

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการนำเสนอแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายการปรับรูปแบบของกระดูกเมื่อกระตุ้นด้วยวิตามินดี โดยใช้วิธีซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชัน ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยได้กล่าวถึงในบทที่ 2 ข้างต้น
2. สร้างแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายการปรับรูปแบบของกระดูก ที่กระตุ้นด้วยวิตามินดี และ

3. วิเคราะห์พลศาสตร์ของแบบจำลองด้วยวิธีซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชันในพฤติกรรมการมีอยู่จริงของรูปแบบวัฏจักรและรูปแบบคลื่น

โดยในบทนี้จะนำเสนอรายละเอียดของการสร้างแบบจำลองและวิธีซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชัน

การสร้างแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์ของการปรับรูปแบบของกระดูก

จากการศึกษางานวิจัยโดยใช้แบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์ ในช่วงหลายสิบปีที่ผ่านมา พบว่ามีการศึกษาการปรับรูปแบบของกระดูกจากปัจจัยต่าง ๆ มากมาย ที่มีผลกระทบกับการปรับรูปแบบของกระดูก เช่น PTH ฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนแคลซิโตนิน แคลเซียม วิตามินดี เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบการศึกษาการปรับรูปแบบของกระดูกอันเนื่องจากการกระตุ้นด้วยวิตามินดี ทั้งนี้จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง พบว่า ได้มีการนำเสนอแบบจำลองการปรับรูปแบบกระดูกที่ถูกกระตุ้นด้วย PTH ซึ่งผู้วิจัยได้ศึกษาและเปรียบเทียบเกี่ยวกับ PTH และวิตามินดีว่ามีผลต่อการปรับรูปแบบของกระดูกที่เหมือนหรือต่างกันอย่างไร พบว่า ทั้ง PTH และวิตามินดี เป็นปัจจัยสำคัญในการปรับรูปแบบกระดูก โดยถ้ากระตุ้นด้วย PTH อย่างต่อเนื่องจะส่งผลให้มวลกระดูกเพิ่มขึ้น และวิตามินดีก็เป็นวิตามินที่มีความสำคัญโดยตรงในการสร้างกระดูกและฟัน ดังนั้นแนวโน้มการปรับรูปแบบกระดูกจึงน่าจะมีความคล้ายคลึงกันในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยทำการสร้างแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์ของการปรับรูปแบบของกระดูกเมื่อกระตุ้นด้วยวิตามินดี โดยได้ปรับปรุงจากแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์ของการปรับรูปแบบของกระดูก เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PTH เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยแบบจำลองการปรับรูปแบบของกระดูกที่ถูกกระตุ้นด้วย PTH ถูกนำเสนอโดย Rattanakul et al. (2003) ได้เสนอแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการอธิบายกระบวนการสร้างและสลายกระดูก เพื่อบอกถึงพฤติกรรมต่าง ๆ ทางพลศาสตร์ที่เกิดขึ้นในแบบจำลองโดยใช้ PTH โดยมีสมมติฐานเกี่ยวกับแบบจำลอง ดังนี้คือ

1. การเปลี่ยนแปลงของระดับ PTH ในเลือด ณ เวลาใด ๆ เท่ากับการเกิดของเซลล์สลายกระดูกลบการสลายของ PTH

2. การเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์สลายกระดูกในเลือด ณ เวลาใด ๆ เท่ากับการเกิดของเซลล์สลายและเซลล์สร้างกระดูกเมื่อถูกกระตุ้นด้วย PTH ลบการตายของเซลล์สลายกระดูก

3. การเปลี่ยนแปลงจำนวนของเซลล์สร้างกระดูก ณ เวลาใด ๆ เท่ากับการเกิดของ PTH ลบการยับยั้งการเกิดเซลล์สร้างกระดูกเมื่อถูกกระตุ้นด้วย PTH ลบการตายของเซลล์สร้างกระดูก ซึ่งมีรูปแบบดังสมการต่อไปนี้

$$\frac{dP}{dt} = \frac{c_1}{k_1 + C} - d_1 P \quad (1)$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{(c_2 + c_3 P) BC}{k_2 + P^2} - d_2 C \quad (2)$$

$$\frac{dB}{dt} = c_4 P - \frac{c_5 PB}{k_3 + P} - d_3 B \quad (3)$$

โดยที่ $P(t)$

แทน ระดับของ PTH ในเลือดที่เวลา t

$C(t)$

แทน จำนวนเซลล์สลายกระดูกที่เวลา t

$B(t)$

แทน จำนวนเซลล์สร้างกระดูกที่เวลา t

c_1, k_1

แทน ค่าคงตัวที่เป็นบวก

d_1

แทน ค่าคงตัวของอัตราการสลายของ PTH ในเลือด

c_2, c_3, k_2

แทน ค่าคงตัวที่เป็นบวก

d_2

แทน ค่าคงตัวของอัตราการตายของเซลล์สลายกระดูก

c_4

แทน ค่าคงตัวของอัตราการเกิดของเซลล์สร้างกระดูก

c_5, k_3

แทน ค่าคงตัวที่เป็นบวก

d_3

แทน ค่าคงตัวของอัตราการตายของเซลล์สร้างกระดูก

ผู้วิจัยได้ทำการปรับปรุงแบบจำลองข้างบนมาเป็นแบบจำลองของการปรับรูปแบบกระดูกเมื่อกระตุ้นด้วยวิตามินดี โดยมีสมมติฐานเกี่ยวกับแบบจำลอง ดังนี้คือ

1. การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของวิตามินดี ณ เวลาใด ๆ เท่ากับผลต่างของการเกิดของเซลล์สลายกระดูกกับการสลายของวิตามินดี

2. การเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์สลายกระดูก ณ เวลาใด ๆ เท่ากับการเกิดของเซลล์สลายและเซลล์สร้างกระดูกลบการตายของเซลล์สลายกระดูก

3. การเปลี่ยนแปลงจำนวนของเซลล์สร้างกระดูก ณ เวลาใด ๆ เท่ากับค่าคงตัวที่เป็นบวกบวกการเกิดของเซลล์สร้างกระดูกเมื่อกระตุ้นด้วยวิตามินดีลบการตายของเซลล์สร้างกระดูก

ซึ่งมีรูปแบบดังสมการต่อไปนี้

$$\frac{dV}{dt} = \frac{c_1}{k_1 + C} - g_1 V \quad (4)$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{(c_2 + c_3 V)BC}{k_2 + V^2} - g_2 C \quad (5)$$

$$\frac{dB}{dt} = c_4 + \frac{c_5 VB}{k_3 + V} - g_3 B \quad (6)$$

โดยที่ $V(t)$ แทน ความเข้มข้นของวิตามินดี (calcitriol) ณ เวลา t

$C(t)$ แทน จำนวนเซลล์สลายกระดูก ณ เวลา t

$B(t)$ แทน จำนวนเซลล์สร้างกระดูก ณ เวลา t

c_1, k_1 แทน ค่าคงตัวที่เป็นบวก

g_1 แทน ค่าคงตัวของอัตราการสลายของวิตามินดี

c_2, c_3, k_2 แทน ค่าคงตัวที่เป็นบวก

g_2 แทน ค่าคงตัวของอัตราการตายของเซลล์สลายกระดูก

c_4 แทน ค่าคงตัวที่เป็นบวก

c_5, k_3 แทน ค่าคงตัวที่เป็นบวก

g_3 แทน ค่าคงตัวของอัตราการตายของเซลล์สร้างกระดูก

เพื่อความเข้าใจที่ดีขึ้น เราจะอธิบายเพิ่มเติมเกี่ยวกับสมการแบบจำลอง (4)-(6)

วิตามินดี เป็นวิตามินที่ร่างกายต้องการเพื่อรักษาภาวะสมดุลของระดับแคลเซียม

ในเลือดและในกระดูก วิตามินดีช่วยในการดูดซึมแคลเซียมและฟอสฟอรัส มีความสำคัญ

ในการสร้างกระดูกและฟันและการเจริญเติบโตตามปกติของเด็ก วิตามินดีมีผลต่อการดูดกลับ

ของกรดอะมิโนที่ไต ช่วยสังเคราะห์น้ำย่อยในสารหลังของเยื่อ ควบคุมปริมาณของแคลเซียมและ

ฟอสฟอรัสในกระแสโลหิตไม่ให้ต่ำลงจนถึงขีดอันตราย นอกจากนี้วิตามินดีไปยับยั้งการทำงานของ

ของเซลล์สลายกระดูก พร้อมกันนั้นยังช่วยกระตุ้นการทำงานของเซลล์สร้างกระดูก (Uchiyama et

al., 2002) ดังนั้น ถ้าความเข้มข้นของวิตามินดีมาก จะส่งผลให้ไปยับยั้งการทำงานของเซลล์สลาย

กระดูก ทำให้เซลล์สลายกระดูกมีจำนวนลดลง สมการสำหรับอัตราการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น

ของวิตามินดี จึงอยู่ในรูปแบบดังสมการ (4)

เซลล์สลายกระดูก เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีหลายนิวเคลียส และเจริญมาจาก

เซลล์ต้นกำเนิด โมโนไซต์ (Monocyte stem cells) เซลล์นี้มีหน้าที่สำคัญในกระบวนการ

ปรับรูปแบบกระดูก โดยอาศัยการฟอสฟาเทส (Acid phosphatase)

ในการกร่อนเนื้อกระดูก และทำให้กระดูกมีลักษณะที่เหมาะสม นอกจากนี้ กระบวนการดังกล่าว

ยังทำให้มีการนำแคลเซียมออกสู่กระแสเลือดอีกด้วย (ปาริฉัตร ขาวทอง, ม.ป.ป.) เซลล์สลายกระดูก ถูกค้นพบโดย Kolliker ในปี ค.ศ. 1873 เซลล์สลายกระดูกและเซลล์สร้างกระดูกเป็นคู่ควบคู่ เนื้อเยื่อกระดูก นั่นคือ เซลล์สร้างกระดูกทำหน้าที่สร้างเนื้อเยื่อกระดูก เซลล์สลายกระดูกทำหน้าที่ สลายเนื้อเยื่อกระดูก

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสลายกระดูกที่สำคัญคือ receptor activator for nuclear factor- κ B ligand (RANKL) หรืออาจเป็นที่รู้จักในอีกหลายชื่อ เช่น Tumor necrosis factor ligand superfamily member 11 (TNFSF11) หรือ TNF-related activation-induced cytokine (TRANCE) หรือ osteoprotegerin ligand (OPGL) และ Osteoclast differentiation factor (ODF) RANKL นี้เป็น สารจำพวกโปรตีนที่พบในมนุษย์ ซึ่งถูกแปลจากข้อความพันธุศาสตร์ โดยยีนที่มีชื่อว่า *TNFSF11* RANKL มีความสำคัญในเมตาบอลิซึมของกระดูก เป็นเซลล์ที่มีความเกี่ยวข้องกับการสลายกระดูก โดย RANKL นี้เป็นสมาชิกของ TNF (Tumour necrosis family) RANKL จะทำปฏิกิริยากับ NF- κ B (nuclear factor- κ B) และ NFATc1 (nuclear factor of activated t cells, cytoplasmic, calcineurin-dependent 1) จนกลายเป็น RANK NF- κ B ซึ่งถูกกระตุ้นอย่างฉับพลัน หลังจาก เกิดปฏิกิริยาระหว่าง RANKL กับ RANK การกระตุ้น NFATc1 เริ่มต้นประมาณ 24-48 ชั่วโมง หลังการจับคู่เกิดขึ้นและการแสดงออกของ NFATc1 ขึ้นอยู่กับ RANKL เซลล์สลายกระดูกถูกยับยั้ง โดย OPG (Osteoprotegerin) ซึ่งถูกสร้างโดยเซลล์สร้างกระดูกและการจับคู่ของ RANKL

วิตามินดีมีบทบาทโดยตรงเกี่ยวกับเซลล์สลายกระดูกและเซลล์สร้างกระดูก

(Nakane et al., 2006 ; Aubin & Heersche, 2005) ซึ่งทั้งสองเซลล์นี้เป็นเซลล์ที่มีความสำคัญ ในกระบวนการปรับรูปแบบของกระดูก นอกจากนี้วิตามินดียังมีความเกี่ยวข้องกับมวลกระดูก กล่าวคือ ตัวรับสัญญาณของวิตามินดี (Vitamin D receptor) หรือ VDR มีความสัมพันธ์กับ มวลกระดูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Douroudis et al., 2003) ยิ่งไปกว่านั้น วิตามินดีช่วยยับยั้ง การทำงานของเซลล์สลายกระดูก (Uchiyama et al., 2002) นั่นคือ เมื่อความเข้มข้นของวิตามินดี มากขึ้น จะส่งผลให้จำนวนเซลล์สลายกระดูกลดลง อย่างไรก็ตาม มวลกระดูกจะมีการเปลี่ยนแปลง ใหม่อย่างต่อเนื่อง โดยที่บางส่วนจะถูกทำลาย และบางส่วนจะถูกสร้างขึ้นใหม่ ในกระบวนการ ปรับรูปแบบของกระดูก (อิสรา จูมมาลี, 2008) การทำงานของเซลล์สลายกระดูกจะเกิดขึ้นได้ ก็ต่อเมื่อเซลล์สร้างกระดูกทำงานโดยสร้างเซลล์กระดูกก่อน จากนั้นเซลล์กระดูกจึงถูกทำลายโดย เซลล์สลายกระดูก เราจะได้ว่า อัตราการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สลายกระดูก ณ เวลา t

มีความเกี่ยวข้องกับเซลล์สลายกระดูก และเซลล์สร้างกระดูก จึงสอดคล้องกับพจน์ BC ในพจน์แรก ของสมการ (5) ดังนั้นพฤติกรรมทางพลศาสตร์ของเซลล์สลายกระดูกสามารถอธิบายได้ตาม สมการ (5)

เซลล์สร้างกระดูก เป็นเซลล์ที่มีเพียงหนึ่งนิวเคลียส มีหน้าที่ในการสร้างเนื้อเยื่อกระดูก และเป็นเซลล์ที่ทำให้เกิดการสร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อติดต่อกัน โดยเซลล์สร้างกระดูกนี้ถูกสร้างขึ้นมาจากเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์กระดูก (Osteoprogenitor) เซลล์นี้จะอยู่ตามขอบของเนื้อกระดูก และสร้างโปรตีนที่เรียกว่า ออสติอยด์ (Osteoid) ซึ่งโปรตีนดังกล่าวนี้จะมีสารอนินทรีย์มาสะสมและกลายเป็นเนื้อกระดูก นอกจากนี้เซลล์สร้างกระดูก ยังสร้างเอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเทส (Alkaline phosphatase) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างเนื้อกระดูก รวมทั้งสารนอกเซลล์อื่น ๆ อีกด้วย (ปาริฉัตร ขาวทอง, ม.ป.ป.)

เซลล์กระดูก (Osteocyte) เป็นเซลล์ที่เจริญต่อมาจากเซลล์สร้างกระดูกที่ได้สร้างเนื้อกระดูกจนล้อมรอบตัวเซลล์ และเป็นเซลล์กระดูกที่เจริญเต็มที่แล้ว รอบ ๆ เซลล์จะเป็นช่องที่เรียกว่า ลา구나 (lacuna) และแต่ละลา구나จะติดต่อกันด้วยช่องทางผ่านเล็ก ๆ ที่เรียกว่า คานาlikuไล (canaliculi) ซึ่งทำให้แต่ละเซลล์กระดูกมีการติดต่อสื่อสารกันได้ ออกซิเจนและสารอาหารก็จะถูกส่งจากหลอดเลือดภายในช่องฮาเวอร์เซียนเข้ามายังแต่ละเซลล์ผ่านทางช่องดังกล่าวนี้ แม้เซลล์กระดูก จะเป็นเซลล์กระดูกที่โตเต็มที่ แต่ยังมีหน้าที่ในการควบคุมระดับแคลเซียมและสารนอกเซลล์อื่น ๆ ด้วย (ปาริฉัตร ขาวทอง, ม.ป.ป.)

มีหลายปัจจัยที่ช่วยในการเกิดเซลล์สร้างกระดูก เช่น FGF, IGF-I และ TGF- β จึงทำให้พจน์แรกในสมการ (6) เป็นค่าคงที่ c_4

วิตามินดีเป็นแร่ธาตุที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของเซลล์สร้างกระดูก (Uchiyama et al., 2002) นั่นคือ วิตามินดีช่วยเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างกระดูก ดังนั้น พจน์ $\left(\frac{c_5 V}{k_3 + V} \right) B$ ในสมการ (6)

แทนการเกิดของเซลล์สร้างกระดูกเมื่อกระตุ้นด้วยวิตามินดี

ท้ายที่สุดเซลล์สร้างกระดูกจะทำลายตัวเองเมื่อกระดูกถูกสร้างเสร็จสมบูรณ์ ส่วนที่เหลือเพียงเล็กน้อยก็จะแปรเปลี่ยนมาเป็น Osteocytes ดังนั้น พจน์สุดท้ายของสมการที่ 6 แทนการตายของเซลล์สร้างกระดูก ดังนั้นพฤติกรรมทางพลศาสตร์ของเซลล์สร้างกระดูกสามารถอธิบายได้ตามสมการ (6)

ศึกษาผลของการกระตุ้นด้วยวิตามินดีในแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์ของการปรับรูปแบบกระดูกโดยใช้วิธีซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชัน

ในการศึกษาการปรับรูปแบบของกระดูกที่ถูกกระตุ้นด้วยวิตามินดีในแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์นั้น ผู้วิจัยได้ใช้วิธีซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชันซึ่งเป็นวิธีที่ถูกนำมาใช้กับระบบที่มีการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่าง ๆ ที่ระดับเวลาที่แตกต่างกัน โดยแบบจำลองนี้มีสมมติฐานว่า

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของวิตามินดี ณ เวลา t เป็นระบบเปลี่ยนแปลงในระดับเร็ว
 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์สลายกระดูก ณ เวลา t เป็นระบบเปลี่ยนแปลงในระดับ
 ปานกลาง การเปลี่ยนแปลงจำนวนของเซลล์สร้างกระดูก ณ เวลา t เป็นระบบเปลี่ยนแปลง
 ในระดับช้า ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้วิธีซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชันในงานวิจัยนี้

เพื่อความเข้าใจมากยิ่งขึ้น ในส่วนนี้จะนำเสนอวิธีซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชันซึ่งมี
 รายละเอียดดังนี้

วิธีซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชันที่เรานำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยนี้ อ้างถึงใน (Rattanakul, 2003) ซึ่งจะกล่าวโดยไม่มีการพิสูจน์

พิจารณาระบบของสมการเชิงอนุพันธ์ในรูปแบบ

$$\frac{dx}{dt} = F(t, x, y, \varepsilon) ; \quad \varepsilon \frac{dy}{dt} = G(t, x, y, \varepsilon) \quad (7)$$

โดยที่ ε เป็นพารามิเตอร์ที่เป็นบวกที่มีค่าน้อย ๆ

ในกรณี $\varepsilon = 0$ ระบบสมการ (7) สามารถเขียนได้เป็น

$$\frac{dx}{dt} = F(t, x, y, 0) ; \quad 0 = G(t, x, y, 0) \quad (8)$$

เราสมมติว่าระบบสมการ (7) มีผลเฉลย $(x_0(t), y_0(t))$ เมื่อ $0 \leq t \leq \infty$ และฟังก์ชัน F และ G เป็นฟังก์ชันต่อเนื่องและอนุพันธ์มีขอบเขตโดยหาอนุพันธ์เทียบกับ t, ε, x และ y

สมมติฐานเกี่ยวกับการเสถียรมีสองสมมติฐาน นั่นคือ

สมมติฐานแรก กำหนดให้ $z(t) = (x(t), y(t))$ เราสามารถเขียนสมการ (8) ได้เป็น

$$\frac{dz}{dt} = A(t)z \quad (9)$$

เมื่อ $A(t) = (F_x - F_y G_y^{-1} G_x)(t, x_0(t), y_0(t), 0)$ เมื่อ F_x, F_y, G_x และ G_y คือ เมทริกซ์จาโคเบียน
 นั่นคือ ถ้า $\Phi(t)$ เป็นเมทริกซ์หลักมูลของระบบนี้ที่นิยามโดย

$$\frac{d\Phi}{dt} = A(t)\Phi, \quad \Phi(0) = I \quad \text{เมื่อ } I \text{ คือ เอกลักษณ์}$$

แล้วจะมีค่าคงที่ κ และ α ที่เป็นบวก ที่ทำให้

$$|\Phi(t)\Phi^{-1}(s)| \leq \kappa \exp[-\alpha(t-s)]$$

เมื่อ $0 \leq s \leq t < \infty$

สมมติฐานการเสถียรข้อสอง คือ ค่าเจาะจงของเมทริกซ์จาโคเบียน

$G_y(t, x_0(t), y_0(t), 0)$ มีส่วนจริงน้อยกว่าจำนวนลบที่กำหนดไว้สำหรับทุก ๆ $0 \leq t < \infty$

สมมติฐานการเสถียรข้อแรกยืนยันได้ว่าผลเฉลย $x = x_0(t)$ ของ

$$\frac{dx}{dt} = F(t, x, \phi(t, x), 0) \quad (10)$$

เสถียรเชิงเส้นกำกับ เมื่อ $\phi(t, x)$ เป็นฟังก์ชันปรับเรียบ ที่ทำให้ $y_0(t) = \phi(t, x_0(t))$ สำหรับ $t \geq 0$ และ

$$G(t, x, \phi(t, x), 0) = 0$$

สำหรับ $0 \leq t < \infty, |x - x_0(t)| \leq c$ เมื่อ c เป็นค่าคงตัวที่เป็นบวก

กำหนดให้ D แทนโดเมนของสมการ (10) ดังนั้น ถ้า $\xi \in D$ ของสมการ (10) มีผลเฉลยเดียวเมื่อ ξ เป็นค่าเริ่มต้น อย่างไรก็ตาม ผลเฉลยนี้เข้าใกล้ $x_0(t)$ เมื่อ $t \rightarrow \infty$

เราจำกัดขอบเขตโดเมน D เพื่อว่าค่าเจาะจงของเมทริกซ์ $G_y(0, \xi, \phi(0, \xi), 0)$ ทั้งหมดมีส่วนจริงเป็นลบสำหรับ $\xi \in D$ แล้วเราพิจารณาระบบสมการ (7) โดยกำหนดให้ $\tau = \varepsilon t$ และให้ $\varepsilon \rightarrow 0$ จะได้

$$\frac{dY}{d\tau} = G(0, \xi, \phi(0, \xi) + Y, 0) \quad (11)$$

เมื่อ $Y = Y\left(\frac{t}{\varepsilon}, \varepsilon\right)$ สมมติฐานการเสถียรข้อสองและการจำกัดขอบเขตโดเมน D ยืนยันว่า

สำหรับแต่ละ $\xi \in D$ ผลเฉลยของระบบนี้เป็นการเสถียรเชิงเส้นกำกับ ให้โดเมนของสมการ (11)

เขียนแทนด้วย E_ξ เราจะได้ว่าถ้า $Y(0) + \phi(0, \xi) \in E_\xi$ แล้วผลเฉลย $Y(\tau)$ ของสมการ (11)

ถูกกำหนดโดยเงื่อนไขเริ่มต้น $Y(0)$ ซึ่งมีค่าเกิดขึ้นสำหรับ $\tau \geq 0$ และเข้าใกล้ศูนย์เมื่อ $\tau \rightarrow \infty$

ต่อมาให้ $\xi(\varepsilon) \in \mathcal{R}^m$ และ $\eta(\varepsilon) \in \mathcal{R}^n$ เป็นฟังก์ชันปรับเรียบของ ε ที่ทำให้

$$\xi_0 \equiv \xi(0) \in D \text{ และ } \eta(0) \in E_{\xi_0}$$

ทฤษฎีบทที่ 1 ถ้าสมมติฐานข้างต้นสอดคล้องแล้วสำหรับแต่ละ $\varepsilon > 0$ ที่มีค่าน้อย ๆ ปัญหาค่าเริ่มต้น

$$\begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= F(t, x, y, \varepsilon), \quad x(0) = \xi(\varepsilon) \\ \varepsilon \frac{dy}{dt} &= G(t, x, y, \varepsilon), \quad y(0) = \eta(\varepsilon) \end{aligned}$$

มีผลเฉลยเดียว นั่นคือ $(x(t, \varepsilon), y(t, \varepsilon))$ สำหรับ $0 \leq t < \infty$

ผลเฉลยนี้สามารถเขียนได้เป็น

$$x = x^*(t, \varepsilon) + X\left(\frac{t}{\varepsilon}, \varepsilon\right), \quad y = y^*(t, \varepsilon) + Y\left(\frac{t}{\varepsilon}, \varepsilon\right)$$

เมื่อ (X, Y) สอดคล้องกับ

$$X(\infty, \varepsilon) = 0, \quad Y(\infty, \varepsilon) = 0$$

และฟังก์ชัน x^* และ y^* เป็นฟังก์ชันปรับเรียบของ t และ ε ที่ $\varepsilon = 0$ ซึ่ง

$$x^*(t, \varepsilon) = \sum_{r=0}^N x_r^*(t) \varepsilon^r + O(\varepsilon^{N+1})$$

และ

$$y^*(t, \varepsilon) = \sum_{r=0}^N y_r^*(t) \varepsilon^r + O(\varepsilon^{N+1})$$

เมื่อ $O(\cdot)$ เป็นจริงแบบเอกรูป (uniformly) สำหรับ $0 \leq t < \infty$ เมื่อ $\varepsilon \rightarrow 0$

ท้ายที่สุด ฟังก์ชัน x^* และ y^* หาได้โดยการแก้สมการเชิงอนุพันธ์

$$\frac{dx_0^*}{dt} = F(t, x_0^*, y_0^*, 0), \quad x_0^*(0) = \xi(0), \quad y_0^* = \phi(t, x_0^*(t))$$

และ สำหรับ $r = 1, 2, \dots, N$

$$\frac{dx_r^*}{dt} = F_x^*(t) x_r^* + F_y^*(t) y_r^* + p_r(t)$$

และ

$$\frac{dy_{r-1}^*}{dt} = G_x^*(t) x_r^* + G_y^*(t) y_r^* + q_r(t)$$

เมื่อ

$$F_x^*(t) = F_x(t, x_0^*(t), y_0^*(t), 0),$$

$$F_y^*(t) = F_y(t, x_0^*(t), y_0^*(t), 0),$$

$$G_x^*(t) = G_x(t, x_0^*(t), y_0^*(t), 0),$$

$$G_y^*(t) = G_y(t, x_0^*(t), y_0^*(t), 0)$$

และฟังก์ชัน $p_r(t)$ และ $q_r(t)$ ขึ้นอยู่กับ $t, x_0^*, y_0^*, \dots, x_{r-1}^*, y_{r-1}^*$

จากทฤษฎีบทที่ 1 เราสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับระบบของสมการเชิงอนุพันธ์ที่มีอันดับมากกว่าสองโดยวิธี geometric singular perturbation ซึ่งอยู่ภายใต้เงื่อนไขที่เหมาะสมเพื่อหาผลเฉลยโดยประมาณของระบบโดยลำดับของการเปลี่ยนแปลงพลศาสตร์อย่างง่ายที่ปรากฏในความเร็วที่แตกต่างกัน ผลของเส้นโค้ง singular ซึ่งประกอบด้วยอัตราการเปลี่ยนแปลงประมาณผลเฉลยที่แม่นยำ โดยนัยของ trajectory ในทอรรอบเส้นโค้ง เมื่อพารามิเตอร์ ε และ δ ที่เป็นบวกและมีค่าน้อย ๆ

จากความรู้ข้างต้น เราสามารถประยุกต์ในเทคนิคซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชัน ในระบบสามมิติ ซึ่งเรียกว่า ระบบที่เร็ว ได้ดังนี้

$$\frac{dx}{dt} = F(x, y, z) \quad (12)$$

$$\frac{dy}{dt} = \varepsilon G(x, y, z) \quad (13)$$

$$\frac{dz}{dt} = \varepsilon \delta H(x, y, z) \quad (14)$$

ซึ่งสามารถเขียนในรูปแบบของระบบที่ปานกลาง ดังนี้

$$\varepsilon \frac{dx}{d\tau_1} = F(x, y, z) \quad (15)$$

$$\frac{dy}{d\tau_1} = G(x, y, z) \quad (16)$$

$$\frac{dz}{d\tau_1} = \delta H(x, y, z) \quad (17)$$

เมื่อ $\tau_1 = \varepsilon t$ และสามารถเขียนในรูปแบบของระบบที่ช้า ดังนี้

$$\varepsilon \delta \frac{dx}{d\tau_2} = F(x, y, z) \quad (18)$$

$$\delta \frac{dy}{d\tau_2} = G(x, y, z) \quad (19)$$

$$\frac{dz}{d\tau_2} = H(x, y, z) \quad (20)$$

เมื่อ $\tau_2 = \varepsilon \delta t$ การพัฒนาการบนช่วงเวลา t, τ_1 และ τ_2 ถูกเรียกว่า เร็ว ปานกลาง และช้า ตามลำดับ ซึ่งในที่นี้เราจะทำในรูปแบบของระบบที่เร็ว ดังสมการ (12)-(14)

ในการศึกษาผลการปรับรูปแบบกระตุกเมื่อกระตุ้นด้วยวิตามินดีในแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์นั้น ผู้วิจัยจะแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน ดังต่อไปนี้

1. ใช้วิธีซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชันกับระบบสมการ (4)-(6) ดังนี้

เราจะปรับมาตราส่วนพลวัตของส่วนประกอบ 3 ส่วนของระบบ เมื่อพารามิเตอร์ ε และ δ มีค่าเป็นบวกน้อย ๆ และให้พารามิเตอร์ใหม่ ดังนี้

$$\text{ให้ } x = V, y = C, z = B, a_1 = c_1, a_2 = \frac{c_2}{\varepsilon}, a_3 = \frac{c_3}{\varepsilon}, a_4 = \frac{c_4}{\varepsilon \delta}, a_5 = \frac{c_5}{\varepsilon \delta},$$

$$d_1 = g_1, d_2 = \frac{g_2}{\varepsilon}, d_3 = \frac{g_3}{\varepsilon \delta} \text{ จะได้ระบบสมการใหม่ ดังนี้}$$

$$\frac{dx}{dt} = \frac{a_1}{k_1 + y} - d_1 x \equiv F(x, y, z) \quad (21)$$

$$\frac{dy}{dt} = \varepsilon \left[\frac{(a_2 + a_3 x) y z}{k_2 + x^2} - d_2 y \right] \equiv \varepsilon G(x, y, z) \quad (22)$$

$$\frac{dz}{dt} = \varepsilon \delta \left[a_4 + \frac{a_5 x z}{k_3 + x} - d_3 z \right] \equiv \varepsilon \delta H(x, y, z) \quad (23)$$

ซึ่งหมายความว่า การเปลี่ยนแปลงด้านขวามือของสมการ (21)-(23) มีค่าจำกัด และไม่เป็นศูนย์แล้ว $\dot{x} = O(1)$, $\dot{y} = O(\varepsilon)$ และ $\dot{z} = O(\varepsilon\delta)$ หมายความว่า ถ้า ε และ δ มีค่าน้อยๆ แล้ววิตามินดีมีพลวัตเร็วกว่าเซลล์สลายกระดูก ในขณะที่เซลล์สร้างกระดูกมีพลวัตช้าที่สุด

2. ใช้วิธี geometric ซิงกูลาร์เพอร์เทอร์เบชัน ดังนี้

ระบบสมการ (21)-(23) นำไปวาดกราฟ manifold $F(x, y, z) = 0$, $G(x, y, z) = 0$ และ $H(x, y, z) = 0$ สำหรับค่าที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ และ ε, δ มีค่าเป็นบวกและน้อยเพียงพอ เพื่อหาเงื่อนไขของกรณีที่เป็นรูปแบบวัฏจักรและรูปแบบอดวนพร้อมผลเฉลยเชิงทฤษฎี

3. ใช้วิธี Rung-Kutta อันดับ 6 หาผลเฉลยเชิงตัวเลข เพื่อตรวจสอบกับผลเฉลยเชิงทฤษฎี