล่าวอย่างครบถ้วนเกี่ยวกับวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยนี้ และตกลงใจเข้ารับการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าบริเวณศีรษะ (head MRI) และการตรวจเอกซเรย์คอมพิวเตอร์บริเวณทรวงอก (chest CT scan) และตอบแบบสอบถามซึ่งรวมเอาข้อมูลเกี่ยวกับอายุ เพศ ปีการศึกษา ความถนัดซ้ายหรือขวา (handedness) ตลอดจนโรคพื้นฐานต่างๆ (underlying diseases) ในวันเดียวกัน

*การตรวจเลือด (Blood test).* ระดับของ procalcitonin (PCT) และ IL-6 ได้รับการตรวจหาโดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์อัตโนมัติชนิด automatic Biochemical analyzer (Roche Cobas e602) ระดับของ C-reactive protein (IATRON) ได้รับการตรวจหาโดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์ทางด้านชีวเคมี (Roche Cobas 8000) การตรวจดูความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง (การตรวจเลือดตามปกติ) ทำโดยใช้เครื่อง Sysmex Automated Hematology Analyzer (XS 500i)

*การตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI scan).* การตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าทำโดยใช้เครื่องสแกนเนอร์ชนิด 3.0 T MR scanner (Discovery MR750, GE Healthcare) ซึ่งมี 32-channel head array coil โปรโตคอลที่ใช้รวมทั้ง conventional MRI, structural 3D T1-weighted images (3D-T1WIs), high-resolution diffusion tensor imaging (DTI), และ 3D pseudo-continuous arterial spin labeling (3D-pcASL) มีการใช้แผ่นโฟม (foam padding) และที่อุดหู (ear plugs) เพื่อลดการเคลื่อนไหวของศีรษะและเสียงดังจากเครื่องสแกนเนอร์

โปรโตคอลในการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าตามปกติ (conventional MRI protocol) รวมเอา axial T2-FLAIR sequence ซึ่งมี TR/TE/TI เท่ากับ 8400/165/2100 ms, ขนาด matrix เท่ากับ  $256 \times 256$ , FOV เท่ากับ  $240 \times 240$  mm<sup>2</sup>, ความหนาของ slice ต่อ gap เท่ากับ 5/1.5 mm และจำนวนของ slices เท่ากับ 16

3D-T1WIs ได้มาจากการใช้ brain volume (BRAVO) sequence ซึ่งมี TR/TE/TI เท่ากับ 7.1/2.7/450 ms, flip angle เท่ากับ 12°C, ขนาด matrix เท่ากับ  $256 \times 256$ , FOV เท่ากับ  $240 \times 280$  mm<sup>2</sup>, จำนวนของค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1, ความหนาของ slice เท่ากับ 1 mm และจำนวนของ slices เท่ากับ 184

DTI ได้มาจากการใช้ single-shot diffusion-weighted echo-planar imaging (EPI) sequence ใน axial plane ซึ่งมี TR/TE เท่ากับ 8500/60.4 ms, ขนาด matrix เท่ากับ  $128 \times 128$ , FOV เท่ากับ  $256 \times 256$  mm, ความหนาของ slice ต่อ gap เท่ากับ 2/0 mm, ค่า  $b$  value เท่ากับ 1000s/mm<sup>2</sup> along 64 directions, 10  $b_0$  images, และจำนวนของ slices เท่ากับ 70

3D-pcASL ได้มาจากการใช้ interleaved 3D stack ของ spirals fast spin echo (FSE) sequence ซึ่งมี background suppression ในระดับสูงเพื่อครอบคลุมสมองทั้งหมด ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ โดยละเอียดมีดังต่อไปนี้: TR/TE เท่ากับ 4788/14.6 ms, postlabeling delay (PLD) เท่ากับ 1525 ms, จำนวนของค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3, bandwidth เท่ากับ 62.5 kHz, readout



เท่ากับ  $8 \text{ arms} \times 1024$  ตัวอย่าง, FOV เท่ากับ  $240 \times 240 \text{ mm}$ , ความหนาของ slice ต่อ gap เท่ากับ  $4/0 \text{ mm}$  และจำนวนของ slices เท่ากับ 34 ช่วงระยะเวลาในการติดฉลาก (labeling duration) เท่ากับ  $1500 \text{ msec}$  และความละเอียดคมชัด (resolution) เท่ากับ  $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}$

เพื่อเป็นการรับประกันความแข็งแกร่ง (robustness) ของการวิเคราะห์ของเรา จึงได้มีการควบคุมคุณภาพของภาพ (image quality control) อย่างเข้มงวด ตั้งแต่จากขั้นตอนการได้มา (acquisition) ไปจนถึงขั้นตอนการจัดเตรียมข้อมูลก่อนการประมวลผลภาพ (preprocessing) คุณภาพของความถูกต้องเที่ยงตรงแม่นยำของสัญญาณ (signal fidelity) การคัดแยกสมอง (brain extraction) และการซ้อนทับภาพ (registration) ในแต่ละขั้นตอนกับทุก ๆ ภาพได้รับการพล็อต (plotted) และตรวจสอบด้วยตา (visually checked) อาสาสมัครผู้ป่วยที่มีการสูญเสียสัญญาณ (signal loss) สิ่งเทียมสิ่งแปลกปลอมสิ่งที่ไม่ต้องการในการบันทึก (artefacts) การซ้อนทับภาพ (registration) ที่ด้อยคุณภาพ และการเคลื่อนไหวใหญ่ ๆ ของศีรษะ (large head motion) ได้รับการคัดออก (excluded) จากการวิเคราะห์เพิ่มเติมต่อไป ในการศึกษาวิจัยนี้ไม่มีอาสาสมัครคนใดที่ได้รับการคัดออกไปอันมีสาเหตุเนื่องมาจากมีภาพและการซ้อนทับภาพที่ด้อยคุณภาพ มีอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี 2 คนถูกคัดออกไป (excluded) เนื่องมาจากการสูญเสียสัญญาณในสมองส่วนซีรีเบลลัมที่เป็นภาพดิบ (raw images)

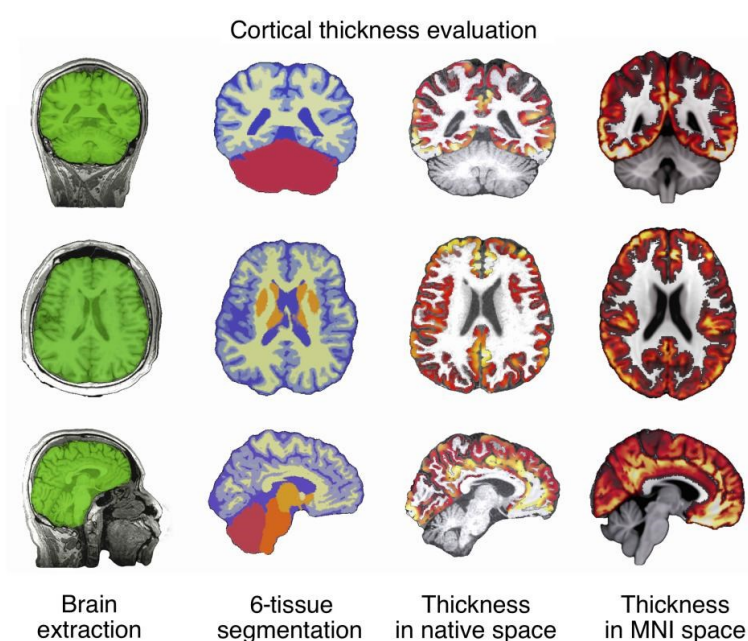
*การจัดเตรียมข้อมูล MRI ก่อนการประมวลผลภาพ (MRI data preprocessing):* การประเมินความหนาของเปลือกสมอง (cortical thickness evaluation). เพื่อให้ได้ native space skull-stripped brain masks การตัดแบ่งภาพ (segmentations) และปริมาตรของนิวเคลียสในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมองที่ได้รับการ warped จาก MNI space (MNI space-warped subcortical nuclei volumes) ที่เที่ยงตรงแม่นยำ 3D-T1WIs จึงได้รับการ upload ไปสู่ online anatomical segmentation pipeline volBrain (30) ตามประสบการณ์ของเราก่อนหน้านี้และการตรวจเช็คด้วยตา (visual check) volBrain pipeline ที่อยู่บนพื้นฐานของ machine learning สามารถให้การตัดแบ่งภาพ (segmentations) ของสมองส่วนเนื้อสีเทา (gray matter) สมองส่วนเนื้อสีขาว (white matter) น้ำหล่อเลี้ยงสมองและไขสันหลัง (CSF) และนิวเคลียสในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical nuclei) ที่ชัดเจน (clear-cut) และผลที่ได้รับก็ดีกว่าอัลกอริทึมอื่น ๆ เช่น BET in FSL (FMRIB Software Library, ref. 31), FreeSurfer (32), และ ANTs (Advanced Normalization Tools, <http://stnava.github.io/ANTs/>) เป็นอย่างมาก Native brain masks และการตัดแบ่งภาพในส่วน of สมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical segmentations) ถูกใช้ในการวิเคราะห์ตามมา

การประเมินความหนาของเปลือกสมองทำโดยใช้ ANTs (33) การประมวลผลแบบสายท่อ (pipeline) สำหรับความหนาของเปลือกสมองโดยวิธี ANTs อัตโนมัติ (automated) ที่อิงปริมาตร (volume-based) ประกอบด้วยส่วนประกอบที่ได้รับการตรวจสอบอย่างละเอียดเป็นอย่างดี (well-vetted components) เช่น SyN (การซ้อนทับภาพ (image registration)), N4 (การปรับแก้ความผิดพลาดเฉลี่ย (bias correction)), Atropos (การตัดแบ่งภาพ n-tissue (n-tissue segmentation)) และ DiReCT (การประมาณความหนาของเปลือกสมอง) ลำดับในการดำเนินงานตั้งแต่ต้นจนจบ (workflow) ในการประมาณความหนาของเปลือกสมองโดยวิธี ANTs แสดงไว้ในภาพประกอบที่ 7 ขั้นตอนต่าง ๆ มีดังต่อไปนี้: (a) การปรับแก้ความผิดพลาดเฉลี่ย N4 เริ่มแรกบนภาพ T1 (b) การคัดแยกสมอง (brain extraction) โดยใช้วิธีการตัดแบ่งภาพ (segmentation) / วิธีการที่อิงแม่แบบ (template-based strategy) (คือ 6 segments priors ได้แก่: prior น้ำหล่อเลี้ยงสมองและไขสันหลัง prior สมองส่วนเนื้อสีเทา prior สมองส่วนเนื้อสีขาว prior นิวเคลียสในส่วน of สมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง prior สมองส่วนซีรีเบลลัม prior ก้านสมอง) ตามที่ได้ระบุมาก่อนหน้านี้ (34), (c) การสลับเปลี่ยนสลับกัน (alternation) ระหว่างการตัดแบ่งภาพที่อิง prior (prior-based segmentation) และการปรับแก้ความผิดพลาดเฉลี่ยที่ได้รับการชั่งน้ำหนักสำหรับ pure tissue posterior probability โดยใช้ Atropos และ N4, (d) การประมาณความหนาของเปลือก

สมองซึ่งอิง DiReCT (DiReCT-based) และ (e) การ normalize สู่แม่แบบ (template) ที่มีความละเอียดคมชัด (resolution) ในระดับ MNI 1 mm

## ภาพประกอบที่ 7

ลำดับในการดำเนินงานตั้งแต่ต้นจนจบ (workflow) ในการประมาณความหนาของเปลือกสมองโดยวิธี ANTs. การประมวลผลแบบสายท่อ (pipeline) สำหรับความหนาของเปลือกสมองโดยวิธี ANTs ให้การคัดแยกสมอง (brain extraction) และการตัดแบ่งภาพของเนื้อเยื่อทั้ง 6 ส่วน (6-tissue segmentation) ที่ชัดเจน (clear-cut) ตลอดจนการประมาณที่เกือบจะสมบูรณ์แบบ (nearly perfect) สำหรับความหนาในส่วน native space และการ warping ที่เที่ยงตรงแม่นยำเข้าสู่ MNI space.



การจัดเตรียมข้อมูลก่อนการประมวลผลภาพ *pcASL* (*pcASL preprocessing*). ภาพ *pcASL* ดิบทั้งหมดได้รับการถ่ายโอนไปยัง workstation (Advantage Workstation 4.6, GE Medical Systems) เพื่อรับแผนที่ native CBF map ตามโมเดลจลนศาสตร์ (kinetic model) ที่เสนอโดย Alsop และ Detre (35) นอกจากนี้เราได้รวมเอาระยะเวลาที่กำหนด (term) สำหรับช่วงระยะเวลาในการติดฉลากที่ชัดเจนแน่นอนมีขอบเขตจำกัด (finite labeling duration) และปรับแก้การฟื้นตัวที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete recovery) ของสัญญาณเนื้อเยื่อ (tissue signal) ในภาพอ้างอิง (reference image) เนื่องจากความอิ่มตัว (saturation)  $t_{sat}$  (2000 msec) ที่ทำก่อนการสร้างภาพ (imaging) (36) แผนที่การไหลเวียนของเลือดในสมองเชิงปริมาณ (quantitative CBF maps) จึงตามสมการต่อไปนี้:

$$CBF = \frac{\lambda}{2\alpha T_{1\beta} \left(1 - e^{-\frac{\tau}{T_{1\beta}}}\right)} \frac{(S_{ctrl} - S_{lbl}) \left(1 - e^{-\frac{\tau_{sat}}{T_{1g}}}\right)}{e^{-\frac{\omega}{T_{1\beta}}}}$$

## สมการที่ 1

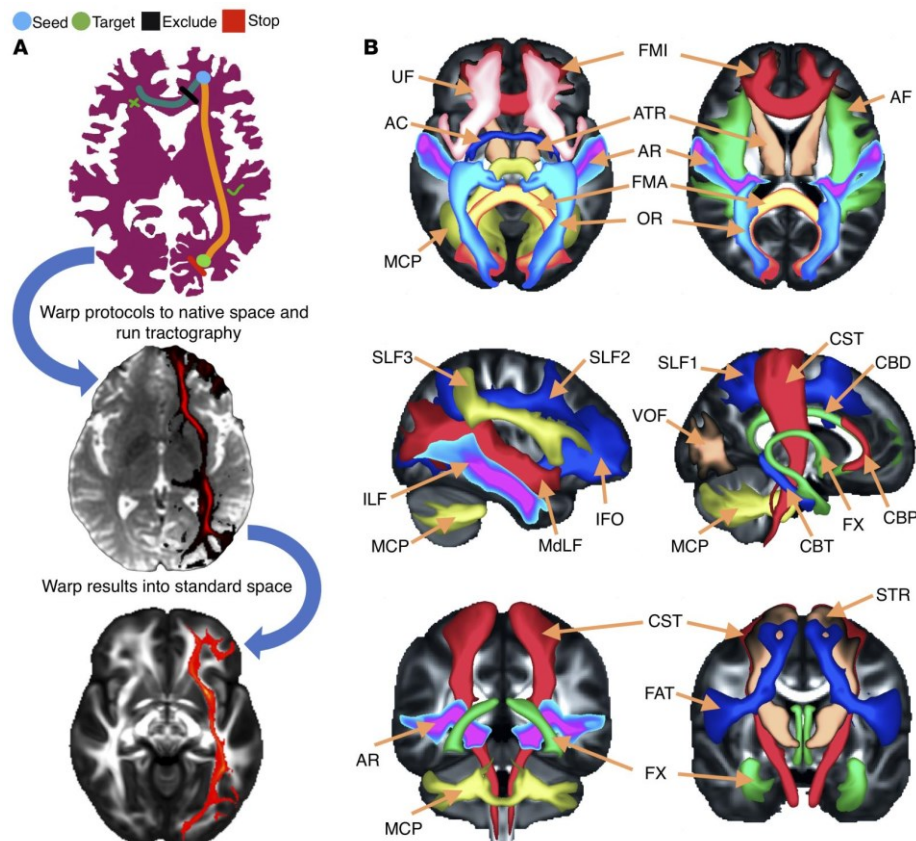
โดยที่  $S_{ctrl}$ ,  $S_{lbl}$ ,  $S_{ref}$  เป็นสัญญาณบนภาพควบคุม (control) ภาพฉลาก (label) และภาพอ้างอิง (reference);  $T_{1c}$  เป็นเวลาในการผ่อนคลาย (relaxation time) T1 ของเลือดที่ 3.0T ประมาณ 1600 msec;  $T_{1g}$  หมายถึงเวลาในการผ่อนคลาย (relaxation time) T1 ของสมองส่วนเนื้อสีเทาที่ 3.0T ประมาณ 1200 msec;  $t_{sat}$  เป็นเวลาของการอิ่มตัว (saturation) ที่กระทำก่อนการสร้างภาพ (imaging) ประมาณ 2000 msec;  $\alpha$  เป็นประสิทธิภาพในการติดฉลาก (labeling efficiency) ซึ่งเท่ากับ 0.8;  $\lambda$  เป็นค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน (partition coefficient) ระหว่างเลือดสมองกับเลือดซึ่งเท่ากับ 0.9;  $T$  เป็นช่วงระยะเวลาในการติดฉลาก (labeling duration) ประมาณ 1500 msec; และ  $\omega$  เป็นเวลา PLD ซึ่งเท่ากับ 1525 msec.

ภาพของการไหลเวียนของเลือดในสมองที่เป็น native ที่ได้รับการจัดเตรียมข้อมูลก่อนการประมวลผลภาพ (preprocessed) ตรงกัน (aligned) กับภาพ T1 images โดยใช้เครื่องมือการประมวลผลแบบสายท่อ (pipeline) FLIRT in FSL และต่อจากนั้นก็ได้รับการ warped เข้าสู่ MNI space โดยการให้ warp fields ของวิธี ANTs ซึ่งจำเพาะเจาะจงอาสาสมัคร (subject-specific) ที่สร้างก่อนหน้าโดย T1 ไปสู่การซ้อนทับภาพ (registration) ชนิดที่เป็น MNI template nonlinear เพื่อให้ได้อัตราการไหลเวียนของเลือดที่เปลี่ยนแปลงในส่วนของนิวเคลียสของส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างเปลือกสมอง (subcortical nuclei CBF) subcortical nuclei masks ใน MNI space จึงได้มาจาก volBrain และ masks เหล่านั้นก็ถูกใช้ในการคัดแยก (extract) อัตราการไหลเวียนของเลือดที่เปลี่ยนแปลงในส่วนของนิวเคลียสของส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างเปลือกสมอง (subcortical nuclei CBF) นั้น

การจัดเตรียม DTI ก่อนการประมวลผลภาพ (DTI preprocessing). ภาพ DTI ได้รับการจัดเตรียม (preprocessed) โดยการใช้ FDT pipeline ใน FSL ขั้นตอนต่าง ๆ มีดังต่อไปนี้: (a) อันดับแรก คือการปรับแก้ข้อมูลการแพร่กระจาย (diffusion data) สำหรับการผิดเพี้ยนที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของกระแสเอ็ดดี้ (eddy current-induced distortions) และการเคลื่อนไหวของผู้ป่วย (EDDY), (b) ภาพ B0 ภาพแรกได้รับการคัดแยกจากสมอง (BET) เพื่อที่จะเอาเนื้อเยื่อส่วนเกิน (extra tissues) ออกไป และต่อจากนั้น mask ที่ได้รับการสร้างขึ้นมาก็ได้รับการ applied เข้ากับส่วนที่เหลือของข้อมูลการแพร่กระจาย (diffusion data); (c) การ fitting เทนเซอร์การแพร่กระจาย (diffusion tensors) บนข้อมูลที่ได้รับการปรับแก้แล้ว (DTIFIT); (d) การ fitting โมเดลการแพร่กระจายที่มีความเป็นไปได้ (probabilistic diffusion model) บนข้อมูลที่ได้รับการปรับแก้แล้ว (การประมาณค่าแบบเบย์สำหรับค่าพารามิเตอร์การแพร่กระจายที่ได้จากการใช้เทคนิคการสุ่มตัวอย่าง (Bayesian Estimation of Diffusion Parameters Obtained using Sampling Techniques [BEDPOSTX])); (e) โดยการใช้ภาพ B0 ภาพแรกเป็นตัวอ้างอิง ภาพ B0 ได้รับการซ้อนทับภาพเป็นแนวเส้นตรง (linearly registered) กับภาพ T1 (FLIRT); (f) การทำ spatial normalization จาก T1 ถึง MNI space (FNIRT); และ (g) ขั้นตอนสุดท้าย ทำการประมวลผลแบบสายท่อ (pipeline) ซึ่งได้รับการพัฒนาขึ้นมาใหม่ ๆ เพื่อคัดแยก (extract) ชุดของลำเส้นใยประสาท (set of tracts) ที่ได้รับการแยกส่วน (dissected) อย่างระมัดระวังแล้วโดยอัตโนมัติ (ภาพประกอบ 8A) ใน native space ของผู้ป่วยโดยใช้เทคนิควิธี probabilistic diffusion tractography (23)

## ภาพประกอบที่ 8

ภาพประกอบของเทคนิควิธี **XTRACT automated tractography**. (A) แผนภาพแสดงขั้นตอนต่าง ๆ สำหรับเทคนิควิธี XTRACT automated tractography โดยที่มีตัวอย่างของ IFO ด้านซ้าย. Tractography protocol masks ได้รับการกำหนดขอบเขต (defined) ใน standard space (แผนที่ FSL\_HCP1065 FA ได้มาจากชุดข้อมูล HCP) ซึ่งมี masks ที่มี seed (start point, blue), exclusion (rejection, black), target (destination, green) และ stop (termination, red) ส่วน native map และ standard tractography maps ได้รับการคัดแยก (extracted) จากผู้ป่วยจาก current sample. (B) ภาพประกอบของมัดใยประสาทโปรเจกชัน (projections) สำหรับแผนที่เส้นใยประสาทของประชากร HCP. มัดใยประสาทประสานงาน (association fiber bundles): กลุ่มของเส้นใยประสาท arcuate fasciculus (AF), FAT, ILF, IFO, middle longitudinal fasciculus (MdLF), SLF1, 2, และ 3, uncinate fasciculus (UF), และ vertical occipital fasciculus (VOF). มัดใยประสาทโปรเจกชัน (projection fiber bundles): AR, ATR, CST, OR, และ superior thalamic radiation (STR). มัดใยประสาทลิมบิก (limbic fiber bundles): cingulum bundle, perigenual (CBP), cingulum bundle, temporal (CBT), CBD, และ FX. มัดใยประสาทเชื่อมซีกสมอง (commissural fiber bundles): anterior commissure (AC), forceps major (FMA), และ FMI.



XTRACT เป็นโปรแกรมสำเร็จรูปชนิดใหม่ที่มี library ของโปรโตคอลการวิเคราะห์ภาพการทำงานของสมอง (tractography) ที่เป็นมาตรฐาน (BEDPOSTX และ PROBTRACKX) ซึ่งได้รับการประดิษฐ์ขึ้นสำหรับการคัดแยก (extraction) สมองส่วนเนื้อสีขาวโดยอัตโนมัติและมีความแข็งแกร่ง (robust) (ภาพประกอบ 8B) จากการที่ได้ข้อมูลจาก Human Connectome Project (HCP) และ UK Biobank เราจึงได้แผนที่ (atlases) ของสมองส่วนเนื้อสีขาว และแผนที่ (atlases) สำหรับจุดสิ้นสุดของลำเส้นใยประสาท (tract endpoints) บนเส้นแบ่งเขตระหว่างสมองส่วนเนื้อสีขาวและสมองส่วนเนื้อสีเทา (white-gray matter boundary) วิธีการ tractography อัตโนมัติที่อิง ROI (ROI-based) เหล่านี้มีสมรรถภาพสูงในการคัดแยก (extract) ลำเส้นใยประสาทต่าง ๆ มากมาย เทคนิควิธีการ tractography สะท้อนถึงกายวิภาคศาสตร์ที่เป็นที่รู้จักกันอยู่แล้ว และองค์ความรู้ทางกายวิภาคศาสตร์ก่อนหน้านี้ซึ่งถูกใช้ในการแนะนำ (guide) และจำกัด (constrain) การทำ curve propagation ซึ่งช่วยลดโอกาสในการเกิดผลตรวจเป็นบวกปลอม (false positives) (37, 38)

ในอัลกอริทึม BEDPOSTX “X” หมายถึง modeling crossing fibers ภายในแต่ละ voxel ของสมอง BEDPOSTX มีการ run การสุ่มตัวอย่างแบบ Markov Chain Monte Carlo เพื่อที่จะสร้างการกระจาย (distributions) บนพารามิเตอร์การแพร่กระจาย (diffusion parameters) ที่แต่ละ voxel ที่สำคัญก็คือ BEDPOSTX กำหนดวัดจำนวนของ crossing fibers ต่อ voxel โดยอัตโนมัติ อัลกอริทึมนี้สร้างไฟล์ทั้งหมดที่จำเป็นจะต้องมีสำหรับการ run เทคนิควิธี probabilistic tractography PROBTRACKX

PROBTRACKX สร้างภาพ tractographies ของตัวอย่างโดยเริ่มจาก seeds จำนวนหนึ่ง และต่อจากนั้นก็ทำซ้ำ (iterate) ระหว่างการวาด (draw) orientation จากการกระจาย (distributions) BEDPOSTX ที่เป็นชนิด voxel-wise การทำตามขั้นตอนในทิศทางนี้ และการตรวจเช็คเกณฑ์การพิจารณาเลิกหรือยุติโครงการ (termination criteria) ใด ๆ ต่อจากนั้น tractographies ตัวอย่างเหล่านี้ก็สามารถใช้ในการสร้าง histogram ที่แสดงว่ามี tractographies จำนวนเท่าไรที่ได้รับการ visit สำหรับแต่ละ voxel หรือจำนวนของ tractographies ที่เชื่อมบริเวณส่วนของสมองที่จำเพาะเจาะจง การประมาณความเป็นไปได้ (probabilistic estimation) ของ multifiber tractography ที่แต่ละ voxel มีข้อได้เปรียบอย่างมีนัยสำคัญในเรื่องความไว (sensitivity) เมื่อเป็นการติดตาม (tracking) ประชากรเส้นใยที่ไม่เด่น (nondominant) แต่ก็ได้เปลี่ยนแปลงผลที่ได้จากการทำ tractography สำหรับวิถีที่เด่น (dominant pathways) มากนัก

**ค่าสถิติ (Statistics).** เพื่อเป็นการรับประกันความเสมอต้นเสมอปลายทางสถิติ (statistical consistency) การเปรียบเทียบทั้งหมดได้รับการดำเนินการโดยใช้ permutation test (5000 random shuffles ของ subject labels,  $P < 0.05$ ) การวิเคราะห์ทางสถิติสำหรับภาพความหนาของเปลือกสมอง (cortical thickness images) และภาพ pcASL CBF ดำเนินการโดยใช้ permutation test (randomize ใน FSL) (39) ซึ่งมี threshold-free cluster enhancement (TFCE)

การเปรียบเทียบทางสถิติของปริมาตรของนิวเคลียสในส่วน of สมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical nuclei volumes) ค่าอัตราการไหลเวียนของเลือดที่เปลี่ยนแปลงในส่วน of สมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical CBF values) และค่าสถิติต่าง ๆ ของลำเส้นใยประสาท (tract statistics) ดำเนินการโดยใช้ custom code ใน MATLAB (R2020a, The MathWorks, Inc.) กล่าวโดยเฉพาะเจาะจงก็คือสำหรับนิวเคลียส/ลำเส้นใยประสาทนั้น ๆ ในการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มแต่ละครั้ง ความแตกต่างของนิวเคลียส/ลำเส้นใยประสาทนั้น ๆ ระหว่างแต่ละกลุ่มได้รับการคำนวณ (คือค่าสถิติจริง (real statistic) และ 5000 random shuffles ของ subject labels ได้รับการดำเนินการ) ต่อจากนั้นเราก็ทำการคำนวณซ้ำ (recalculated) ความแตกต่างในแต่ละ shuffle iteration เพื่อสร้างการกระจายของการเรียงสับเปลี่ยน (permutation distribution) และในที่สุด upper



**threshold** คือค่าสถิติจริง (real statistic) ที่ 95 เปอร์เซ็นต์ของการกระจายการเรียงสับเปลี่ยน (permutation distribution) (40) การเรียงสับเปลี่ยน (permutations) จำนวน 5000 ครั้งได้รับการแสดงให้เห็นว่ามีความแข็งแกร่งในการสร้างการกระจายที่เป็นศูนย์ (null distribution) ซึ่งไม่เกิดความแตกต่างเมื่อกำหนดไว้ที่ 10000 permutations เนื่องมาจากการพิจารณาถึงผลกระทบของอายุที่มีต่อนิวเคลียสในส่วนของสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical nuclei) อายุจึงได้รับการถดถอยออกไป (regressed out) ก่อนการทำ permutation test อย่างไรก็ตามเราพบว่าไม่ว่าจะได้รับการถดถอยออกไปหรือไม่ก็ตาม อายุก็ไม่ได้มีอิทธิพลต่อผลที่ได้ในการทำ permutation test

เพื่อที่จะศึกษาต่อไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะเฉพาะของภาพในการตรวจด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI image features) กับตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory biomarkers) อันดับแรกเราจึงถดถอยผลกระทบของอายุ (age effect) ที่มีต่อบริเวณส่วนเปลือกสมองที่มีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ปริมาตรของนิวเคลียสในส่วนสมองที่อยู่ด้านล่างเปลือกสมอง (subcortical nuclei volumes) ค่าอัตราการไหลเวียนของเลือดที่ไปเลี้ยงในส่วนสมองที่อยู่ด้านล่างของเปลือกสมอง (subcortical CBF values) และปริมาตร/ความยาว/FA ของลำเส้นใยประสาท (tract) ต่อจากนั้นการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis (PCA)) ก็ถูกใช้เพื่อลดมิติ (dimensionality) ของผลที่ได้ของการสร้างภาพ (imaging results) ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในฐานะที่เป็นวิธีการทางสถิติชนิดพหุตัวแปรปกติทั่วไป (common statistical multivariate approach) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) สามารถสร้างชุดของตัวแปรต่าง ๆ ใหม่ (principal components (PCs)) โดยที่มีการสูญเสียข้อมูลน้อยที่สุด (41) องค์ประกอบหลัก (PCs) ได้รับการสร้างขึ้นโดยมีผลรวมเชิงเส้น (linear combination) ของตัวแปรดั้งเดิม (original variables) และสร้างพื้นที่ที่มีจำนวนมิติที่น้อย (low-dimensional space) ซึ่งรักษา (preserves) ความแปรปรวนส่วนใหญ่ของข้อมูลเอาไว้ องค์ประกอบแรก (PC1) มีสหสัมพันธ์กัน (Pearson correlation) กับค่าตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory marker values) เพื่อที่จะศึกษาถึงการมีส่วนร่วม (contribution) ของการเปลี่ยนแปลงที่มีนัยสำคัญของผลที่ได้ของการสร้างภาพ (imaging results) ผลที่ได้ของการสร้างภาพได้มีสหสัมพันธ์ต่อไป (Pearson correlation) กับค่าของ upper significant findings ที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับตัวชี้วัดระดับการอักเสบ (inflammatory markers) ค่า  $P$  ที่น้อยกว่า 0.05 ได้รับการพิจารณาว่ามีนัยสำคัญทางสถิติในทั้ง 2 กรณี ข้อมูลจัดกลุ่ม (categorical data) ได้รับการเปรียบเทียบโดยใช้ Fisher exact test ค่าการวัด (measures) ทางด้านประชากรและพฤติกรรมได้รับการเปรียบเทียบโดยใช้ Student's 2-tailed  $t$  test

**การได้รับอนุมัติของโครงการการศึกษาวิจัย (Study approval).** การศึกษาวิจัยแบบตัดขวาง (cross-sectional) นี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยของสถาบันทางคลินิกแห่งโรงพยาบาลท้องถิ่น (เมืองหวู่ฮั่น สาธารณรัฐประชาชนจีน) และได้รับการยินยอมโดยได้รับการบอกกล่าวเป็นลายลักษณ์อักษรจากผู้ป่วยอาสาสมัครผู้เข้าร่วมแต่ละคน