



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap

# **Beräkning av bendensitet och benvolym vid datortomografisk helkroppsundersökning av katt**

Jämförelse av två metoder för beräkning samt inverkan av storlek, ålder, kön och osteoartrit

## **Estimation of bone density and volume in whole body computed tomography scans in cats**

Comparison of two calculation methods and effect of size, age, sex and osteoarthritis

*Stefan Lindén*

*Uppsala  
2020*



# Beräkning av bendensitet och benvolym vid datortomografisk helkroppsundersökning av katt

Jämförelse av två metoder för beräkning samt inverkan av storlek, ålder, kön och osteoartrit

## Estimation of bone density and volume in whole body computed tomography scans in cats

Comparison of two calculation methods and effect of size, age, sex and osteoarthritis

*Stefan Lindén*

**Handledare:** Charles Ley, institutionen för kliniska vetenskaper

**Biträdande handledare:** Cecilia Ley, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:** Kerstin Hansson, institutionen för kliniska vetenskaper

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0869

**Kursansvarig institution:** Institutionen för kliniska vetenskaper

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2020

**Elektronisk publicering:** <https://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** katt, bendensitet, benvolym, datortomografi, benvolym, ålder, kön, storlek, feline osteoartrit

**Key words:** cat, bone density, bone volume, computed tomography, age, sex, size, feline osteoarthritis

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper



## SAMMANFATTNING

Benvolym och bendensitet kan påverkas vid patologiska tillstånd. Hos katt skulle mätning av benvolym och bendensitet ge information om hur skelettet som helhet påverkas av t.ex. osteoartrit (OA), hälta eller andra sjukdomar som kan tänkas påverka benvolym och bendensitet. Mätning av benvolym skulle även kunna användas i samband med undersökning av kroppskomposition. I dagsläget saknas dock utvärderade mätmetoder för mätning av benvolym och bendensitet hos katt med hjälp av datortomografi. Även kunskap om normalvariation saknas i stor utsträckning. Detta arbete hade tre syften. Det första var att jämföra två metoder, en manuell och tidskrävande med en automatiserad men snabbare, för mätning av benvolym och bendensitet med datortomograf (baserat på Hounsfieldenheter som skattning av bendensitet). Det andra syftet var att undersöka om kön, ålder eller benvolym påverkar bendensitet hos friska katter utan OA. Det tredje syftet med arbetet var att undersöka om bendensitet och benvolym skiljer sig mellan katter med radiologiska tecken på måttlig–grav OA i höger arm-bågsled och katter utan OA.

Detta arbete baseras på datortomografiska helkroppsstudier av 75 katter och delades in i tre delar. Del I av denna studie gick ut på att jämföra de två metoderna (en manuell och en automatisk) vid mätning av benvolym och bendensitet sett till helkropp respektive höger framben hos samtliga 75 katter. I del II undersöktes om bendensitet hos friska katter utan OA ( $n = 15$ ) påverkas av kön, ålder eller benvolym. I del III tre jämfördes bendensitet och benvolym hos katter med OA i höger armbågsled ( $n = 9$ ) mot katter utan OA (samma grupp som i del II). I del II och III av studien använde endast data uppmätt med manuella metoden, vilken ansågs vara referensmetod.

Mätmetoderna som jämfördes i del I visades ha mycket god korrelation ( $P < 0,0005$ ;  $R^2 = 99,90$ – $100,00$  %). Det fanns en signifikant, systematisk skillnad i medelvärdet av differenserna mellan de två metoderna för samtliga mätområden. Vid mätning benvolym helkropp var skillnaden även multiplikativ. I del II bestod gruppen ”friska katter utan OA” av 15 individer. Undergrupperna (kön, ålder, och benvolym) bestod av mellan 5 och 10 individer. Endast benvolym vid mätning av helkropp sågs ha en signifikant inverkan på bendensitet hos friska individer ( $P = 0,035$ ). I del III visades att katter med OA har signifikant högre benvolym och bendensitet, både vid mätning av helkropp (benvolym  $P = 0,017$ , bendensitet  $P = 0,018$ ) och av endast höger framben (benvolym  $P = 0,042$ , bendensitet  $P = 0,049$ ) jämfört med friska katter utan OA.

Slutsatsen är att systematiska skillnader mellan metoderna föreligger men man kan använda bägge metoderna, förutsatt att mätresultatet från den automatiska metoden räknas om till motsvarande för den manuella metoden med hjälp av regressionssekvation innan resultatet används. Trots få individer i del II av arbetet sågs signifikanta skillnader i helkroppsbendensitet mellan individer med stor benvolym och individer med liten benvolym men inte vid mätning av höger framben. Katter med OA hade både högre benvolym och högre bendensitet jämfört med katter utan OA. Ytterligare studier behövs för vidare utredning om orsaker till dessa fynd.

## SUMMARY

Bone volume and bone density may be affected by disease. Measurement of bone volume and bone density in cats could possibly be used as a tool in diagnosing osteoarthritis (OA), lameness and other diseases expected to affect bone density and bone volume. Measurement of bone volume is also useful when evaluating body composition. However, at present there is a lack of validated methods for measuring bone volume and bone density in cats using computed tomography. Additionally, knowledge of normal variation in bone volume and bone density is scarce. This study had three main aims. The first was to compare two methods (one time consuming manual and one fast automatic) for measuring bone volume and bone density using computed tomography and based on Hounsfield units as an estimation of bone density. The second was to examine whether factors such as sex, age and bone volume affects bone density in healthy cats. The third was to examine if bone density and bone volume differs between cats with radiological signs of moderate to severe OA in right elbow joint compared to cats without OA.

The study material consisted of whole body computed tomography scans of 75 cats. The study was divided into three parts. Part I compared two methods (one manual and one automatic) for measuring bone volume and bone density of the whole body as well as the right front leg only in all 75 cats. Part II investigated whether bone density in healthy cats without OA ( $n = 15$ ) is affected by sex, age or bone volume. In part III, bone volume and bone density were compared between a group of cats with right elbow joint OA ( $n = 9$ ) to cats without OA (same individuals as in part II). In part II and III of this study, only measurements made by the manual measurement were used since it was considered the reference method.

The two methods tested in part I had very good correlation ( $P < 0.0005$ ;  $R^2 = 99.90-100.00\%$ ). There were significant, systematic differences between all of the means of the differences of the methods and for measurements of whole body volume, the difference was multiplicative. In part II, the “healthy” non-OA group consisted of 15 cats. The subgroups (sex, age and bone volume) contained 5 to 10 individuals. Results showed that, in healthy individuals, only whole body bone volume had a significant influence on bone density ( $P = 0.035$ ). In part III, cats with OA showed significantly higher bone volume and bone density, both when measuring whole body (bone volume  $P = 0.017$ , bone density  $P = 0.018$ ) and right front leg separately (bone volume  $P = 0.042$ , bone density  $P = 0.049$ ) compared to “healthy” non-OA cats.

In conclusion, there are systematic differences between the two methods but both methods can be used, as long as measurement values from the automatic method are converted using a regression equation to corresponding values for the manual method. Despite small subgroups in part II there was a significant difference in bone density between individuals with large bone volume and individuals with small bone volume when measuring the whole body but not when measuring right front leg. Cats with right elbow OA had both higher bone volume and higher bone density compared to cats without OA. Further studies are needed to investigate the causes behind the findings in this study.

## INNEHÅLL

INLEDNING .....	1
LITTERATURSTUDIE .....	3
Olika typer av benvävnad.....	3
Benbildning och benresorption .....	5
Benbildning .....	5
Resorption .....	6
Modellering .....	6
Remodellering .....	6
Vad påverkar mineraltätheten i benvävnad.....	8
Reglering av kalcium och fosfor på helkropps nivå.....	8
Reglering av kalcium och fosfor lokalt i vävnaden.....	9
Belastningens inverkan på benvävnad .....	9
Osteoartrit och dess inverkan på benvävnad .....	11
Metoder för att mäta bendensitet hos patienter .....	12
Dual-energy X-ray absorptiometry .....	12
Principer datortomografi .....	13
Generellt.....	13
Röntgenstrålens väg .....	14
Att skapa en bild.....	14
Principer för skanning .....	15
Skärmpresentation .....	17
Artefakter .....	18
Kvantitativ datortomografi.....	19
Bendensitet hos katt .....	19
Osteoporos och osteoskleros hos katt.....	19
Degenerativa ledförändringar på katt .....	20
Etiologi och patogenes .....	21
Kliniska fynd och presentation.....	22
MATERIAL OCH METODER .....	23
Studiematerial.....	23
Datortomografi .....	23
Bearbetning av datortomografibilder innan mätning .....	24
Mätning av bendensitet och benvolym.....	25

Allmänt.....	25
Metod 1: manuell segmentering.....	25
Metod 2: ”Grow region”-segmentering.....	25
Statistiska analyser .....	27
Allmänt.....	27
Del I: överensstämmelse mellan metod 1 och metod 2.....	27
Del II: katter utan osteoartrit .....	28
Del III: jämförelse mellan katter utan och med osteoartrit .....	28
RESULTAT .....	29
Del I.....	29
Del II .....	33
Del III .....	35
DISKUSSION .....	38
Konklusion .....	41
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING.....	43
REFERENSLISTA.....	47



## INLEDNING

Bendensitet och benvolym påverkas av flertalet faktorer, däribland skelettets belastning, vissa medicinska behandlingar samt en rad patologiska tillstånd (Carlson & Weisbrode, 2012). Hos katt skulle mätning av benvolym och bendensitet kunna användas som ett led i diagnostisering av t.ex. osteoartrit (OA), hälta eller andra sjukdomar som kan tänkas påverka benvolym och bendensitet. Inom humansjukvården används mätning av bendensitet som ett viktigt redskap för att diagnosticera osteoporos och bedöma risken för fraktur kopplat till uppmätt bendensitet (Boonen *et al.*, 2005; Formica *et al.*, 1998; Faulkner *et al.*, 1991). Motsvarande screeningprogram av bendensitet hos katt saknas inom veterinärmedicin. En förklaring till detta kan vara att konventionell röntgen är vanligaste modaliteten vid undersökning av benvävnad på veterinärkliniker (Bashir *et al.*, 2014). Även om det går att upptäcka förändringar i bendensitet på konventionella röntgenbilder krävs oftast en minskning av bendensitet med 30–40 % innan förändringen blir synbar (Jergas *et al.*, 1994). Det är inte heller möjligt att mäta bendensitet vid konventionell röntgen då tekniken inte tillåter numerisk gradering av tätheter utan bedömningen blir subjektiv.

Andra tänkbara användningsområden är i samband med undersökning av kroppscomposition då mängden fettvävnad i relation till benvolym är ett säkrare mått än mängden fettvävnad i förhållande till mängden övrig mjukdelsvävnad, eller då man letar efter möjliga samband/ förhållanden mellan olika sjukdomstillstånd och benvolym/bendensitet. Genom att använda benvolym istället för kroppsvikt som referens möjliggörs kvantifiering av kroppsstorlek utan inverkan av hullstatus.

Till skillnad från konventionell röntgen och andra bilddiagnostiska metoder för undersökning av bendensitet, t.ex. dual energy X-ray absorptiometry (DEXA), kan man med hjälp av datortomografi (DT) skatta bendensitet i  $\text{g/cm}^3$ . Datortomografi är en bilddiagnostisk metod som använder röntgenstrålning likt konventionell röntgen men där vävnadsattenueringen tillskrivs ett numeriskt värde, mätt i Hounsfieldenheter (HU). Vid DT-undersökning roterar röntgenrör och detektor runt patienten vilket gör att man undviker summation. Principen som används vid DT för att skapa bilder möjliggör att mätobjektet kan indelas i tredimensionella (3D) voxlar vilka därefter tillskrivs ett attenueringsvärde ( $d'$ Anjou, 2012). Med hjälp av voxlarna kan volym ( $\text{cm}^3$ ) och densitet ( $\text{HU/cm}^3$ ) för olika vävnader beräknas. Vid kvantitativ DT används en fantom med känd densitet ( $\text{g/cm}^3$ ) i samband med undersökningen, vilket möjliggör omvandling av HU-enheter till bendensitet i  $\text{g/cm}^3$ .

Enstaka studier där man med hjälp av kvantitativ datortomografi undersökt bendensitet hos katt har gjorts. Shipov *et al.* (2014) fann signifikant minskning av benvolym, bendensitet och benhåll-fasthet hos katt med långt framskriden kronisk njursjukdom. En annan studie, utförd av Cheon *et al.* (2012), fann en koppling mellan den trabekulära bendensiteten och ålder samt att anatomiska variationer av bendensitet förelåg. I dagsläget saknas utvärderade mätmetoder och fastställda referensvärden vid användande av DT för beräkning av benvolym och bendensitet för katt (Cheon *et al.*, 2012). Utvärderade mätmetoder skulle möjliggöra för användaren att anpassa sitt val av metod, något som skulle kunna underlätta både vid forskning och i den kliniska verksamheten.

En vanlig ledsjukdom hos katt är OA (prevalens baserat på radiologiska förändringar har i studier angetts vara 33.9 % (Clarke *et al.*, 2005), 61 % (Slingerland *et al.*, 2011) och 90 % (Hardie *et al.*, 2002)) där ökad benbildning ses i form av bildandet av osteofyter och benskleros i affekterade leder (Omoumi *et al.*, 2019; Godfrey, 2005; Hardie *et al.*, 2002). Även tecken på minskad benförekomst kan ses vid OA, framför allt vid långt framskridet förlopp (Yusup *et al.*, 2015; Carlson & Weisbrode, 2012). Det är därför av intresse att se om det föreligger skillnader i både bendensitet och benvolym hos katter med OA jämfört med katter utan OA. Kunskap om detta skulle kunna vara värdefullt både som ett led i diagnostik men även för vidare forskning avseende etiologin, vilken är långt ifrån klarlagd hos katt.

Sökningar i vetenskapliga databaser (PubMed, Web of Science, Scopus, Google Scholar) utförda av författaren har inte funnit några studier som undersökt huruvida benvolym och bendensitet (i affekterad extremitet och helkropp) skiljer sig mellan katter med OA och katter utan OA.

Huvudsyftet med detta arbete är att jämföra två metoder för beräkning av benvolym och bendensitet utifrån helkroppss DT-bilder. Den ena metoden innefattar mer manuellt arbete men innebär mindre risk att delar av skelettet inte räknas med och ansågs vara referensstandard. Den andra metoden är snabbare att utföra och går ut på att datorn själv bygger en modell av skelettvävnaden (utefter av användaren angivna förutsättningar). Hypotesen var att uppmätta värden för bendensitet och benvolym från de två metoderna har en stark korrelation.

Studien syftade även till att undersöka om det finns ett samband mellan bendensitet och ålder, bendensitet och kön samt bendensitet och storlek (benvolym), samt att undersöka huruvida OA påverkar bendensitet och benvolym. Hypoteserna var att endast ålder och storlek har ett samband med bendensitet samt att katter med OA har en lägre bendensitet och benvolym jämfört med friska katter, både vid mätning av OA-affekterad extremitet och vid mätning av helkropp.

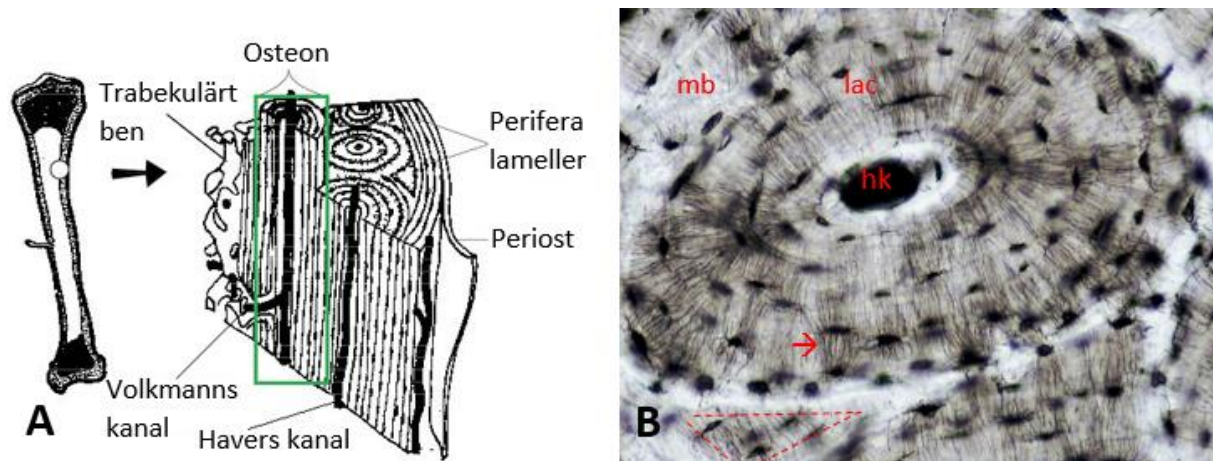
## LITTERATURSTUDIE

### Olika typer av benvävnad

Skelett i olika former förekommer hos många typer av organismer, allt från det hydrostatiska skelettet hos nässeldjur och exoskelett hos insekter till ryggradsdjurens endoskelett. Uppbyggnad och sammansättning varierar men gemensamt är att skelettet är nödvändigt för struktur och rörelseförmåga. Hos ryggradsdjur har skelettet till funktion att bära upp kroppens vikt och utgöra ett mekaniskt stöd för denna, men även utgöra ett skydd för kroppens inre organ. Genom att fungera som hävarm möjliggör skelettet även rörelser av kroppen. Benvävnaden i sig utgör kroppens reserver av framför allt kalcium och fosfor och spelar därmed en viktig sekundär roll i den homeostatiska regleringen av blodets kalciumnivåer. Hos en vuxen individ finns ungefär 99 % av individens kalcium och 85–90 % av individens fosfor lagrat i ben-vävnaden (Sjaastad *et al.*, 2012). Vanligtvis är kroppens ben uppbyggt av ett yttre hölje av kompakt ben vilket innesluter spongiös benvävnad (trabekulärt ben). Andelen trabekulärt ben varierar beroende på vilket ben som avses.

Ben är en typ av bindväv, vilken karakteriseras av mineraliserad extracellulär matrix. Främsta mineralen är kalciumfosfat i form av hydroxyapatitkristaller  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  (Hazenbergh *et al.*, 2007). Initialt är all benmatrix dock omineraliserad. Omineraliserad benmatrix (osteoid) produceras och utsöndras av osteoblaster och består till största del av olika typer av kollagen ihop med andra icke-kollagenösa matrixproteiner (Franz–Odendaal *et al.*, 2006). Viktmässigt utgörs 90 % av matrixproteinerna av kollagen. Kollagen utgör de 3D-strukturerna i benvävnaden, till vilka hydroxyapatitkristaller fäster i samband med mineralisering. Kollagen bidrar även till benvävnadens mekaniska egenskaper (Jäger & Fratzl, 2000). Den vanligaste typen av kollagen är kollagen typ I. Kollagen typ III, V, XI och XIII förekommer i små mängder. Resterande tio viktprocent består av matrix (grundsubstans) som innehåller icke-kollagena proteiner (Ross & Pawlina, 2011). Proteinerna i grundsubstansen spelar bl.a. en viktig roll i mineraliseringsprocessen av benmatrix (Gorski, 2011) och diskuteras kunna minska de krafter som uppstår i benvävnad vid mekanisk belastning (Fantner *et al.*, 2007). De fyra huvudgrupperna av icke kollagena proteiner som finns i grundsubstansen är proteoglykaner, multi-adhesiva glykoproteiner (t.ex osteonectin och osteopontin), benspecifika vitamin-K beroende proteiner (t.ex osteocalcin) samt gruppen tillväxtfaktorer och cytokiner (Ross & Pawlina, 2011).

Benvävnad kan klassas som mogen eller omogen, kompakt eller trabekulär (Fig. 1). I mogen benvävnad ligger benproducerande celler (osteoblaster) mer strukturerat och arbetar mer synkroniserat jämfört med omogen benvävnad (Franz–Odendaal *et al.*, 2006). Utsöndrade kollagenfibrer i moget ben anordnas som följd av detta i parallella lameller, varför moget ben även kallas lamellärt ben. Omoget ben ses endast vid bildandet av primärtrabekler (endokondral benbildning), intramembranös benbildning och vid olika patologiska tillstånd. Förekomst av omoget ben hos en vuxen individ anses alltid patologiskt. I kompakt ben anordnas lamellerna mestadels i koncentriska cirklar medan de i trabekulärt ben vanligtvis ligger parallellt med bentrabeklernas yta (Carlson & Weisbrode, 2012).



Figur 1. Strukturell uppbyggnad av mogen benvävnad. (A) Havers kanal innehåller bland annat blodkärl och löper i benets längdriktning. Dess tvärgående utskott kallas Volkmanns kanal och förbinder Havers kanaler med varandra. Perifera lameller är resultatet av benbildning genom modellering. Trabekulärt ben och den sida av kompakt som vetter mot lumen av benet är beklätt med endost. (B) Tvärsnitt av kompakt ben. Havers kanal (hk), mineraliserad benmatrix (mb), canaliculi (mikroskopiska kanaler som löper mellan osteocyter i benvävnaden) innehållandes cytoplasmatiska utskott från osteocyter (pil) samt lakin innehållande osteocyt (lac). Streckad triangel visar rest av gammal osteon efter remodelering. Bildkällor (modifierade): A) Manke (2011) (licens under CC BY 3.0) och B) Berkshire Community College (2018) (licens under CC0 1.0).

Endost och periost är tunna bindvävshinnor vilka bekläder benets insida respektive utsida. Utöver rikligt med blodkärl och nerver innehåller hinnorna även blivande benbildande celler (osteoprogenitorceller) samt blivande bennedbrytande celler (osteoklaster). Osteoprogenitorceller är fibroblastlika prekursorceller till osteoblaster och härstammar från mesenkymala stamceller i benmärgen. Genetiskt sett kan osteoblaster ses som en avancerad fibroblast (Ducy *et al.*, 2000). Progenitorceller till bennedbrytande celler härstammar från hematopoetiska stamceller (Ash *et al.*, 1981; Marks & Walker, 1981) och är en typ av monocyter som under påverkan av signalsubstanser differentierar till pre-osteoklaster. Flera pre-osteoklaster kan sedan smälta samman och bilda multinukleära osteoklaster (Segovia–Silvestre *et al.*, 2009)

Närmast benytan (d.v.s. de ytor av benvävnaden som vetter mot exempelvis behinnor och blodkärlsförsedda kanaler) ligger normalt ett lager med osteoblaster i olika stadier av aktivitet. I områden utan nybildning av benvävnad är osteoblaster vilande (s.k. "bone lining"-celler), vid nybildning av benvävnad sker istället proliferation och differentiering av osteoblaster (Franz–Odendaal *et al.*, 2006). Direkt under "bone lining"-cellerna ligger ett tunt lager av osteoid (lamina limitans) och under detta mineraliserad benvävnad. Mikroskopiskt brukar osteoblaster som är omgivna av osteoid eller mineraliserad benmatrix kallas osteocyter men det finns även funktionella skillnader mellan de två. Övergången från osteoblast till osteocyt går gradvis och baserat på hur cellens funktion ändras kan osteoblaster och osteocyter delas in i olika undergrupper under omvandlingens gång (Franz–Odendaal *et al.*, 2006). Osteocyterna är förbundna med varandra och med osteoblaster vid benytan genom cytoplasmatiska utskott som möjliggör kommunikation mellan cellerna samt transport av kalcium och fosfat in och ut ur benvävnaden (Ross & Pawlina, 2011; Franz–Odendaal *et al.*, 2006). Osteoblaster har i sin tur visats vara förbundna med celler i närliggande blodkärls cellvägg (Kamioka *et al.*, 2001; Manolagas, 2000).

För att mineraliserad benvävnad ska kunna brytas ned måste först osteoklaster demineralisera vävnaden. I områden där ingen omsättning av benvävnad pågår, utgör ”bone lining”-cellerna i sig ett mekaniskt skydd för benet mot osteoklaster men även lamina limitans utgör ett viktigt skydd då osteoklaster inte kan adherera till omineraliserad osteoid (Raggatt & Partridge, 2010; Manolagas, 2000).

Skelettets metaboliska aktivitet är som mest omfattande under individens tillväxt men benvävnaden fortsätter vara metabolt aktiv genom individens hela livstid. Benvävnaden genomgår konstant remodelering och anpassning till yttre faktorer såsom exempelvis ökad/minskad belastning men även som svar på ändrade behov av kalcium och fosfor. Det sistnämnda sker bland annat i samband med dräktighet och laktation men även vid andra situationer då förlusten av kalcium och fosfor är omfattande (Sjaastad *et al.*, 2012).

## **Benbildning och benresorption**

Det finns en stor mängd sjukdomstillstånd vilka kan påverka benbildning och benresorption, både direkt och indirekt men även lokalt eller systemiskt. Förändringarna kan vara kopplade till exempelvis inflammation/infektion, neoplasier, rubbningar i benvävnadens omsättning, frakturer eller en onormal tillväxt och utveckling av ben. Minskad benmassa kallas osteopeni. Omfattande minskning (och därmed ökad risk för fraktur) kallas osteoporos. Bristfällig mineralisering av osteoid leder till benvävsuppmjukning (osteomalaci). Onormal benförhårdning och/eller benförtätning kallas osteoskleros (Lindskog, 2008).

### ***Benbildning***

Benbildning inleds med att osteoblaster producerar och utsöndrar beståndsdelarna till benmatrix. Bildandet av osteoid följs av en mognadsperiod efter vilken mineraler deponeras i utbyte mot vatten (Ross & Pawlina, 2011).

Biologisk benmineralisering sker extracellulärt men är en cellreglerad process som involverar utsöndring av matrixvesikler till benmatrix. Fullständigt mineraliserat ben utgör viktligt ungefär 65 % av kroppens benvävnad (Carlson & Weisbrode, 2012) och består utöver kollagen och icke kollagena proteiner även av bl.a. tillväxtfaktorer, kalcium, fosfor, karbonat, magnesium, natrium, mangan, zink, koppar och fluor (Craig *et al.*, 2016) och vatten (Jäger & Fratzl, 2000; Frost, 1960)

I samband med att osteoblasten tillverkar benmatrix utsöndras matrixvesikler (Franz–Odendaal *et al.*, 2006). I membranet på vesiklerna finns förutom fosfolipider och adenosintrifosfat även enzymer, bl.a. alkalint fosfatas. I dessa utsöndrade vesikler tas framför allt kalcium och fosfor (samt även andra ämnen) upp från omgivningen och ansamlas i så pass höga koncentrationer att en utfällning av amorf hydroxyapatit sker. När tillräckligt stor mängd amorf hydroxyapatit bildats övergår det till kristallin form. Den kristallina formen har förmågan att penetrera vesikelns membran och expandera ut i mellanrummen mellan kollagenmolekylerna i matrix. För att mineraliseringen ska kunna sprida sig vidare krävs att naturligt förekommande ämnen i benmatrix som hämmar mineralisering, t.ex. oorganiska pyrofosfater, bryts ner. Fosfaterna i vesikelns membran har förmågan att klyva tidigare nämnda oorganiska fosfater och därmed inaktivera deras hämmande funktion. När hålrummen mellan kollagenfibrerna är fyllda och

hämmarna inaktiverade, fortsätter mineraliseringen med att täcka både ytan och mellanrummen mellan kollagenfibrerna (Carlson & Weisbrode, 2012). I omoget ben initieras mineraliseringen genom utsöndringen av dessa vesikler som binder ihop fria molekyler av kalcium och fosfor till hydroxyapatitkristaller. I moget, lamellärt ben är initiering av mineraliseringprocessen inte lika avhängd tidigare nämnda vesikler då glykoproteiner såsom sialoprotein och osteonectin kan fungera som katalysatorer för mineraliseringprocessen (Carlson & Weisbrode, 2012).

### **Resorption**

Benresorption utförs av osteoklaster. Innan resorption av benvävnad kan inledas måste det tunna lagret av omineraliserad osteoid som täcker benytan avlägsnas. Exakt hur detta regleras är ej känt men en teori är att "bone lining"-cellerna utsöndrar kollagenas som bryter ner benvävnadens kollagen samt att samma celler, som svar på signaler från osteocyter längre in i benvävnaden, skickar signaler som attraherar osteoklastprekursorer till platsen (Manolagas, 2000). Flera osteoklastprekursorer smälter samman och bildar en osteoklast som fäster till mineraliserad benvävnad med hjälp av en tunn ring av aktinfilament och extracellulära adhesionsmolekyler som fäster till matrix. Innanför ringen bildar osteoklasten cytoplasmatiska utskott (kallas brush border då de liknar en borste) genom vilka klorid- och vätejoner kan utsöndras. Nedbruten benvävnad och slaggprodukter tas av osteoklasten upp med dessa utskott genom endocytos och utsöndras sedan på motsatt sida av osteoklasten (Carlson & Weisbrode, 2012; Ross & Pawlina, 2011)

När en osteoklast fäster till mineraliserad benvävnad sker benresorptionen i två steg: dekalcifiering och därefter nedbrytning. Innan nedbrytning av matrix kan ske måste benvävnaden dekalcifieras. Dekalcifiering inleds med att vätejoner frigörs i osteoklastens cytoplasma. Vätejonerna pumpas därefter med hjälp av protonpumpar i cellens utskott ut i det avgränsade området under cellen varpå pH sänks till 4–5 och mineralkomplexen i benvävnaden, företrädesvis hydroxyapatit, omvandlas till kalciumjoner, vattenlösliga fosfater och vatten (Carlson & Weisbrode, 2012). Samtidigt utsöndrar osteoklasten enzymer, metalloproteinaser och cathepsin K, vilka bryter ner de organiska komponenterna av benmatrix till polypeptider (Manolagas, 2000). Urgröpningen som bildas i benmatrix kallas Howships lakuner. När tillräcklig mängd benvävnad resorberats genomgår osteoklasterna apoptos (Carlson & Weisbrode, 2012).

### **Modellering**

Modellering innebär förändring av form eller kontur av ett ben som svar på normal skelett-tillväxt, förändrad mekanisk påfrestning eller sjukdom. Vid modellering kan benytor (periosteal-, endosteal-, intrakortikal- och trabekulära) gå direkt från vilande till resorption eller tillväxt. På så vis möjliggörs exempelvis förändringar i storlek och form samt att benet kan bibehålla sin form under tillväxt. Benvävnad som skapats genom modellering genomgår ganska snart remodelering (Robling *et al.*, 2006) Vid remodelering måste resorption föregå nybildning, något som inte gäller vid modellering

### **Remodellering**

Remodellering innebär att gammal benvävnad resorberas och ersätts med ny. Detta sker kontinuerligt på en basalnivå hos individer av alla åldrar. Basal remodelering bidrar till att

kroppen kan upprätthålla homeostas av kalcium- och fosfatbalansen i kroppen. I samband med de belastningscykler som skelettet utsätts för bildas mikrosprickor i benvävnaden (Frost, 1960). Genom remodelering möjliggörs reparation av dessa och bidrar därmed till att optimal benhållfasthet upprätthålls. Remodellering sker i form av strukturella komplex, dvs ett avgränsat område där nedbrytning och nybildning av benvävnad sker efter ett givet mönster och utförs av s.k cellulära enheter (basic multicellular units) där bland annat osteoklaster och osteoblaster ingår (Ross & Pawlina, 2011; Robling *et al.*, 2006).

Remodellering av kompakt ben sker genom resorption och återuppbyggnad av enskilda osteoner. Nya osteoner är mindre mineraliserade än äldre, detta på grund av att det sker en andra mineralisering av benvävnaden som, till en viss gräns, pågår även efter att osteonen är färdigremodellerat (Ross & Pawlina, 2011)

I trabekulärt ben kallas remodeleringskomplexet för basal strukturell enhet. Remodellering börjar vid ytan av trabekeln med att osteoklaster genom resorption av ben bildar en urgröpnings i trabekelns längdriktning. En så kallad cementlinje bildas där resorptionen upphör och denna utlinjeras av osteoblaster som börjar producera osteoid. Lager av lameller bildas och när hela urgröpnings är fylld upphör osteoblasterna att utsöndra osteoid (Carlson & Weisbrode, 2012).

Enligt Robling *et al.* (2006) är nyckelkoncept vid remodelering:

- Det finns en koppling mellan nedbrytning av ben och bennybildning i det att nedbrytning av ben alltid följs av nybildning.
- Det finns benvävnadsbalans, d.v.s. nettoskillnaden mellan mängden nedbruten benvävnad och nybildad benvävnad efter remodelering är noll.
- Hur många cellulära enheter som är aktiva samtidigt inom ett område. Påverkas dels av frekvensen med vilken nya cellulära enheter aktiveras (aktiveringsfrekvensen) och dels livslängden på enskilda cellulära enheter (sigmaperioden). Livslängden motsvarar det antal dagar det tar för en cellulär enhet att remodelera en osteon (kompakt ben) eller en basal strukturell enhet (trabekulärt ben).

De flesta bensjukdomar kan klassificeras efter hur nettobalansen, aktiveringsfrekvensen och sigmaperioden påverkas. Exempelvis vid hyperparathyroidism hos människa ökar aktiveringsfrekvensen, sigmaperioden minskar men det sker ingen förändring i nettobalansen (Robling *et al.*, 2006)

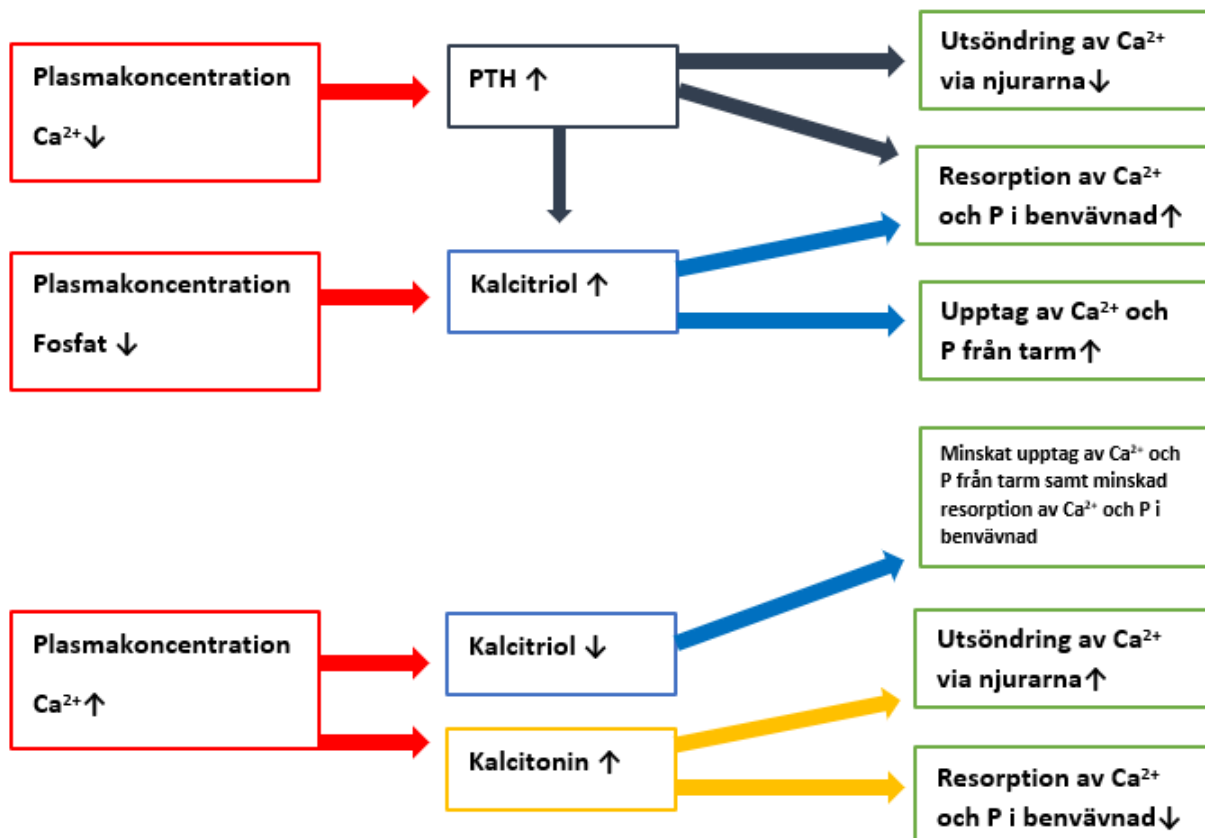
Hos människa tar det 3–4 månader från det att osteoklaster börjat resorbera ben till dess att osteoblaster fyllt igen området med ny benvävnad, detta oavsett bentyyp (Carlson & Weisbrode, 2012). Med stigande ålder hos individen kommer balansen i den basala remodeleringen förskjutats varpå det resorberas lite mer benvävnad än vad som ersätts vilket leder till en nettoförlust av benvävnad i samband med varje remodeleringscykel, något som till viss del kan förklara varför benmassan minskar med tilltagande ålder.

## Vad påverkar mineraltätheten i benvävnad

### Reglering av kalcium och fosfor på helkroppsnivå

Endokrina systemet, i samarbete med njurar och tunntarm, reglerar med hjälp av paratyreoidea-hormon (PTH), kalcitriol och kalcitonin de extracellulära halterna av kalcium och fosfor (Fig. 2). Systemet är känsligt för fluktuationer av kalciumkoncentrationen i blodplasma men kan inte hantera stora svängningar som sker snabbt. För PTH tar det flera timmar innan full effekt uppnås, Kalcitonin verkar snabbare än PTH och uppnår full effekt efter ca en timme (Ross & Pawlina, 2011). Hur blodplasmakoncentrationen av kalcium regleras minut för minut är ännu inte klarlagt (Nordholm *et al.*, 2015) men det är inte kopplat till PTH och dess efterföljande signalering (Dedic *et al.*, 2018), något som även stöds av andra studier (Wang *et al.*, 2002; Lewin *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 1999a; Wang *et al.*, 1999b). Nordholm *et al.* (2015) drog slutsatsen att njurarna, utan påverkan av PTH, kan spela en viktig roll i den momentana regleringen.

Trots att plasmakoncentrationen av kalcium vanligtvis kan justeras inom ett tidsperspektiv i storleksordningen av timmar kan det krävas månader eller år för att återställa mineraldepåer i benvävnad (Sjaastad *et al.*, 2012).



Figur 2. Reglering av kalciumhomeostas i blodet. Kalcitonin har en sänkande effekt på plasmakoncentrationen av kalciumjoner ( $\text{Ca}^{2+}$ ) och fosfat (P). Parathormon (PTH) har en höjande effekt på plasmakoncentrationen av kalciumjoner och fosfat. Även kalcitriol har en höjande effekt på plasmakoncentrationen av kalciumjoner och fosfat.



Värt att notera är att PTH även har en anabol verkan på benvävnad, d.v.s. kan stimulera bentillväxt (Hodsman *et al.*, 2005). Exakta mekanismer är okänt men en teori är att det är kopplat till vilken typ av PTH-reglerade gener som aktiveras vid tillfället (Ross & Pawlina, 2011).

Benvävnaden påverkas även av andra hormon såsom tillväxthormon (ökar upptaget av kalcium från födan hos unga individer), könshormon (hämmar benresorption och motverkar utveckling av osteoporos) och överproduktion av kortisol eller långtidsbehandling med glukokortikoider (hämmar bildandet av osteoblaster) (Sjaastad *et al.*, 2012).

### **Reglering av kalcium och fosfor lokalt i vävnaden**

Vätska i benvävnaden (bone tissue fluid, BTF) diskuteras vara viktig i regleringen av benvävnadens mineralisering. BTF finns i utrymmet mellan benmatrix och det nätverk som bildas av osteocyter, osteoblaster samt deras utskott. I ytan på benvävnaden som är i kontakt med BTF sitter kalcium- och fosfatjonerna endast löst bundna och är därmed tillgängliga för snabbt upptag från /deponering i BTF, som därmed skulle kunna fungera som en depå med lättillgängliga kalciumjoner (Dedic *et al.*, 2018). En teori är att denna vätska skiljs från övrig extracellulär vätska i kroppen med hjälp av de osteoblaster som utlinjerar benvävnaden. Osteoblaster och osteocyter kan därmed reglera flödet av kalcium- och fosfatjoner mellan BTF och övrig extracellulär vätska (Carlson & Weisbrode, 2012). Den sammanlagda volymen av BTF är förhållandevis liten men den totala ytarean av benvävnad som angränsar BTF är stor, med ca. 24 ml respektive 215 m<sup>2</sup> hos en vuxen människa (Buenzli & Sims, 2015). Detta innebär att en ansenlig mängd kalciumjoner snabbt kan flyttas mellan BTF och övrig extracellulär vätska utan strukturella förändringar i benet (Carlson & Weisbrode, 2012). Därmed kan BTF fungera som en snabb och effektiv buffert för att upprätthålla den kortsiktiga kalcium-homeostasen men hur detta regleras är inte fastställt (Dedic *et al.*, 2018).

Det finns även en teori som går ut på att osteocyter vid omfattande rubbning av kalcium-homeostasen till och med kan bryta ner närliggande mineraliserad vävnad och resorbera mineraler. Förekomsten av detta fenomen tolkas som ovanlig och bedöms inte bidra till osseösa skador i någon större omfattning (Carlson & Weisbrode, 2012).

### **Belastningens inverkan på benvävnad**

Kompakt ben anpassar sin tjocklek efter omfattningen på belastning för att på så vis kunna ta upp huvuddelen av de krafter som påverkar benet. Även formen på själva benet kan ändras för att bättre stå emot yttre belastning. Dessa två påståenden förutsätter dock att krafterna inte är allt för stora och tillräckligt med tid för anpassning ges (Frost, 1994). I spongiöst ben avspeglar riktningen på trabeklerna en anpassning (genom modellering) till den mekaniska påfrestning benet utsätts för. Trabeklerna formas till att gå i en riktning som är vinkelrät mot kraften som påverkar benet, de är även tjockare och fler i antal på den sida kraften verkar mot jämfört med andra sidan (Carlson & Weisbrode, 2012). Signifikanta förändringar i benhållfasthet kan uppnås genom relativt små förändringar i benvävnadens mineraldensitet (Warden *et al.*, 2005; Robling *et al.*, 2002). Frånvaro av belastning leder till förlust av benvävnad (Jaworski *et al.*, 1980)

Ofta refereras det till Wolffs lag (skriven år 1892) i samband med benvävnadens adaptation till yttre påfrestningar (Brand, 2010). Wolff menade att ben har förmågan att, genom okända mekanismer i benvävnaden, omvandla den belastning benet utsätts för till väldigt specifika förändringar i trabekulär benvävnad. Förändringarna i trabekulernas utformning skulle följa matematiska regler. De förändringar som sågs i benets yttre form skulle vara en följd av förändringarna i den trabekulära strukturen (Avrunin & Tses, 2016). Dock syftade Wolff på väldigt specifika matematiska regler (regler för hållfasthetslära) och han tog varken hänsyn till genetikens roll vid utformning av ben eller hur ålder påverkar benvävnadens förmåga till anpassning och det finns en del tveksamheter kring underlaget på vilket han bygger sin idé. Kärnan i Wolffs lag kan på svenska sammanfattas ungefär: "Var förändring avseende antingen form och funktion hos ett ben eller bara dess funktion följs av en, av matematiska lagar, given förändring i benets inre arkitektur såväl som en lika ofrånkomlig förändring i dess yttre utformning" (Brand, 2010; Frost, 1994). Idag syftas ofta på ett mer generellt koncept, benets funktionella anpassning till mekanisk belastning, när man pratar om Wolffs lag (Ruff *et al.*, 2006).

En teori som diskuteras idag är att osteocyterna kan upptäcka flödesförändringar av BTF och därmed initiera anpassning av benvävnaden. Förklaringen går ut på att det alstras elektriska strömmar (så kallade "streaming potentials") i cellen i samband med att vätskan rör sig då flödet fungerar som mekaniskt stimuli. Vid ändrad belastning/påfrestning på benet eller om mikrofrakturer uppstår ändras dessa flöden vilket leder till att osteocyten signalerar till osteoblasterna vid benytan att inleda benbildning eller stimulera till benresorption (Carlson & Weisbrode, 2012). Schaeffer *et al.* (2014) beskriver att det inte är fastställt vilka mekanismer som cellen använder för att känna av flödet men tänkbara varianter är det sker via cilier och/eller att flödet i BTF orsakar en förändring av osteocyten och dess utskott vilket i sin tur registreras av aktinfilament inuti cellen.

En andra teori Schaeffer *et al.* (2014) tar upp är att osteocytens utskott sitter fast i benvävnaden vid speciella punkter med hjälp av integriner och att det i samband med rörelser uppstår dragkrafter i utskotten. Detta baseras på att man sett olika typer av integriner i cellmembranet i områden där väggarna på canaliculin har små inbuktningar. Som förklaringsmodell anges att en frånvaro av signaler från osteocyter i benvävnaden, exempelvis på grund av apoptos i samband med mikrospricka, leder till att de närmast liggande levande osteocyterna ökar sin utsöndring av substanser som stimulerar benresorption, t.ex. Tumörnekrosfaktor (TNF) ligand superfamilj, medlem 11 (RANKL) varpå osteoklasterna aktiveras och påbörjar remodelering. Vidare skulle en ökad mekanisk belastning på benvävnaden kunna leda till att osteocyterna ökar utsöndringen av substanser (exempelvis prostaglandin E2 och kväveoxid) som stimulerar osteoblasterna till att börja utsöndra osteoid medan en minskning eller frånvaro av belastning skulle leda till en nedreglering av dessa substanser och istället en uppreglering av osteoblasthämmande ämnen såsom sclerotin (Schaffler *et al.*, 2014).

Belastning misstänks även kunna påverka uttrycket av gener som styr utsöndring av tillväxtfaktorn fibroblast growth factor 23 (FGF 23) hos osteocyterna. Fibroblast growth factor 23 deltar i regleringen av njurarnas reabsorption av fosfat. Normalt hålls utsöndringen av FGF 23 på en låg nivå varpå njurarna kan resorbera fosfat och serumkoncentrationen av fosfat är då

tillräcklig för att bibehålla mineralbalansen i benvävnaden. Det skulle därmed kunna finnas en koppling mellan mekanisk belastning av skelettet och fosfatmetabolismen i kroppen (Bonewald, 2007). Studier indikerar att generna som styr utsöndring av FGF 23 även kan verka lokalt och spela en roll i regleringen av osteoidmineraliseringen (Schaffler *et al.*, 2014).

### **Osteoartrit och dess inverkan på benvävnad**

Osteoartrit är en lågradig inflammatorisk och degenerativ ledsjukdom som drabbar synovialleder hos huvudsakligen äldre individer. Förändringarna är i vissa fall kopplade till smärta men i andra fall inte (Lascelles *et al.*, 2012; Clarke *et al.*, 2005; Hardie *et al.*, 2002). Vid OA involveras hela leden och inte bara brosket utan alla komponenter spelar en viktig roll i sjukdomsutvecklingen (Omoumi *et al.*, 2019; Wei & Bai, 2016; Loeser *et al.*, 2012). Som ett led i detta utförde Omoumi *et al.* (2019) en studie där man med hjälp av datortomografi undersökte knäleder på människa. Knäleder utan OA jämfördes med knäleder med bedömd grav OA. I knäleder utan OA förelåg en tydlig, positiv korrelation mellan subkondral bendensitet och tjockleken på ledbrosket. I knäleder med OA förelåg en tydlig, negativ korrelation mellan subkondral bendensitet och brosktjocklek: ju tunnare brosk desto högre subkondral bendensitet. Den positiva korrelationen i de friska lederna talar för att det pågår ett samspel mellan ben- och broskvävnad i leden men som är satt ur spel vid OA (Omoumi *et al.*, 2019).

Vid OA förändras benvävnaden som svar på både biokemiska signaler och förändringar i belastning (Anderson–MacKenzie *et al.*, 2005). De förändringar som uppstår i subkondralt ben i en affekterad led varierar. Baserat på studier av människa och olika djurslag delar Li *et al.* (2013) in förloppet i förändringar som ses vid tidigt skede av sjukdomen och förändringar som ses i slutskedet. Initialt ses lindrig degeneration av ledbrosk, mikroskador i den subkondrala benplåtån (det kompakta benet som ligger närmast ledbrosket), minskad tjocklek och ökad porositet av den subkondrala benplåtån samt degeneration av subkondrala trabekler i form av minskad storlek och densitet (Li *et al.*, 2013). I sent skede ses omfattande brosknedbrytning, en ökad tjocklek av zonen med kalcifierat brosk (mellan hyalint brosk och subkondralt ben), ökad tjocklek av den subkondrala benplåtån, subkondrala mikroskador och bencystor samt skleros av subkondrala trabekler (Li *et al.*, 2013). Med tiden bildas även osteofyter (Li *et al.*, 2013; Anderson–MacKenzie *et al.*, 2005) men det är oklart om osteofyter enbart driver på utvecklingen av OA eller om dessa kan ha en positiv, stabiliserande effekt på leden (van der Kraan & van den Berg, 2007).

I samband med OA sker en ökad vaskularisering i subkondralt ben som sträcker sig in i området av kalcifierat brosk. Som en följd av detta expanderar området med kalcifierat brosk in i områden av hyalint brosk, vilket därmed tunnas ut lokalt (Walsh *et al.*, 2007). En studie indikerar att den ökade vaskulariseringen utgår från Havers kanaler i subkondrala benplåtån. Expanderande blodkärl migrerar i riktning mot ledytan genom zonen av kalcifierat brosk och i anslutning till kärnen bildas ben genom vad som misstänks vara endokondral benbildning (Thambyah & Broom, 2009). Sammanfattningsvis förtjockas subkondrala benplåtån och zonen av kalcifierat brosk förskjuts mot ledytan på bekostnad av zonen med hyalint brosk, vilken förtunnas.

Aseptisk inflammation är en grundpelare i patogenesen för OA. Vid inflammation aktiveras ofta både det medfödda och det adaptiva immunförsvaret och en rad olika cytokiner, kemokiner och tillväxtfaktorer utsöndras av cellerna i det inflammerade området (Greenblatt & Shim, 2013). Studier har visat att immunförsvarsceller, både medfödda (makrofager, dendritiska celler, monocyter och NK-celler) och adaptiva (T-celler, B-celler), kan påverka aktiviteten hos osteoklaster och osteoblaster men även påverka differentiering av mesenkymala stamceller i området genom utsöndring av tidigare nämnda ämnesgrupper (Gibon *et al.*, 2017; Greenblatt & Shim, 2013). Även det omvända gäller, det sker med andra ord ett samspel mellan alla dessa celler. Immunförsvarscellernas påverkan måste inte ha en katabol effekt på benvävnaden utan kan även vara anabol, beroende på omständigheterna; makrofager kan exempelvis antingen hämma eller stimulera osteoklasternas aktivitet (Kovach *et al.*, 2015). Generellt har proinflammatoriska cytokiner en hämmande effekt på osteogenes och antiinflammatoriska cytokiner en stimulerande effekt. Samtidigt spelar koncentration, exponeringstid och mottagande cell in då till exempel TNF- $\alpha$  (en proinflammatorisk cytokin) kan verka både hämmande eller stimulerande på osteogenes (Loi *et al.*, 2016). Vad man idag vet är att inflammationsprocessen som uppstår vid en skada på benvävnad gynnar läkning under förutsättning att den inte pågår för länge och att mekanismerna som reglerar alla inblandade celler fungerar korrekt (Gibon *et al.*, 2017). Kommunikationen och samspelet mellan alla inblandade celler i området är mer omfattande än vad man tidigare trott men långt ifrån klarlagd i detalj (Gibon *et al.*, 2017; Loi *et al.*, 2016; Kovach *et al.*, 2015; Greenblatt & Shim, 2013).

### **Metoder för att mäta bendensitet hos patienter**

Med bendensitet avses i detta arbete ett samlingsnamn för de faktorer i benvävnaden som påverkar benvävnadens attenuering av röntgenstrålning, d.v.s. omfattningen av röntgenstrålar som bortfaller vid radiologisk bilddiagnostik.

Det finns ett antal olika metoder för att skatta bendensitet. Användbara tekniker är konventionell röntgen, DEXA, single-energy X-ray absorptiometry, kvantitativt ultraljud, magnetresonanstomografi, kvantitativ DT, perifer kvantitativ DT och mikro-DT.

### **Dual-energy X-ray absorptiometry**

I dagsläget är DEXA den mest utbredda tekniken för att mäta bendensitet inom humanmedicin (Schreiber *et al.*, 2014) och är gold standard för mätning av bendensitet i samband med osteoporosbedömning (WHO Scientific Group on the Prevention and Management of Osteoporosis (2000: Geneva), 2003). Tekniken utför tvådimensionella analyser av tredimensionella objekt och går ut på att mäta attenueringen av röntgenstrålar med två olika, standardiserade, energinivåer. Genom att använda en stabil källa för röntgenstrålar skickas röntgenstrålar med två olika energinivåer ("hög" och "låg") genom den vävnad man vill undersöka. (Dhainaut *et al.*, 2016).

Röntgenrör och detektor är låsta i förhållande till varandra men skannar systematiskt av området som ska undersökas. Eftersom röntgenstrålarna är avskärmade (kollimerade) krävs flera passager (sida till sida) för att täcka det önskade området. Det skapas en tvådimensionell bild av området där attenueringen av röntgenstrålning med respektive energinivå mäts i varje

enskild punkt (pixel) och man får en kvot mellan attenueringen av hög- och lågenergistrålar. Utifrån denna kvot beräknas sedan bendensitet i pixeln. I takt med att området skannas av skapas en benprofil (graf där linjen motsvarar densiteten i varje pixel längs ett tvärsnitt av bilden och arean under grafen motsvarar arean av benvävnad) för varje tvärpassage över området. Bendensiteten i respektive tvärpassage ( $M_B$ ) beräknas som medelvärdet av bendensiteten i benprofilen. Efter att hela området är skannat räknar datorn hur många pixlar som har densitet motsvarande ben och beräknar benarean (BA). Områdets bendensitet beräknas som medelvärdet av samtliga  $M_B$ . Mängden benmineral (BMC) i området kan därefter beräknas enligt  $BMC(g) = \text{bendensitet (g/cm}^2) \times BA \text{ (cm}^2)$  (Crabtree *et al.*, 2007).

Styrkan hos DEXA är framför allt den låga stråldosen patienten utsätts för (jämfört med andra radiologiska metoder) i samband med undersökningen kombinerat med att metoden har hög precision vid mätning av bendensitet (Crabtree *et al.*, 2007).

En svaghet med DEXA är att bendensitet mäts per ytenhet och inte per volymenhet. Eftersom tekniken inte heller tar hänsyn till tjockleken på benet och därmed inte använder det som en faktor vid mätningen innebär det att om man mäter bendensiteten på ett stort ben (sett till längd och bredd) och ett litet ben där bågge har samma volymeriska bendensitet ( $\text{g/cm}^3$ ) kommer det mindre benet mäta en lägre areal bendensitet ( $\text{g/cm}^2$ ) än det större. Andra nackdelar är att DEXA summerar kortikalt och trabekulärt ben och dessa är därmed svåra att särskilja. Mätresultaten varierar med tillverkare, modell och mjukvaruversion varför det är svårt att jämföra resultat och ta fram referensvärden (Crabtree *et al.*, 2007). Vissa typer av DEXA-apparater är känsliga för den förstoringseffekt som uppstår vid ökat avstånd mellan skelett och detektor, vilket kan ske vid exempelvis fetma p.g.a. den ökade mängden mjukdelsmassa (Pocock *et al.*, 1997; Blake *et al.*, 1993). Positionering av kroppen i samband med undersökningen har också inverkan på mätresultatet (Markel *et al.*, 1994).

Single-energy X-ray absorptiometry är en variant på DEXA och fungerar enligt samma princip som DEXA men man använder bara röntgenstrålar med en och samma energinivå istället för två olika.

## **Principer datortomografi**

### **Generellt**

En datortomograf är uppbyggd av en skanningsenhet, ett patientbord samt en dator där man kan ställa in exponeringsparametrar. Skanningsenheten består av ett röntgenrör samt ett nätverk av detektorer, ordnade i rader. Flera detektorer utgör tillsammans datortomografens detektorsystem och kan variera i antal och placering. I moderna datortomografer täcks ungefär 60 grader av cirkeln av detektorer (d'Anjou, 2012). Skanningsenheten roterar under undersökningen 360 grader runt patientens längdaxel med röntgenrör och detektorer låsta mitt emot varandra. Vid DT mäts för varje varv tunna skivor av patienten med upprepade projektioner.

## **Röntgenstrålens väg**

Röntgenröret skapar röntgenstrålarna och är uppbyggd av ett vakuumrör innehållandes en negativt laddad katod (filament av volfram) och en positivt laddad anod (roterande skiva innehållandes volfram). Genom att anlägga en spänning mellan anod och katod. Baserat på inställd milliamperesekund (mAs) och kilovolt (kV) skapas en ström av elektroner från katoden till anoden som träffar anoden på en speciell punkt i utkanten av skivan (fokalpunkt). I samband med att elektronerna träffar anoden omvandlas ca 1 % av rörelseenergin till röntgenstrålning, resten blir värme (Saunders & Ohlerth, 2011). Den roterande anoden är vinklad så att majoriteten av utgående röntgenstrålningen riktas mot detektorerna (Thrall & Widmer, 2012). Röntgenröret på en datortomograf är anpassat för att möta de högre krav som ställs vid en DT-undersökning jämför med vanlig röntgen, vissa kan även klara att snabbt växla mellan två fokalpunkter på anoden (Goldman, 2008).

Trots kollimering direkt efter röntgenröret divergerar strålarna. Ytan som strålarna träffar när de lämnar patienten kommer därför vara något större än ytan de träffar strax innan de når patienten. När strålarna passerar igenom patienten kommer de antingen att: fortsätta rakt igenom och nå en detektor eller attenueras (Thrall & Widmer, 2012).

Med attenuering avses bortfall av röntgenstrålar orsakat av absorption och spridning. När en röntgenfoton passerar genom ett medium kan den interagera med elektronerna i atomernas innersta två elektronskal. I samband med detta kan röntgenfotonen absorberas helt eller tappa energi alternativt ändra riktning. Sannolikheten att endera av detta ska ske ökar med ämnets atomnummer. Även röntgenfotonens energimängd (mätt i kiloelektronvolt) påverkar och har ett omvänt förhållande till sannolikheten för attenuering (Seibert & Boone, 2005). Attenuering påverkas framför allt av elektrontätheten i mediet röntgenstrålarna passerar genom och kvantifieras genom att mäta andelen strålning som inte tar sig igenom en given tjocklek av ett visst material. Genom att känna till hur många fotoner som lämnar röntgenröret, hur många fotoner som fångas upp av detektorn samt tjockleken på det som absorberar kan man få fram den totala linjära attenueringskoefficienten ( $\mu$ ) för alla vävnader röntgenstrålarna passerar.

Innan man kan börja återskapa en bild över undersökt område måste man ställa in vissa parametrar. Exempel på dessa är rekonstruktionsinkrement (styr i vilken omfattning data från angränsande skivor ska överlappa varandra när man återskapar bilden) och rekonstruktionsfilter (reglerar kantförstärkning). Parametrarna måste noga anpassas efter storleken på området och typen av vävnad man vill undersöka.

## **Att skapa en bild**

Grundteorin för DT är man utför tusentals projektioner i exakta vinklar och kvantifierar hur mycket strålning som tar sig igenom vävnaden och når en detektor vid varje enskild projektion. En detektor är tvådelad där inkommande röntgenstrålar först penetrerar en kristall som omvandlar dessa till ljus. Ljuset omvandlas därefter av en fotodiod till en elektrisk ström som i sin tur omvandlas till ett värde för attenuering vilket används för att skapa en bild (d'Anjou, 2012). För varje enskild projektion mäter de detektorer som träffas av strålning attenueringen för den aktuella skivan och baserat på detta skapas en bild där det uppmätta värdet för varje

röntgenstråle (foton) tillskrivs strålens hela väg genom skivan. Att utifrån detektorns position i förhållande till röntgenröret härleda strålens väg genom vävnaden kallas backprojektion. Då hela strålens väg tillskrivs ett visst värde och bilden är uppbyggd av ett stort antal strålar får man en ”bild” med raka ränder i olika nyanser. Genom att summera backprojektioner från flera vinklar av samma skiva skapas den slutgiltiga bilden för skivan (Goldman, 2007).

För att kunna skapa bilden används en kraftfull dator som återskapar data från backprojektionerna och varje del av kroppen tillskrivs ett specifikt värde, vilket är en skattning av mängden strålning som bortfallit vid just den punkten. På så vis kan man därefter bygga en matris av voxlar (volymelement), var och en med ett fastställt s.k. attenueringsvärde. Nätverket av voxlar bildar en volym som kan granskas exempelvis skiva för skiva eller återskapas som en 3D-modell.

En voxel har formen av ett rätblock. Längden på voxeln styrs av skivans tjocklek, därmed är skivtjockleken en begränsande faktor för hur liten voxeln kan vara. Övriga två sidor styrs av storleken på ytan från vilken rådatan till bilden kommer samt storleken (antal rader och kolumner) på tilltänkt matris (256x256 alt 512x512). Denna 3D-information presenteras sedan på en datorskärm i form av tvådimensionella bildelement, s.k. ”picture elements” (pixlar). (Goldman, 2007).

Ett varv med röntgenröret ger upphov till ungefär 800 000 mätningar. När  $\mu$  är känd i varje mätning kan  $\mu$  för varje enskild voxel fastställas. En tvådimensionell bild på 512x512 pixlar motsvarar i praktiken 262 144 pixlar, var och en med ett individuellt  $\mu$ -värde. För att kunna visas på skärmen omvandlas  $\mu$ -värdet till HU. HU utgår från vatten och beräknas enligt formeln:  $HU \text{ i vävnad} = [(\mu_{\text{tissue}} - \mu_w) / \mu_w] \times 1000$ . Vatten har  $HU = 0$  och luft  $HU = -1000$ . Strukturer och vävnader som orsakar mer attenuering än vatten kommer ha HU över 0 medan de som orsakar mindre attenuering än vatten kommer ha HU under 0, d.v.s. negativt (Tabell 1). Utifrån vatten och luft har HU extrapolerats till all annan vävnad. Vid 12-bitars gråskala (4096 gråtoner) är lägsta värdet för HU -1024 (d’Anjou, 2012).

Tabell 1. *Ungefärlig attenuering för olika vävnadstyper*

Vävnad	Hounsfieldenheter (HU)
Luft	-1000 <sup>1,2,3</sup>
Vatten	0 <sup>1,2,3</sup>
Fett	-250 ≤ -20 <sup>1</sup>
Skelettmuskulatur	-29 ≤ 250 <sup>1</sup>
Benvävnad	>250 <sup>1</sup> ; ≥300 <sup>2</sup> ; ≥280 <sup>3</sup>

<sup>1</sup>(Mazonakis & Damilakis, 2016), <sup>2</sup>(Solis-Chavez *et al.*, 2018), <sup>3</sup>(d’Anjou, 2012)

### **Principer för skanning**

Det finns två metoder för hur skanningen sker, sekventiell och helikal. Sekventiell skanning innebär att bordet är stilla under tiden som röntgenrör och detektor rör sig runt patienten vilket innebär att man tar flera separata tvärsnitt (skivor). Nackdelen med denna variant är att undersökningen tar längre tid jämför med helikal, vilket ökar risken för att patienten ska röra

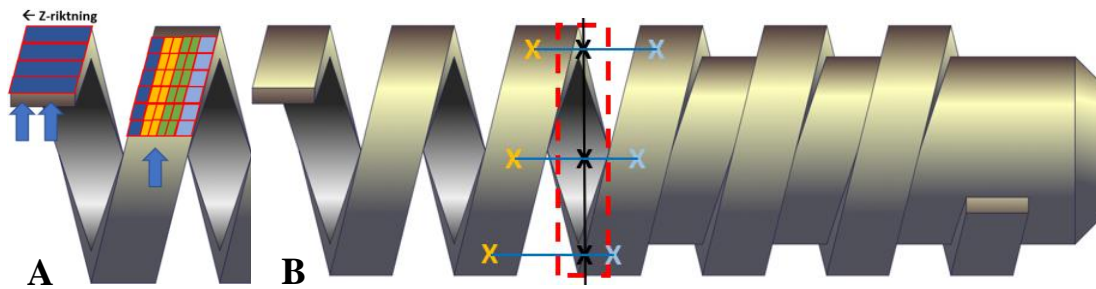
sig (d'Anjou, 2012). Inom veterinärmedicin används vanligtvis används helikal skanning (d'Anjou, 2012), vilket innebär att röntgenröret roterar kontinuerligt medan bordet patienten ligger på gradvis förskjuts i en given riktning. Vid denna metod genereras en enda lång sträng av data som motsvarar hela den skannade volymen, utifrån vilken man sedan kan återskapa tvärsnitt i valfri del av kroppen. Beroende på hur mycket patientbordet rör sig i z-led per varv med röntgenröret (s.k. "helikal pitch") samt vald skivtjocklek kan det bli områden som inte skannas ur varje alla vinklar. Data för de områden som saknas återskapas matematiskt. Detta görs genom interpolering (Fig. 3). Resultatet av interpoleringen påverkas av hur stor "helikal pitch" som använts vid undersökningen (Goldman, 2007). Helikal skanning går snabbare än sekventiell men innebär även en stor belastning på röntgenröret då detta kontinuerligt skickar ut röntgenstrålar under hela undersökningen.

### *Multisnittsdatortomografi*

Den stora belastningen på röntgenröret vid helikal skanning leder till massiv värmeutveckling, något som på de tidiga generationerna av datortomografer var en begränsande faktor (Goldman, 2008). Det är därför önskvärt att få ut så mycket information som möjligt på så kort tid som möjligt. Tiden en helikal undersökning tar påverkas i grunden främst av det antal varv skanningsenheten måste utföra för att täcka av hela området. Antalet varv beror på hur brett område skanningsenheten täcker av i z-riktningen (skivtjockleken) (Fig. 3). Ju mindre skivtjocklek, desto fler varv krävs och därmed längre tid. På tidiga generationer av datortomografer motsvarade detektorns längd skivtjockleken. Att förlänga dessa i syfte att minska antal varv vid helikal undersökning är inte möjligt då dom bör understiga 3mm längd för att önskad bildkvalité ska kunna upprätthållas (Goldman, 2008). Att minska skivtjockleken för att uppnå bättre bildkvalité innebär fler varv och lösningen som sådan begränsas, som tidigare nämnt, av belastningen på röntgenröret som är kopplad till tiden undersökningen tar. Som en följd av detta utvecklades multisnitt-DT, där konceptet med en enkel rad av monolitiska detektorer (detektorer bestående av ett enda detektorelement som är långt nog att i z-led ta emot all strålning som skickas ut), s.k. "single slice CT", ersatts av ett system där varje monolitisk detektor ersatts av flera mindre (Fig. 3). Därmed kan man med bibehållen bredd (z-led) på röntgenstrålningen uppnå tunnare skivtjocklek utan att behöva öka antal rotationer. De mindre detektorerna går att länka ihop parvis för att på så vis kunna variera skivtjockleken utan att ändra på röntgenstrålningens bredd (Schwartz, 2011b; Goldman, 2008).

Nackdelen med multisnitt-DT är att tekniken är känslig för den s.k. "cone beam"-effekten (Goldman, 2008). På moderna multisnitt-datortomografer är den sammanlagda längden av detektorer i z-led så pass lång att vid sekventiell skanning blir det inkongruens i de yttre detektorerna avseende röntgenstrålens väg genom vävnaden, s.k. "cone beam"-effekt.





Figur 3. Detektorer och helikal skanning. (A) Monolitiska detektorer (dubbelpilar) skapar en enda tjock skiva per varv. Principen bakom multisnittsdatortomografi (DT): genom parkoppling av de innersta, mindre detektorerna kan 4 lika tjocka skivors skapas (enkelpil). (B) Helikal rekonstruktion av DT-bild. För att skapa en bild av valfritt tvärsnitt (röd streckad rektangel) extrapoleras och viktas uppmätt data från liknande punkter på helixen (gula och blå X). Bilden skapas därefter utifrån interpolerade data (svarta X). Bildkälla (modifierade): A) och B) Dáni (2010). Licens under CC BY-SA 4.0.

### Skärmpresentation

En datortomograf av standardutförande klarar att mäta HU från ungefär -1000 till +3095 vilket motsvarar 4096 toner av grått (12-bit gråskala)(d'Anjou, 2012). En datorskärm kan visa 256 gråtoner (motsvarande ca 8-bit). Antalet gråtoner det mänskliga ögat kan urskilja är omdiskuterat, i studier anges från 30 (Saunders & Schwartz, 2011) till 720 (Kimpe & Tuytschaever, 2007). Oavsett bör ytterligare inställningar göras så att datan visualiseras på ett sätt som möjliggör att den som granskar bilden kan ta till sig uppmätta variationer och göra en så korrekt avläsning som möjligt. Genom att ställa in *fönsterbredd/ window width (WW)* och *nivå/level (WL)* an-passas gråskalan som visas på skärmen efter det HU-intervall som området man vill granska ligger inom samt medianen av detta.

Internationell standard för bildhantering inom medicinsk radiologi är idag Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM). När man använder mjukvara för bildgranskning som följer DICOM ställer man WW och WL genom att mata in önskat spann av HU. Window width styr hur stort intervall av HU gråskalan ska delas upp på. Därmed kommer samma HU täcka flera gråtoner men endast medianen på skalan av gråtoner som täcks kommer att presenteras på skärmen, oavsett vilken gråton som är det "sanna" värdet. En datorskärm brukar använda 12-bitarsskalan, vilket innebär att skärmen har möjlighet att visa 4096 gråtoner. Ett smalt intervall på WW innebär att gråtonerna fördelas inom ett snävt HU-intervall. Om t.ex. WW = 400 HU används ihop med 12-bitarsskalan innebär det att 4096 gråtoner fördelas över 400 HU. Varje HU kommer därmed täcka ca 10 gråtoner men presenteras som medianen (i detta fall den 5:e gråtonen i skalan av gråtoner som täcks av aktuell HU). 4096 gråtoner kommer därmed presenteras som cirka 409 gråtoner. Med en bred WW, fördelas gråtonerna istället inom ett bredare HU-intervall. Om t.ex. WW = 2000 HU används ihop med 12-bitarsskalan så är det endast cirka två gråtoner som tillskrivs samma HU varpå 4096 gråtoner kommer presenteras som cirka 1096 gråtoner. Visuellt innebär detta att det kommer vara större skillnad i gråton mellan varje HU om man använder ett smalt intervall på WW jämfört med ett bredare. Window level-värdet är medianen av WW, om WL = 0 HU och WW = 400 HU kommer alla punkter som ligger inom -200 HU till +200 HU att presenteras på skärmen. Punkter som ligger under -200 HU presenteras som svarta och punkter som ligger över +200 HU presenteras som vita. För

granskning av benvävnad kan man behöva  $WW = 2000$  och  $WL = 300$  (d'Anjou, 2012).  $WW$  och  $WL$  måste med andra ord anpassas efter vilken vävnad man ska undersöka och behöver ofta justeras flera gånger under en och samma undersökning för att möjliggöra utvärdering av samtliga vävnader på bilden. Även patientens kroppssammansättning och individuella preferenser hos avläsaren påverkar inställning av  $WW$  och  $WL$ .

Man kan även definiera s.k. region of interest (ROI), vilket innebär att man avgränsar önskat område på bilden och utför mätningar (area/volym, medelvärde av HU, max- och minimivärde på HU) inom området alternativt göra tvärtom och hindra datorn att ta med detta område. Man kan på detta vis exempelvis skapa ett antal mindre ROI:s i området för levern och upptäcka små skillnader i attenuering som ögat har svårt att uppfatta. Detta möjliggörs av att HU som fås fram med hjälp av DT är kvantifierade.

### **Artefakter**

Liksom vid konventionell röntgen framträder grynigheter/brus (noise) i bilden även vid DT om stråldosen som når detektorn är för låg (Goldman, 2007). Det finns ett omvänt förhållande mellan grynighet/brus i bilden och skivtjockleken. Därför måste antingen mängden röntgenfotoner ökas (öka mAs-värdet), vilket är negativt för patienten ur strålsäkerhets-synpunkt, eller skivtjockleken ökas vid dessa tillfällen. Nackdelen med ökad skivtjocklek är att partial volume averaging ökar i omfattning (Schwartz, 2011a).

Om voxelerna är stora och/eller vävnaden är heterogen kan det i en och samma voxel finnas olika grad av attenuering. I dessa fall är det bara medelvärdet som omvandlas och presenteras på skärmen, s.k. ”partial volume averaging”. Konsekvensen av detta är, att man tappar detalj- och kontrastupplösning i voxeln, eftersom strukturer som är mindre än voxeln eller som bara inkluderas i densamma, t.ex. kanten av en struktur, inte kan urskiljas. Strukturens egna attenuering, mätt i HU, kommer därför inte att presenteras, utan bara bidra till medelvärdet av voxelns HU. Fenomenet blir ännu tydligare när en liten struktur ligger så till att den delvis ingår i två voxelar. I moderna datortomografier, som används i klinisk verksamhet, är voxelns kanter oftast ca 0,6 mm, när undersökningen genomförs i högupplöst läge. Effekten av ”partial volume averaging” blir att strukturer med mineraltäthet som är mindre än voxelstorleken, t.ex. mindre än 0,6 mm i diameter, eller endast utgör en del av voxelns volym kan presenteras i DT-bilden som en voxel med uppmätt HU som är lägre än vad som är typiskt för en mineraltäthet.

Vid mätning av abdominell mjukdelsvävnad (utan kontrast) genom DT-undersökning har det visats att olika fabrikat av datortomografer skiljer sig i uppmätt HU, trots att mätningarna utfördes på samma patient. Skillnaderna var förhållandevis små men stora nog att väcka frågeställningar avseende hur snäva gränsvärden som kan användas vid bedömning av mjukdelsförändringar baserat på HU (Lamba *et al.*, 2014). Även Birnbaum *et al.* (2007) fann, vid mätningar på en fantom, att uppmätt attenuering varierade mellan olika fabrikat samt mellan olika generationer av datortomografer.

En potentiell felkälla vid HU-mätning runt strukturer med stor täthet är ”beam hardening”. Fotoner som lämnar röntgenröret har olika mängd energi. Ju fler lager av attenuerande vävnad röntgenstrålen går igenom, desto fler fotoner med lägre energi kommer absorberas och andelen

fotoner med högre energi ökar. Vävnader som ligger djupt kommer därför uppvisa lägre attenueringsvärde jämfört med liknande vävnad som ligger ytligare eftersom de fotoner HU-mätningen baseras på i den djupare vävnaden har högre energi. Fenomenet blir extra tydligt runt vävnader med stor täthet, såsom ben (Schwartz, 2011a; Goldman, 2007).

### **Kvantitativ datortomografi**

Kvantitativ DT är en metod att numeriskt skatta tätheter (t.ex. benvävnad) med hjälp av en datortomograf. Vid DT mäts attenuering i HU. I kvantitativ DT används en fantom med känd mineraltäthet ( $\text{g/cm}^3$ ) som referens i samband med att undersökningen utförs vilket möjliggör att man kan ta reda på vilket HU den aktuella datortomografen tillskriver en känd täthet vid den aktuella undersökningen och sedan räkna om HU till  $\text{g/cm}^3$ .

Vid undersökningar in vivo är kvantitativ DT, som teknik sett, mindre känslig för avvikelser kopplade till förekomst av omgivande mjukdelsvävnad (t.ex. tarminnehåll) jämfört med DEXA eftersom man vid kvantitativ DT kan skapa 3D-ROI:s där man utesluter oönskad mjukdelsvävnad medan DEXA endast genererar tvådimensionella bilder. Kvantitativ DT kan även skilja mellan kompakt och trabekulärt ben (Preston *et al.*, 2015; Cheon *et al.*, 2012) och är därmed känsligare än DEXA för att upptäcka förändringar i benomsättningen (t.ex. vid immobilisering eller hyperthyroidism) då trabekulärt ben omsätts snabbare än kompakt ben (Ebbesen *et al.*, 1999). Nackdelen jämfört med DEXA är den högre stråldosen.

### **Bendensitet hos katt**

Antalet studier på bendensitet hos friska katter är få. Cheon *et al.* (2012) mätte trabekulär bendensitet i bröst- och ländkotor samt ilium hos friska katter med hjälp av kvantitativ DT och fann signifikanta skillnader i bendensitet mellan dessa oavsett åldersgrupp. Tänkbara referensvärden för dessa togs fram och ländkotorna bedömdes lämpliga att mäta på vid utvärdering av skelettstatus i förhållande till patientens ålder. En studie utförd med hjälp av DEXA fastställde att det vid 3 månaders ålder sker en snabb mineralisering av skelettet och att denna period därmed bedöms viktig för skelettets utveckling (Lauten *et al.*, 2000). Frågan om vilken inverkan individens kön har på bendensitet är i dagsläget inte besvarad och de studier som gjorts visar motstridiga resultat. I motsats till två studier baserade på DEXA, som visar att det föreligger könsskillnader (Cline *et al.*, 2019; Lauten *et al.*, 2000) fann man i en studie baserad på kvantitativ DT ingen signifikant skillnad mellan könen (Cheon *et al.*, 2012).

### **Osteoporos och osteoskleros hos katt**

Då mätning av bendensitet inte sker per rutin ute på kliniker idag är det svårt att veta i vilken omfattning osteoporos och osteoskleros förekommer hos katt.

#### **Osteoporos**

Det finns inga rapporterade fall av primär osteoporos hos katt (Fetter *et al.*, 1985). Sekundär renal osteopati förekommer hos katt, även om den kliniska signifikansen av detta är okänd (Segev *et al.*, 2016). Kronisk njursjukdom (CKD) i sig är vanlig hos äldre katter, prevalensen hos katter av alla åldrar är 11 %, hos katter äldre än 10 år är prevalensen 27 % och hos katter över 15 år 49 % (Ross *et al.*, 2006). En studie visade att 84 % av katter med CKD (i studien

likställt med kreatinin i blod  $>180\mu\text{mol/liter}$ ) även hade sekundär hyperparathyroidism (Barber & Elliott, 1998). Shipov *et al.* (2014) gjorde en komparativ studie mellan benstrukturen i ländkotor och lårben hos katter som, baserat på klassifikation enligt International Renal Interest Society (IRIS) rekommendationer, diagnostiserats med CKD grad III eller IV med katter fria från tillstånd som misstänktes kunna påverka benvävnaden. Genom att använda ljusmikroskop, mekaniska belastningstester och mikro-DT fann man ett antal signifikanta skillnader mellan grupperna (Shipov *et al.*, 2014):

- Katterna i CKD-gruppen hade en femfaldig ökning i antal resorptionshåligheter per  $\text{mm}^2$  i kompakt benvävnad, vilket bedömdes kunna ha en omfattande inverkan på rörbenens mekaniska egenskaper.
- I området för femorala diafysen var arean av kompakta benets tvärsnittsyta lägre och tjockleken av det kompakta benet mindre hos katterna med CKD (påverkad av antal resorptionshåligheter och dess storlek). Tjockleken hos katterna med CKD var ca 17 % lägre än hos kontrollgruppen, vilket ökar risken för patologiska frakturer (t.ex. greenstick-frakturer) då benet blir mer böjligt.
- De mekaniska egenskaperna sträckgränsen/elasticitetsgränsen (den högsta spänning som ett material tål utan att deformerar plastiskt) och hållfasthet var sämre i CKD-gruppen.
- Trabekulärt ben i 6:e och 7:e ländkotan samt lårben utgjorde en mindre volym och hade tunnare trabekler jämfört med kontrollgruppen.

Med tanke på att till exempel njursjukdom hos katt är förhållandevis vanligt förekommande är det inte otänkbart att det finns ett mörkertal avseende förekomst av osteoporos hos katt.

### *Osteoskleros*

Hanel *et al.* (2004) beskriver osteoskleros hos katt som ovanligt och att patogenesen är långt ifrån klarlagd. Osteoskleros hos katt har kopplats till FeLV (Hoover & Kociba, 1974) och setts i samband med fibrosarkom (Hanel *et al.*, 2004). Tänkbara orsaker, utöver FeLV, som diskuteras är genetiska faktorer och koppling även till andra typer av neoplasier (Fujita *et al.*, 2007; Hanel *et al.*, 2004)

Osteoskleros misstänks hos katt kunna orsakas iatrogen genom långvarig dosering av bisfosfonat (Council *et al.*, 2017). Inom veterinärmedicin används 3:e generationens bisfosfonat (Alendronat) för behandling av idiopatisk hyperkalcemi samt smärtlindring av smärta kopplad till ostolytiska tillstånd, t.ex. osteosarkom (Ramsey, 2017) samt vid hyperparathyroidism (Larson *et al.*, 2019).

### **Degenerativa ledförändringar på katt**

I litteraturen används ofta ”Degenerative joint disease” synonymt med OA. I detta arbete kommer endast OA användas och avse både osteoartrit och degenerativ ledsjukdom.

Radiologiska tecken på OA är vanligt hos tamkatter (Lascelles, 2010). Signifikant koppling mellan ökad ålder och ökad prevalens föreligger (Lascelles *et al.*, 2010; Clarke *et al.*, 2005).

Prevalens av OA hos katt baserat på radiologiska förändringar i skelett varierar mellan olika studier men har angetts vara: 33.9 % (Clarke *et al.*, 2005), 61 % (Slingerland *et al.*, 2011) och 90 % (Hardie *et al.*, 2002). I en studie av Lascelles *et al.* (2010) var frekvensen, i fallande ordning, av drabbade leder hos katt vid OA: höft-, knä-, has-, armbågsled, carpus och bogled. Osteoartrit i armbågsleden påverkar framför allt den mediala delen av humeruskondylen (Ryan *et al.*, 2013). I knäleden påverkas både mediala och laterala delarna av femur (Leijon *et al.*, 2017) och tibia (Leijon *et al.*, 2017; Boyd *et al.*, 2005). Leijon *et al.* (2017) fann i sin studie att frekvensen av OA-relaterade skador var högre i de mediala delarna av knäleden, jämfört med de laterala delarna. I en annan studie av OA hos katt fann Freier *et al.* (2014) att de mediala delarna av armbågsleden uppvisade mer omfattande skador än de laterala. Bilateral förekomst av OA är vanligt (Lascelles *et al.*, 2010; Godfrey, 2005), framför allt för höftled, carpus, armbågs- och knäled (Lascelles *et al.*, 2010).

Radiologiska tecken som kan ses hos katt i samband med OA är exempelvis (utan inbördes ordning): osteofyter, entesiofyter, fokal mineralisering i leden, skleros, sublaxation, erosioner i subkondralt ben, fokal mineralisering i anslutning till leden och sammanväxta leder (Lascelles *et al.*, 2010). Intraartikulära fokala mineraliseringar i knäled ses ofta vid radiologiska undersökningar av katt (Freire *et al.*, 2011; Freire *et al.*, 2010), vanligen lokaliserade i mediala menisken (Leijon *et al.*, 2017; Voss *et al.*, 2017; Freire *et al.*, 2010). Mineraliseringar under 2,25 mm<sup>2</sup> bedöms ej kopplade till OA i knäled på katt (Leijon *et al.*, 2017), till skillnad från mineraliseringar  $\geq 6,25$  mm<sup>2</sup> (Voss *et al.*, 2017). Förtjockning av subkondrala benplåt i samband med OA har observerats (Wang *et al.*, 2010; Batiste *et al.*, 2004), men i motsats till nämnda studier sågs vid en långtidsstudie på katt av kirurgiskt orsakad OA i knäled ingen förtjockning av subkondrala benplåt utan både den laterala och den mediala halvan var signifikant förtunnade (Boyd *et al.*, 2005). Boyd *et al.* (2005) kunde dock inte fastställa orsaken till avsaknad av förtjockning i den subkondrala plåt.

### ***Etiologi och patogenes***

Carlson och Weisbrode (2012) beskriver att i synovialleder inleds OA med biokemiska förändringar i ledbrusk med förlust av proteoglykanaggregat varpå ökad mängd vatten ansamlas i broskmatrix som då sväller. I takt med att förlusten av proteoglykaner fortgår ökar friktionen i leden samt kollagenfibrerna i brosket kollapsar. Förlust av proteoglykaner och ökad mängd vätska i broskmatrix leder till att ledbrusk blir mjukt (kondromalaci) vilket bidrar till ett onormalt slitage av ledbrusk med efterföljande förlust av ledbrusk. Skadorna i ledbrusk börjar ytligt men blir med tiden djupare och kan till slut blotta den subkondrala benvävnaden. Synovit anses uppstå som svar på de inflammatoriska mediatorer som frisätts av bl.a. skadade kondrocyter men är oftast lindrig. Ledkapseln fibrotiseras som svar på ledinstabilitet och cytokinernas inverkan på vävnaden och kan ihop med bildande av osteofyter (osteofytos) samt inkongruens i leden förklara den ledstelhet och minskning av rörelseomfång som kan ses. Utöver detta är det mycket som fortfarande är okänt om OA på katt (Lascelles, 2010) men det diskuteras att OA hos katt kan ha en etiologi liknande den för kronisk njursjukdom (Marino *et al.*, 2014) och att OA hos katt kan representera en form av "accelererat åldrande" (Gao *et al.*, 2013).

### **Kliniska fynd och presentation**

Katter med OA kan uppvisa hälta men inte nödvändigtvis (Clarke & Bennett, 2006). Andra tecken kan vara ändrat temperament (katten är mer tillbakadragen, minskad aptit och/eller aggressiv vid hantering), viktninskning (orsakad av minskad aptit eller att katten har svårt att komma åt matskålen om den är högt placerad), matt och tovig päls (ökad stelhet gör det svårt för katten att tvätta sig ordentligt) eller ovilja att hoppa upp/ner från höjder (katten slutar sällan hoppa helt men hoppar bara mindre höjder eller delar upp etappen i mindre delar genom att mellanlanda längs vägen). Styltig eller förändrad gång kan också vara ett tecken och syns ofta tydligast när katten går i trappor (Godfrey, 2002; Hardie, 1997).

Lascelles *et al.* (2012) gjorde en studie där man jämförde fynd vid ortopedisk undersökning och goniometri med radiologiska förändringar. Fynd som gjordes vid palpatorisk undersökning av synovialleder hos katt med OA var ledsmärta, ökad mängd ledvätska, förtjockad ledkapsel och minskat rörelseomfång. Dock uppvisade inte alla katter alla förändringar och specificiteten för de olika fynden varierade. Fynden kan enligt författarna inte användas för att säkerställa radiologisk OA men frånvaro av dessa fynd kan bidra till att utesluta OA.

I en studie som med hjälp av accelerometer undersökte hur kattens rörelsemönster förändrades i samband med OA fann man att katter med OA hade en dygnsvariation i aktivitet motsvarande katter utan OA men omfattningen av rörelsemönstret under de aktiva perioderna var mer dämpad hos katter med OA (Gruen *et al.*, 2017).

## **MATERIAL OCH METODER**

### **Studiematerial**

Studiematerialet hämtades ur ett pågående forskningsprojekt som med hjälp av DT undersöker kroppscomposition på katt samt OA hos katt ur ett helkroppsperspektiv. I samband med ursprungsstudien genomfördes på samtliga katter helkropp-DT, klinisk undersökning och blodprov togs avseende alanintransferas, kreatinin, totalprotein, hemoglobin, totalt antal vita blodkroppar (leukocyter) och differentialräkning av vita blodkroppar. Information om kattarnas hälsostatus gavs av djurägarna. Initialt ingick 76 katter i studien. Ursprungstudien var etiskt godkänd av Uppsala Djurförsöksetiska nämnd (diarienummer C 27/14) och djurägarna hade gett sitt medgivande till att katterna skulle ingå i forskningsprojektet.

I del I av detta examensarbete (där två metoder att beräkna bendensitet och benvolym jämförs med varandra) användes alla katter, oavsett hälsostatus. Inför del II (där bendensitet hos friska katter utan OA jämförs mellan kön, ålder och storlek) och del III (där benvolym och bendensitet hos katter med OA i höger armbågsled jämförs med katter utan OA) av studien utvärderades DT-bilderna av en veterinär radiolog (CJL) avseende tecken på sjukdom i thorax eller abdomen. Katter med tydliga tecken på thorakal eller abdominell sjukdom uteslöts ur del II och III av studien.

Utvärdering av DT-bilderna avseende OA-förändringar utfördes av samma veterinära radiolog (CJL) och baserades på förekomst av osteofyter, skleros, lysis och mineralisering i anslutning till leden. Förekom endera av dessa förändringar graderades förändringen subjektivt som lindrig, måttlig eller kraftig. Då kriterierna för gradering av OA-förändringarna på DT-bilderna och resultatet av graderingen undersöks i en annan pågående studie presenteras varken kriterier eller resultat i denna studie.

Inklusionskriterier för den ena undergruppen (katter utan OA i del II och del III) var att det inte fick förekomma några radiologiska tecken på OA i bog-, armbågs-, antebrachiocarpal-, höft-, knä- eller tarsocruralled. I del II, för att kunna undersöka om det förelåg något samband mellan bendensitet och kön, ålder respektive benvolym delades gruppen med katter utan OA in i undergrupper baserat på kön, ålder och benvolym. Gränsdragning vid indelningen efter benvolym baserades på medianobservationen i varje grupp. Inklusionskriterier för del III, katter med OA, var påvisande av måttliga eller kraftiga OA-förändringar i höger armbågsled och ingen hänsyn togs till OA-status för övriga leder hos dessa individer.

### **Datortomografi**

Vid helkropp-DT var katterna positionerade liggandes på bröstet med utsträckta extremiteter. Utrustning som användes var en 64-snitts datortomograf (Definition, Siemens Medical Systems, Erlangen, Tyskland). Använda inställningar var 250 kV; 160 mAs; 0,6 mm skiv-tjocklek; 0,6 mm skivinkrement; 1,2 mm fokalfunkt och mjukdelvävnadssalgoritm (B30s). Samtliga undersökningar utfördes av en veterinär radiolog (CJL). Inför undersökningen sederades katterna med en intramuskulär injektion av medetomidinhydroklorid (0,05 mg/kg) kombinerat med butorfanol (0,4 mg/kg) alternativt med enbart medetomidinhydroklorid (0,1–0,15 mg/kg).

## **Bearbetning av datortomografibilder innan mätning**

### **Metod 1 (manuell metod)**

Inför beräkning av bendensitet och benvolym enligt metod 1 (manuell metod) förbereddes DT-bilderna genom segmentering. Innehåll i gastrointestinalkanal och urinblåsa, alla tätheter utanför kattens kropp med  $HU \geq 350$  (exempelvis tekniska hjälpmedel till DT-undersökningen) samt eventuella id-chip och förvärvad mjukdelsmineralisering var sedan tidigare manuellt bortsegmenterade av handledaren (CJL) på samtliga katter. Vid segmenteringen användes Horos (v. 2.4.0, 64-bit, The Horos project) med inställningarna WW 400 HU och WL 40 HU. ROI skapades ungefär var 5:e bild (mer frekvent vid konturändringar) genom hela bildserien. Vid bortsegmentering av områden som låg inuti katten tillskrevs pixlarna inuti ROI:s ett värde på -1024 HU. Vid bortsegmentering av områden utanför katten kunde antingen ROI skapas runt objektet (och pixlarna innanför ROI tillskrevs ett värde av -1024 HU) eller runt katten (varpå pixlarna utanför ROI tillskrevs ett värde av -1024 HU). Sistnämnda varianten användes exempelvis vid bortsegmentering av DT-bordet. Bildserien för varje katt gick igenom ytterligare en gång av både författaren (SL) och CJL och områden som tidigare missats togs bort innan bilderna konverterades till DICOM och exporterades till ImageJ.

För att möjliggöra jämförelse av enskilda extremiteter utfördes segmentering av höger framben manuellt av SL på alla katter som ingick i denna studie. Vid segmenteringen användes OsiriX (v. 4.1.2, 64-bit Pixmeo Sarl, Geneve, Schweiz). ROI:s skapades genom att rita en ring i var 15:e–20:e bild i serien med bilder där höger framben ingick innehållandes benvävnad för höger framben ihop med begränsad mängd omkringliggande vävnad, samtidigt som övriga delar av kattens kropp exkluderades. Genom funktionen "generate missing ROI:s" genererade datorn motsvarande ROI:s på bilderna mellan den första och den sista manuellt ritade ringen i serien, varefter dessa granskades och vid behov korrigerades manuellt i efterhand. Därefter tillskrevs alla pixlar i hela undersökningen utanför dessa ROI:s ett värde på -1024 HU vilket resulterade i en serie DT-bilder som endast innehöll information från höger framben (Fig. 4).



Figur 4. Illustration av segmentering. Höger framben före segmentering (A) och efter segmentering (B). Bortsegmentering av innehåll i mag-tarmkanal och urinblåsa (C).

### **Metod 2 ("Grow region"-segmentering)**

Samtliga svanskotor segmenterades bort enligt samma princip som vid segmentering av höger framben. Ingen övrig segmentering gjordes.



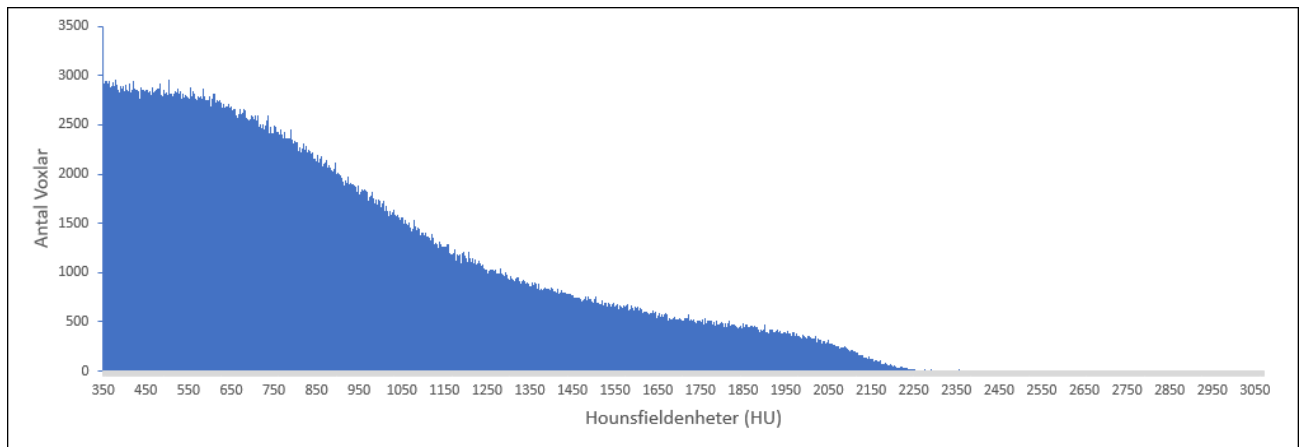
## Mätning av bendensitet och benvolym

### Allmänt

Angivna nedre gränsvärden för benvävnad har varierat i litteraturen (Solis-Chavez *et al.*, 2018; Mazonakis & Damilakis, 2016; d'Anjou, 2012) men sattes i denna studie till  $\geq 350$  HU.

### Metod 1: manuell segmentering

Den bearbetade helkroppsundersökningen för respektive katt exporterades i DICOM-format (16-bit BW) till ImageJ (v. 1.52p., National Institute of Health, USA). Med hjälp av ImageJ skapades ett histogram över samtliga voxlar med ett HU mellan -1024 och 3071. Genom att använda funktionen "list" skapades en tabell över uppmätt HU (heltal) inom givet intervall och antal voxlar med respektive HU. Del av en sådan tabell presenteras i form av histogram (Fig. 5).



Figur 5. Exempel på frekvenshistogram över fördelning av antal voxlar med  $HU \geq 350$  vid mätning av helkropp.

Därefter fördes data för pixlar med  $HU \geq 350$  över till Excel (Microsoft) där benvolym respektive medelvärde för bendensitet beräknades enligt nedanstående:

- Benvolym ( $\text{cm}^3$ ) = (individens voxelvolym) x (total antal voxlar med  $HU \geq 350$ )
- Medelvärde bendensitet =  $\frac{\sum (HU \times \text{antal voxlar med detta värde})}{\sum \text{total antal voxlar } HU \geq 350}$

Bildserierna med segmenterat framben hanterades enligt samma procedur med exportering till ImageJ i DICOM-format och därefter beräkning av benvolym och bendensitet i Excel.

### Metod 2: "Grow region"-segmentering

"Grow region"-segmentering innebär att man låter datorn avgöra yttre gränsen för det man vill mäta. Man utgår från en voxel i det område man vill mäta (Fig. 6). Övre och nedre gränsvärden anges ( $350 \leq HU \leq 3000$  i denna studie) varpå mjukvaran kommer kontrollera om intilliggande voxel ligger inom detta område. Om ja kommer mjukvaran gå vidare till nästa voxel och utföra samma kontroll. Om nej kommer intilliggande voxel ej innefattas och datorn slutar mäta bortom denna. Mjukvaran mäter alla intilliggande voxlar i tre dimensioner och det skapas en 3D-modell

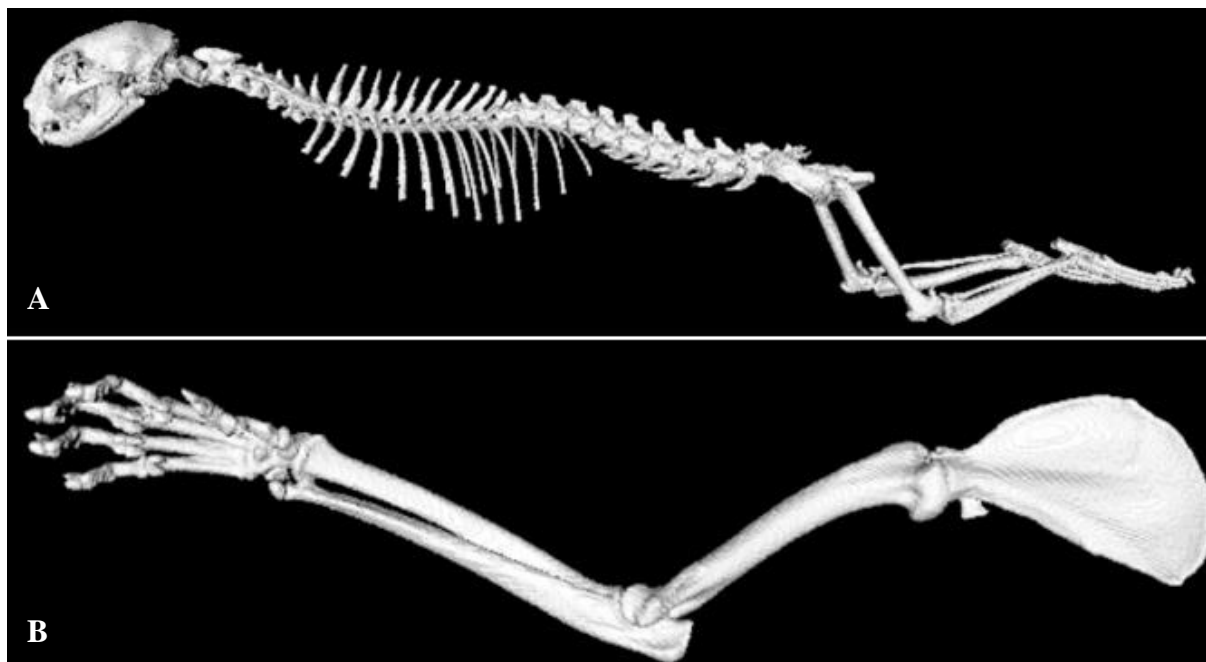
med voxlar inom angivet HU-intervall. Det finns variationer i hur "grow region"-segmentering fungerar men principen kan användas inom flera områden (Zidan *et al.*, 2015; Rai & Nair, 2010; Dehmeshki *et al.*, 2008; Sivewright & Elliott, 1994). Vid "grow region"-segmentering av skelettet kommer segmenteringen avbrytas vid områden som separeras av voxlar med attenuering lägre än 350 HU (t.ex. revbensbrosken mellan sternum och revben) eller mjukvävnad (t.ex. mellan revben/ryggrad och bogblad) och vissa delar måste därför segmenteras separat.

Funktionen "3D grow region"-segmentering (connected thresholding, Min: 350, max: 3000 HU) användes utifrån en startvoxel i sacrum (Fig. 6) som sedan spreds genom båda bakbenen, pelvis, ryggrad, skalle och revben (pga revbenens brosk var sternum ej inkluderat) (Fig. 7A). Bägge framben togs fram separat (Fig. 7B) då dessa saknar direktkontakt med övriga skelettet utifrån en startvoxel i proximala humerus. I vissa fall visade en granskning av den 3D-rekonstruktionen att områden distalt om knäleden (tibia, fibula, tarsus, meta-tarsalbenen och falangerna) inte kommit med i segmenteringen utan fick då tas fram separat av CJL.

Bendensitet (medelvärde) och benvolym för framsegmenterade områden beräknades med hjälp av funktionen "calculate ROI volume". Segmentering och beräkning av benvolym samt bendensitet för de olika områdena utfördes av CJL.



Figur 6. "Grow region"-segmentering. Mitten av grönt kors indikerar startvoxel, ljusgrönt område markerar intilliggande voxlar med Hounsfieldenheter (HU) inom angivet intervall.



Figur 7. Tredimensionell (3D) rekonstruktion av "grow region"-segmentering. Kropp inkl. bakben (A) och höger framben (B).

Totala benvolymen (helkropp) för respektive individ beräknades genom summering av de enskilda områdenas benvolym. Bendensitet för helkroppsmätning beräknades i tre steg:

1. Antalet voxlar varje enskilt område var uppbyggd av (uppmätt benvolym/voxelvolym)
2. Totalt antal HU i varje enskilt området (antal voxlar x uppmätt medeldensitet)
3. Sammanlagda summan av totala antalet HU från varje enskilt område / sammanlagda summan av totala antalet voxlar från varje enskilt område

Höger framben genererades i samtliga fall som ett segment. Benvolym och bendensitet (medelvärde) beräknades i Horos med hjälp av "calculate ROI volume"-funktionen.

## Statistiska analyser

### Allmänt

Analyserna av insamlade data kunde delas in i tre områden: överensstämmelse mellan mätmetoderna (del I), analys av bendensitet hos friska individer utan OA (del II) samt jämförelse av benvolym och bendensitet hos katter utan OA med motsvarande hos katter som bedömts ha måttlig till kraftig OA i höger armbågsled (del III).

Statistiska analyser utfördes av SL. För analys av data användes statistikprogrammet Minitab (v.18.1.0, Minitab inc., Pennsylvania, USA). P-värden  $\leq 0,05$  bedömdes som statistiskt signifikanta.

### Del I: överensstämmelse mellan metod 1 och metod 2

Baserat på data från alla katter i denna studie jämfördes de två metoderna avseende korrelation, samband och överensstämmelse. Först undersöktes normalfördelningen av data inom de olika

områdena helkropp benvolym, helkropp bendensitet, bendensitet höger framben och benvolym höger framben för metod 1 (manuell segmentering) och metod 2 ("grow region"-segmentering) genom Anderson–Darlings analys samt histogram. Därefter utfördes korrelations- och regressionsanalys. Vid regressionsanalysen användes metod 2 som oberoende variabel. Korrelationen dubbelkontrollerades med Spearmans rangkorrelationstest. Regressions-analyserna kontrollerades avseende avvikelser från normalfördelning och förekomst av heteroskedasticitet genom utseendet på punktdiagram över residualerna. Därefter gjordes Bland–Altman analys för att närmare undersöka överrensstämmelsen mellan metoderna. Parvis t-test användes för att avgöra om eventuella skillnader mellan metod 1 och metod 2 var signifikanta. Kontroll av normalfördelning med hjälp av Anderson–Darling normalfördelningsanalys samt sannolikhetsdiagram genomfördes innan parvis t-test utfördes.

### ***Del II: katter utan osteoartrit***

Valda analysmetoder för att undersöka sambanden mellan bendensitet och kön, ålder samt benvolym var "två stickprovs t-test" samt Fischers exakta test (på grund av litet antal individer i respektive grupp). Kontroll av normalfördelning med hjälp av Anderson–Darling normalfördelningsanalys samt sannolikhetsdiagram genomfördes innan "två stickprovs t-test" utfördes.

### ***Del III: jämförelse mellan katter utan och med osteoartrit***

I syfte att undersöka om det förelåg någon signifikant skillnad i bendensitet och benvolym mellan katter utan OA och katter med måttlig till kraftig OA i höger armbågsled utfördes först ett test av normalfördelning (Anderson–Darling normalfördelningsanalys samt sannolikhetsdiagram) av data för helkropp och höger framben för respektive grupp. Därefter jämfördes bendensitet och benvolym för helkropp respektive höger framben mellan katter utan OA och katter med OA med hjälp av "två stickprovs t-test" (utgår från medelvärden). I de fall data visade signifikant avvikelse ( $P \leq 0,05$ ) från normalfördelning användes istället Mann–Whitney analys (icke parametrisk metod, utgår från medianvärden).

## RESULTAT

### Del I

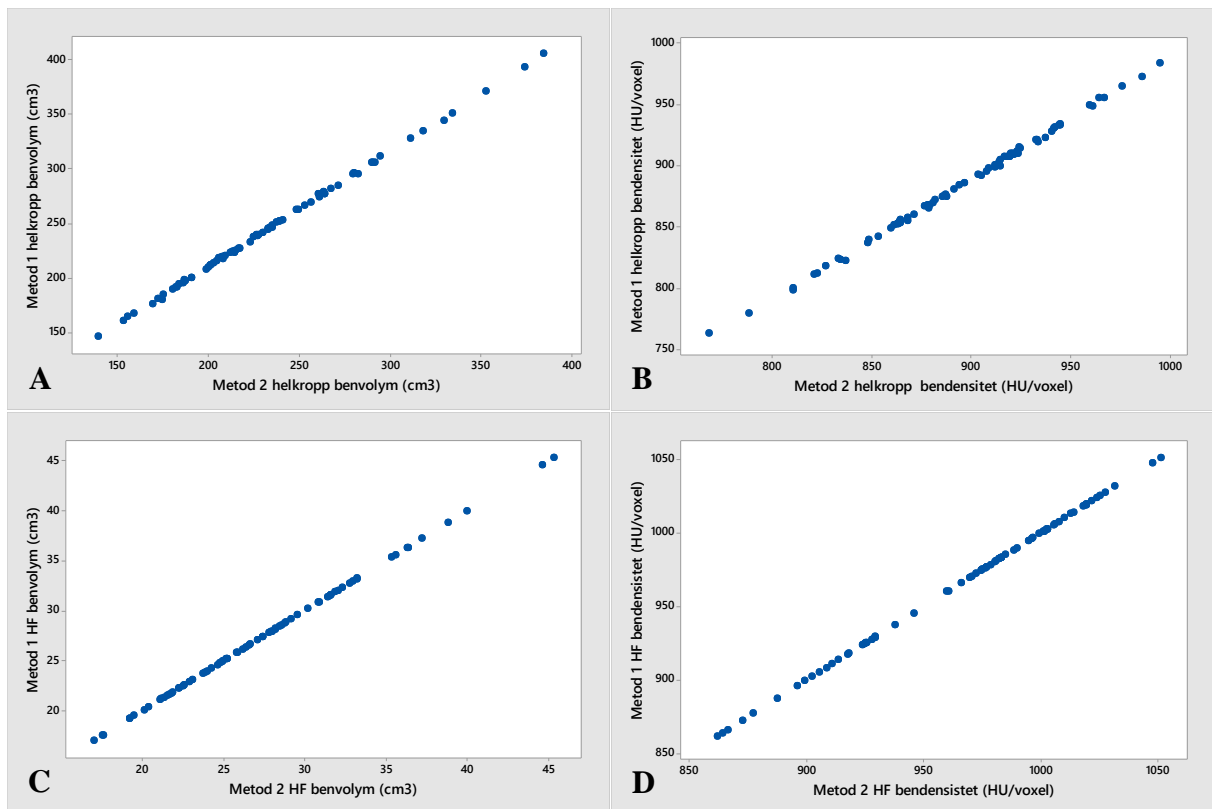
Då segmentering inte gick att utföra på en av undersökningarna (mjukvarutekniska orsaker) blev det slutgiltiga antalet individer i denna studie 75 st. Dessa 75 användes som underlag för att jämföra de två metoderna. Tabell 2 visar sammanställning av mätningar utförda med metod 1 och metod 2.

Punktdiagram över metod 1 och metod 2 för respektive område (Fig. 8) visade ett tydligt samband mellan de två metoderna. Spearmans rangkorrelationstest visade mycket god korrelation (korrelationsvärde 1;  $P < 0,0005$  i samtliga fall). Regressionsanalys (Tabell 3) visade att det finns en signifikant korrelation mellan metod 1 och metod 2 vid mätning av helkropp såväl som höger framben ( $P < 0,0005$  i samtliga fall;  $R^2$  mellan 99,60 % och 100 %). Analys av residualer visade lindrig till måttlig avvikelse från normalfördelning samt lindrig heteroskedasticitet för benvolym höger framben samt bendensitet höger framben men eftersom  $R^2$  låg runt 1 bedömdes dessa fall av avvikelser som försumbara och därmed utfördes ingen transformering av data.

Tabell 2. Sammanställning av mätningar av benvolym och bendensitet ( $n = 75$ )

Metod	Område	Medelvärde	SD	Min	Median	Max
Metod 1	Helkropp benvolym (cm <sup>3</sup> )	244,80	53,87	146,21	283,41	405,51
Metod 2	Helkropp benvolym (cm <sup>3</sup> )	232,82	51,01	139,55	226,39	384,27
Metod 1	Helkropp bendensitet (HU/voxel)	883,59	45,95	762,95	885,89	983,48
Metod 2	Helkropp bendensitet (HU/voxel)	894,41	46,55	767,67	896,16	994,74
Metod 1	HF benvolym (cm <sup>3</sup> )	27,370	6,025	16,994	26,617	45,279
Metod 2	HF benvolym (cm <sup>3</sup> )	27,363	6,023	16,988	26,611	45,274
Metod 1	HF bendensitet (HU/voxel)	966,74	47,79	861,47	978,27	1051,03
Metod 2	HF bendensitet (HU/voxel)	966,79	47,79	861,49	978,38	1051,05

HF = Höger framben; SD = standardavvikelse; HU = Hounsfieldenheter.



Figur 8. Punktdiagram över metod 1 och metod 2 ( $n = 75$ ). Helkropp benvolym (A), Helkropp bendensitet (B), höger framben benvolym (C) och höger framben bendensitet (D). HF = höger framben; HU = Hounsfieldenheter.

Tabell 3. Resultat från regressionsanalys av metod 1 (M1) och metod 2 (M2)

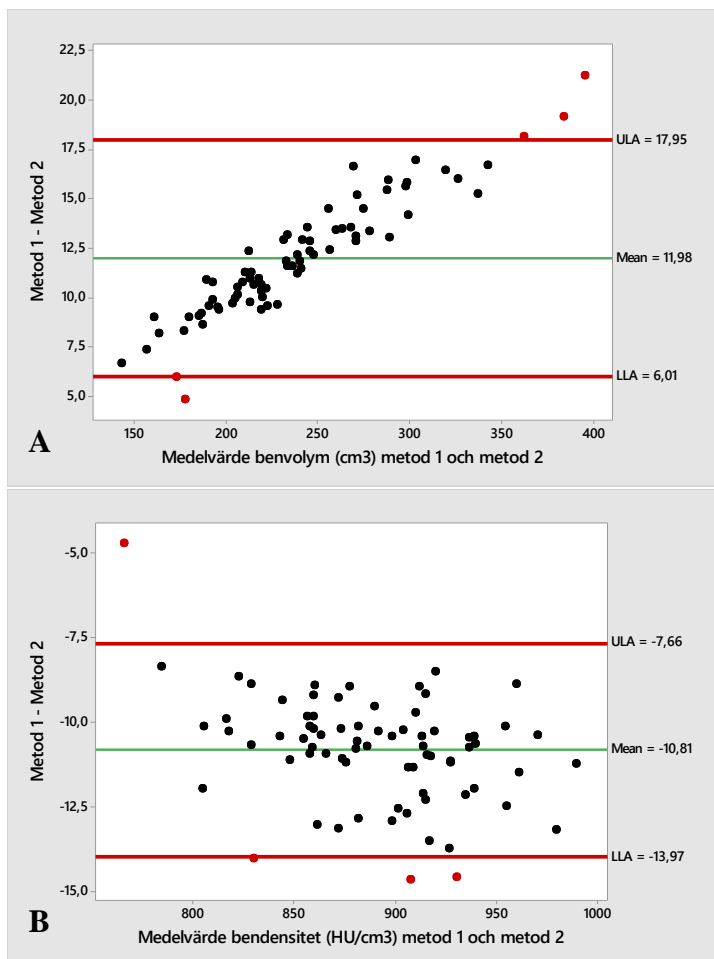
Parameter ( $n = 75$ )	P-värde	R <sup>2</sup>	Regressionsekvation
Helkropp benvolym	<0,0005	99,96 %	$M1 = -1,01 + 1,06 \times M2$
Helkropp bendensitet	<0,0005	99,90 %	$M1 = 1,15 + 0,99 \times M2$
Höger framben benvolym	<0,0005	100 %	$M1 = 0 + M2$
Höger framben bendensitet	<0,0005	100 %	$M1 = -0,014 + M2$

Analys av normalfördelning inför parvis t-test visade att observationerna (skillnaden mellan enskilda mätningar utförda av de två metoderna) inte var normalfördelade för mätning av bendensitet höger framben. Baserat på det stora antalet observationer ( $n = 75$ ) kunde det framräknade medelvärdet av skillnaderna trots allt anses vara normalfördelat.

Bland–Altman analys över sambandet mellan metod 1 och metod 2 vid helkropp benvolym (Fig. 9A) visade att förhållandet mellan metoderna var multiplikativt, där samtliga mätresultat från metod 1 var större än för metod 2. Differensen var mindre än 6 % av medelvärdet ((differensen/medelvärdet)  $\times$  100) i varje enskild mätning. Genomsnittlig differens var 11,98 cm<sup>3</sup> och variationsbredd 4,80 till 21,24 cm<sup>3</sup> och 95 %-igt konfidensintervall för genomsnittliga

differensen (11,28–12,68 cm<sup>3</sup>) innefattade inte 0. Skillnaden mellan metod 1 och metod 2 var signifikant ( $P \leq 0,0005$ ). Tre observationer (variationsbredd 18,19–21,24 cm<sup>3</sup>) låg ovanför övre gränsen för överensstämmelse (men följde det systematiska mönstret) och två observationer låg under nedre gränsen för överensstämmelse (variationsbredd 6,0–4,8 HU/cm<sup>3</sup>).

Vid mätning av bendensitet helkropp (Fig. 9B) visades att metod 1 systematiskt uppmätte lägre bendensitet än metod 2. Differensen mellan mätmetoderna var oberoende av medelvärdet av metod 1 och metod 2. Genomsnittliga differens var -10,81 HU/voxel, variationsbredden -14,66 till -4,72 HU/voxel och 95 %-igt konfidensintervall för genomsnittliga differensen (-11,184 till -10,444 HU/voxel) innefattade inte 0. Skillnaden mellan metod 1 och metod 2 var signifikant ( $P \leq 0,0005$ ). En observation (-4,7 HU/cm<sup>3</sup>) låg ovanför övre gränsen för överensstämmelse och två observationer låg under nedre gränsen för överensstämmelse (variationsbredd -14–14,7 HU/cm<sup>3</sup>).

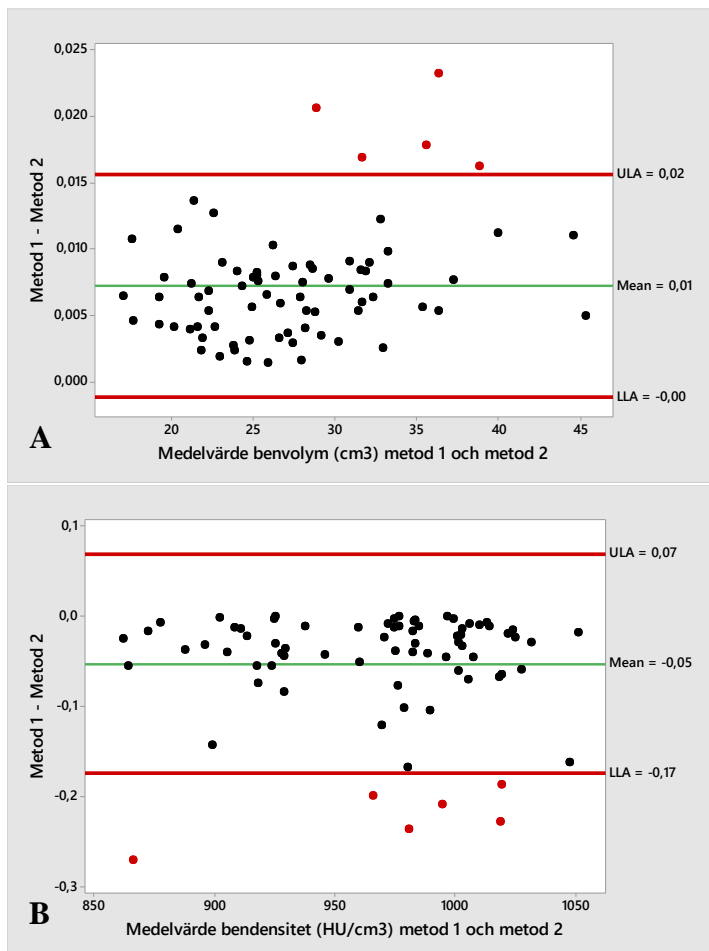


Figur 9. Bland–Altmananalys av helkroppsmätningar. Helkropp benvolym (A) och helkropp bendensitet (B). Röd linje motsvarar nedre gränsen för överensstämmelse (LLA) och övre gränsen för överensstämmelse (ULA). Grön linje motsvarar genomsnittlig skillnad mellan mätmetoderna. HU = Hounsfieldenheter.

Bland–Altman analys över sambandet mellan metod 1 och metod 2 vid mätning av höger framben visade vid mätning av benvolym (Fig. 10A) en systematisk skillnad mellan metoderna där metod 1 mätte högre värden än metod 2. Differensen mellan mätmetoderna var oberoende

av medelvärdet av metod 1 och metod 2. Genomsnittlig differens var  $0,01 \text{ cm}^3$ , variationsbredden  $0,001$  till  $0,02 \text{ cm}^3$  och 95 %-igt konfidensintervall för genomsnittliga differensen ( $0,006$  till  $0,008 \text{ cm}^3$ ) innefattade inte 0. Skillnaden mellan metod 1 och metod 2 var signifikant ( $P \leq 0,0005$ ) men medelvärdet av differensen mellan metoderna är väldigt liten i förhållande till medelvärdet av metod 1 och metod 2. Vidare låg fem observationer ovanför ULA. Dessa hade en variationsbredd på  $0,016$  till  $0,023 \text{ cm}^3$ .

Vid mätning av bendensitet höger framben (Fig. 10B) visades att metod 1 systematiskt uppmätte lägre bendensitet än metod 2. Differensen mellan mätmetoderna var oberoende medelvärdet av metod 1 och metod 2. Genomsnittliga differensen var  $-0,05 \text{ HU/voxel}$ , variationsbredden  $-0,27$  till  $-0,000 \text{ HU/voxel}$  och 95 %-igt konfidensintervall för genom-snittliga differensen ( $-0,07$  till  $-0,04 \text{ HU/voxel}$ ) innefattade inte 0. Skillnaden mellan metod 1 och metod 2 var signifikant ( $P \leq 0,0005$ ) men medelvärdet av differensen mellan metoderna är väldigt liten i förhållande till medelvärdet av metod 1 och metod 2. Vidare låg sex observationer nedanför LLA. Dessa hade en variationsbredd av  $-0,27$  till  $-0,19 \text{ HU/voxel}$ .



Figur 10. Bland–Altmananalys av mätningar av höger framben. Benvolym höger framben (A) och bendensitet höger framben (B). Röd linje motsvarar nedre gränsen för överensstämmelse (LLA) och övre gränsen för överensstämmelse (ULA). Grön linje motsvarar genomsnittlig skillnad mellan mätmetoderna. HU = Hounsfieldenheter.



## Del II

Femton katter valdes ut till gruppen katter utan OA och nio katter till gruppen OA-katter (Tabell 4 och 5).

Tabell 4. Demografisk indelning av urvalsgrupper efter kön och ålder inför del två och tre av studien

Grupp	Kön			Ålder (år)		
	Kastrerad hane	Kastrerad hona	Intakt hona	Variationsbredd	Medel	Median
Katter utan OA <sup>a</sup> (n = 15)	7	7	1	1–12	5,47	6
Katter med OA <sup>b</sup> (n = 9)	8	1	0	7–15	10,56	11

<sup>a</sup>Katter utan radiologiska förändringar som tyder på OA i bog-, armbågs-, antebracheocarpal-, höft-, knä- eller tarsocruralled; <sup>b</sup>Katter med måttlig till kraftig OA i höger armbågsled

Tabell 5. Demografisk indelning av urvalsgrupper efter ras inför del två och tre av studien

Ras	Grupp	
	Katter utan OA <sup>a</sup> (n = 15)	Katter med OA <sup>b</sup> (n = 9)
Brittisk korthår	0	1
Huskatt, korthårig	1	1
Huskatt, långhårig	10	3
Maine Coon	1	3
Perser	0	1
Ragdoll	1	0
Sibirisk katt	1	0
Sphynx	1	0

<sup>a</sup>Katter utan radiologiska förändringar som tyder på OA i bog-, armbågs-, antebracheocarpal-, höft-, knä- eller tarsocruralled; <sup>b</sup>Katter med måttlig till kraftig OA i höger armbågsled

Uppdelningen av gruppen katter utan OA inför del två av studien redovisas i tabell 6. Eftersom endast en av katterna (honkatt tillhörande undergruppen ”låg bendensitet”) var okastrerad, uteslöts denna vid undersökning av samband mellan bendensitet och kön men räknades med vid övriga sambandsundersökningar.

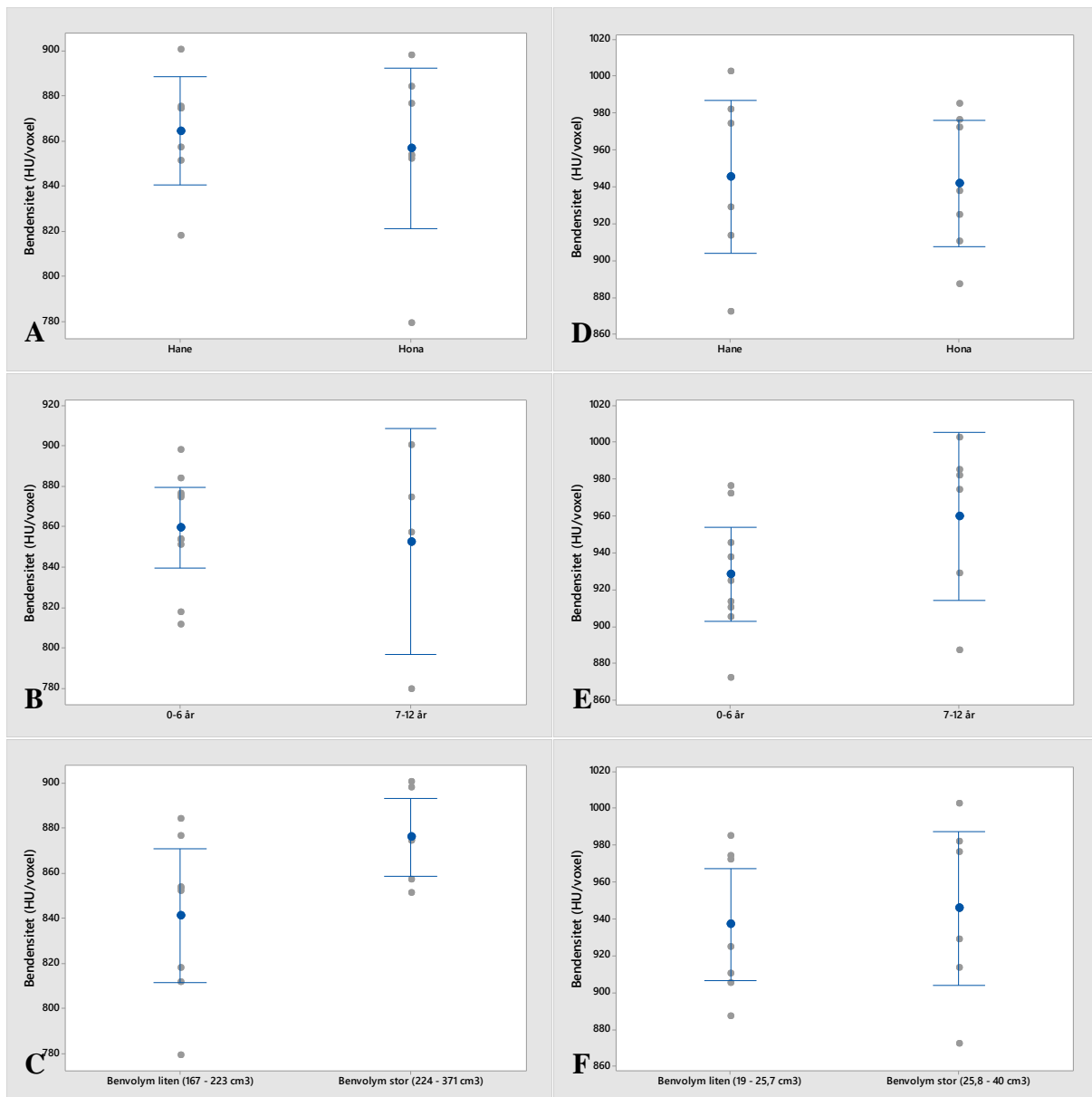
Tabell 6. *Indelning av urvalsgrupp i undergrupper inför del två av studien*

Undergrupp	Uppdelning	Antal
Bendensitet helkropp	Låg bendensitet (779–857 HU/voxel)	8
	Hög bendensitet (858–901 HU/voxel)	7
		(n = 15)
Benvolym helkropp	Liten (167–223 cm <sup>3</sup> )	8
	Stor (224–371 cm <sup>3</sup> )	7
		(n = 15)
Bendensitet HF	Låg bendensitet (872–937 HU/voxel)	8
	Hög bendensitet (938–1003 HU/voxel)	7
		(n = 15)
Benvolym HF	Liten (19–25,7 cm <sup>3</sup> )	8
	Stor (25,8–40 cm <sup>3</sup> )	7
		(n = 15)
Kön <sup>a</sup>	Kastrerad hane	7
	Kastrerad hona	7
		(n = 14)
Ålder	Ung (0–6 år)	10
	Gammal (7–12 år)	5
		(n = 15)

<sup>a</sup>Då endast en katt var okastrerad (hona) uteslöts denna; HF = höger framben, HU = Hounsfieldenheter.

Gällande bendensitet helkropp visade sannolikhetsdiagram samt Anderson–Darlings analys över normalfördelningen inte på någon signifikant avvikelse för någon av undergrupperna. Fischers exakta test visade att det inte fanns något samband mellan bendensitet och kön ( $P = 1$ ), bendensitet och ålder ( $P = 1$ ) eller bendensitet och skelettstorlek ( $P = 0,132$ ). T-testerna visade att bendensitet har ett samband med skelettstorlek ( $P = 0,035$ ;  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$ ;  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$ ; skillnad = -34,8) men inget samband med kön och ålder ( $P > 0,05$  i båda fallen). Resultatet illustreras i form av punktdiagram (Fig. 11 A-C).

Gällande bendensitet höger framben visade sannolikhetsdiagram samt Anderson-Darlings analys över normalfördelningen inte på någon signifikant avvikelse för någon av undergrupperna. Fischers exakta test visade att det inte fanns något samband mellan bendensitet och kön ( $P = 1$ ), bendensitet och ålder ( $P = 0,31$ ) eller bendensitet och skelettstorlek ( $P = 0,62$ ). T-testerna visade att bendensitet höger framben saknar samband med kön, ålder och skelettstorlek ( $P > 0,05$  i samtliga fall) Resultatet illustreras i form av punktdiagram (Fig. 11 D-E).



Figur 11. Punktdiagram över enskilda observationer: kön–bendensitet helkropp (A), ålder–bendensitet helkropp (B), benvolym helkropp–bendensitet helkropp (C), kön–bendensitet höger framben (D), ålder–bendensitet helkropp (E), benvolym höger framben–bendensitet höger framben (F). Grå punkter illustrerar individuella mätningar. Blå linje markerar 95 %-igt konfidensintervall. Blå punkt visar medelvärdet av bendensitet för respektive kategori. Individuella standardavvikelser har använts för att beräkna intervallen. HU = Hounsfieldenheter.

### Del III

Som en del av studiens syfte sammanställdes uppmätta data enligt metod 1 för gruppen katter utan OA och gruppen katter med OA inom områdena helkropp benvolym, helkropp bendensitet, benvolym höger framben samt bendensitet höger framben (Tabell 7).

Tabell 7. Sammanställning av mätningar av benvolym och bendensitet

Grupp	Område	Medelvärde	SD	Antal
Utan OA <sup>a</sup>	Helkropp benvolym (cm <sup>3</sup> )	225,1	49,36	n = 15
Med OA <sup>b</sup>	Helkropp benvolym (cm <sup>3</sup> )	291,6	64,61	n = 9
Utan OA <sup>a</sup>	Helkropp bendensitet (HU/voxel)	857,4	33,08	n = 15
Med OA <sup>b</sup>	Helkropp bendensitet (HU/voxel)	906,5	47,34	n = 9
Utan OA <sup>a</sup>	HF benvolym (cm <sup>3</sup> )	25,53	5,296	n = 15
Med OA <sup>b</sup>	HF benvolym (cm <sup>3</sup> )	31,96	7,406	n = 9
Utan OA <sup>a</sup>	HF bendensitet (HU/voxel)	941,1	39,45	n = 15
Med OA <sup>b</sup>	HF bendensitet (HU/voxel)	985,3	53,01	n = 9

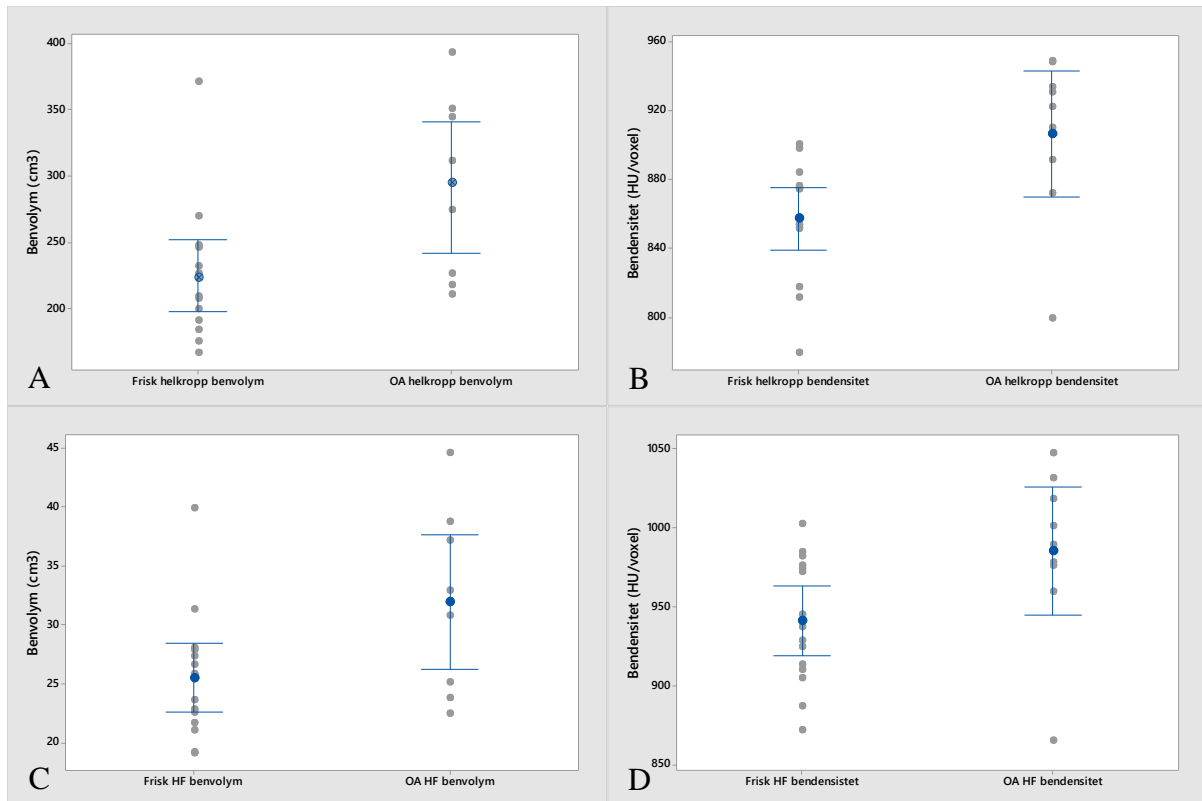
<sup>a</sup>Katter utan radiologiska förändringar som tyder på OA i bog-, armbågs-, antebracheocarpal-, höft-, knä- eller tarsocruralled; <sup>b</sup>Katter med måttlig till grav OA i höger armbågsled; HF = Höger framben; SD = standardavvikelse; HU = Hounsfieldenheter

Analys av normalfördelning av data visade signifikant avvikelse (P = 0,043) avseende benvolym helkropp hos katter utan OA. Övriga områden bedömdes vara normalfördelade hos båda grupperna. Jämförelse mellan benvolym helkropp OA-katter och benvolym helkropp katter utan OA utfördes därför genom Mann–Whitney analys, övriga jämförelser utfördes genom ”två stickprovs t-test”. Signifikant skillnad mellan OA-katter och friska katter förelåg inom samtliga områden (Tabell 8). OA-katterna hade högre median-/medelvärde inom samtliga områden vilket illustreras i figur 12.

Tabell 8. Jämförelse katter med OA (n = 9) med katter utan OA (n = 15)

Område	Analysmetod	P-värde	Skillnad med OA <sup>a</sup> –utan OA <sup>b</sup>	95 %-igt CI för skillnaden
Helkropp benvolym	Mann–Whitney	0,017	67,7252	11,266; 123,600
Helkropp bendensitet	”två stickprovs t-test”	0,018	49,1	10,0; 88,2
HF benvolym	”två stickprovs t-test”	0,042	6,43	0,28; 12,58
HF bendensitet	”två stickprovs t-test”	0,049	44,2	0,1; 88,3

<sup>a</sup>Katter med måttlig till grav OA i höger armbågsled; <sup>b</sup>Katter utan radiologiska förändringar som tyder på OA i bog-, armbågs-, antebracheocarpal-, höft-, knä- eller tarsocruralled; HF = höger framben; CI = konfidensintervall



Figur 12. Punktdiagram över enskilda observationer för grupperna katter med och utan OA (friska katter). Blå linje markerar 95 %-igt konfidensintervall (CI). Kryssad punkt visar medianvärde (A). Blå punkt visar medelvärde (B–D). Individuella standardavvikelser har använts för att beräkna intervallen. HU = Hounsfieldenheter.

## DISKUSSION

Studien har visat att de två metoderna har en oerhört god korrelation med ett ungefärligt 1:1 förhållande mellan metoderna, samtidigt som det föreligger systematiska skillnader i mätresultaten inom alla fyra mätområden (helkropp benvolym, helkropp bendensitet, benvolym höger framben samt bendensitet höger framben). Då metod 1 innebar bortsegmentering av objekt med hög densitet som inte är benvävnad och obefintlig risk att missa voxlar med HU  $\geq 350$  användes metod 1 som referensmetod. Metod 1 uppmätte genomgående högre benvolym och lägre bendensitet än metod 2. Den multiplikativa differens som Bland–Altman analysen visade vid mätning av benvolym på helkropp skulle kunna förklaras med att metod 2 inte tar med sternum och svanskotorna. En annan tänkbar delförklaring skulle kunna vara att metod 2 har svårare att få med voxlar vars HU ligger nära den nedre gränsen för vad som ska innefattas i mätningen. Detta på grund av att dessa voxlar tenderar att ligga inbäddade mellan voxlar vars HU ligger under angivet gränsvärde varpå metod 2 slutar växa innan voxlarna med ett HU strax över gränsvärdet nås. Ett sätt att hantera den multiplikativa differensen mellan metod 1 och metod 2 är att använda regressionsekvationerna för att omvandla mätresultat från metod 2 till motsvarande för metod 1.

Vid mätning av benvolym på höger framben förelåg en statistiskt signifikant skillnad mellan metoderna där metod 1 uppvisade högre mätresultat jämfört med metod 2 i varje enskild mätning. Skillnaden var dock väldigt liten (differensens medelvärde =  $0,01 \text{ cm}^3$ ) sett i förhållande till medianen av medelvärdet för metod 1 och metod två ( $27,37 \text{ cm}^3$ ) och saknar därmed praktisk betydelse. En förklaring till att metod 1 mätte högre benvolym skulle kunna ha varit att i denna studie mäter metod 1 HU 350–3071 medan metod 2 mäter HU 350–3000. Dock, en genomgång av histogramtabeller för höger framben tillhörande metod 1 visade ingen förekomst av voxlar med HU  $>3000$  hos någon individ. En annan tänkbar förklaring till skillnaden mellan metoderna skulle, än en gång, kunna vara kopplad till att metod 2 kan missa voxlar vars HU ligger nära det nedre gränsvärdet.

Gällande bendensitet uppvisade metod 1 lägre mätresultat jämfört med metod 2 för varje enskild mätning vid mätning av helkropp. Medelvärdet av differensen mellan metoderna låg på 10.81 enheter, vilket motsvarar ca 1 % (räknat på medianobservationen i Bland–Altman diagrammet) och därför bör regressionsekvation användas även här. Tänkbara orsaker till skillnaden mellan metoderna kan vara att metod 2 kan missa voxlar med lågt HU samt att metod 1 räknar med sternum och svanskotor. Anatomiska variationer i bendensitet har tidigare visats i andra studier (Cheon *et al.*, 2012; Njeh & Boivin, 1998). Det är därför möjligt att sternum och svanskotor har en densitet som ligger i de lägre regionerna av det spann (350–3071 HU) som mäts i denna studie varpå dessa drar ner individens genomsnittliga bendensitet vid mätning med metod 1 jämfört med metod 2. Vid mätning av bendensitet höger framben sågs att metod 1 uppvisar lägre mätresultat för varje enskild mätning. Skillnaden mellan metoderna var statistiskt signifikant men väldigt liten (differensens medelvärde =  $-0,05 \text{ cm}^3$ ) sett i förhållande till medianen av medelvärdet för metod 1 och metod två ( $966.77 \text{ cm}^3$ )

Antagande att metod 2 kan missa voxlar med ”lågt” HU stämmer bra in som del i förklaringsmodellen till varför metod 1 mäter högre benvolym men samtidigt även lägre bendensitet jämfört med metod 2. Att skillnaderna mellan metoderna var mindre vid mätning av höger

framben än helkropp kan bero på att andelen voxlar med ”lågt” HU är färre i ett framben än vid mätning av helkropp, vilket kan kopplas till den belastning de ingående benen utsätts för (Frost, 1994; Jaworski *et al.*, 1980).

Mätningar med metod 2 baseras på mjukvaran. Det är möjligt att korrelationen mellan metoderna kan ändras i samband med uppdatering av programmet som används vid mätning med metod 2. Att på nytt mäta bendensitet och benvolym med den uppdaterade versionen på individer ur detta arbete och jämföra resultatet med vad som uppmätts med denna version (Horos v. 2.4.0, 64-bit, The Horos project) skulle kunna vara ett sätt att hantera frågan.

Samband mellan bendensitet och skelettstorlek (benvolym) sett till helkropp kunde visas statistiskt med t-test men inte med Fischers exakta test. Fischers exakta test baseras på en indelning av grupper som är tydligt skilda från varandra i en korstabell. Fischeranalysen är beroende av hur uppdelningen i korstabellen ser ut. I detta fall är gränsdragningen oklar: det finns inga tydliga gränser för när en katt räknas som stor eller som liten utan är en subjektiv fråga och beroende av katterna som ingick i denna del av studien. Ett ”två stickprovs t-test” å andra sidan undersöker skillnader i medelvärde hos två grupper och är känsligt för snedfördelning av data, varför varje grupp bör innehålla minst 15 observationer. Resultaten kan därför skilja sig mellan de två testtyperna. Data i denna studie bedömdes inte snedfördelad men antalet observationer var väldigt litet.

Motsvarande samband mellan bendensitet och skelettstorlek i höger framben kunde inte ses, kanske på grund att skillnaderna mellan grupperna var för små för att detektera med det låga antal katter som ingick i denna del av studien. Det skulle också kunna vara så att anpassningen av bendensitet efter benvolym sker (eller sker i större utsträckning) i axialskelettet snarare än i det appendikulära skelettet (extremitetsskelettet). En tänkbar framtida studie skulle kunna vara att jämföra bendensitet i ryggkotor hos stora och små katter.

Att det kan finnas en positiv korrelation mellan benvolym och bendensitet hos katt stöds av studier gjorda på människa. Ruffing *et al.* (2006) drog i sin studie slutsatsen att hos människa är att längd är positivt korrelerad till mineraltäthet, d.v.s. mängden mineral inlagrad i benvävnaden. Kopplingen sågs i samtliga områden som undersöktes (calcaneus, ryggrad, höft och tibia). Längd hade även inverkan på tibias omkrets men inte dess kortikala tjocklek (Ruffing *et al.*, 2006). Tassani *et al.* (2011) menar i sin studie, även den utförd på människa, att mineraltäthet i benvävnad kan ha en linjär koppling till benvolym vid mätning med hjälp av datortomografi.

Denna studie kunde inte visa på signifikant samband mellan bendensitet och kön eller bendensitet och ålder. Avsaknad av samband mellan bendensitet och kön stöds av Cheon *et al.* (2012) men går emot två studier utförda med hjälp av DEXA (Cline *et al.*, 2019; Lauten *et al.*, 2000). Gällande sambandet mellan ålder och bendensitet fann Cheon *et al.* (2012) statistiskt signifikanta skillnader i trabekulär bendensitet mellan olika åldersgrupper men den studien har en högre sensitivitet då den även innefattar voxlar < 350 HU och jämför mer specifika områden snarare än helkropp.

Hypotesen att katter med OA skulle ha lägre bendensitet än katter utan avvisades i detta arbete. Istället visades att katter med OA har högre bendensitet och benvolym, både sett till helkropp och sett till höger framben. Belastning har en stor inverkan på bendensitet och benvolym (Jaworski *et al.*, 1980; Uthoff & Jaworski, 1978). Belastning kan i sin tur påverkas av smärta. Med tanke på att OA hos katt kan leda till smärta (Lascelles *et al.*, 2012), uppvisad hälta (Clarke & Bennett, 2006), ovilja att hoppa upp och ner från höjder och/eller förändrad gång (Godfrey, 2002; Hardie, 1997) samt ändrat rörelsemönster (Gruen *et al.*, 2017) vore det logiskt att sjukdomen skulle kunna leda till minskad bendensitet i såväl OA-afpekterad extremitet som i kattens skelett i sin helhet. Det skulle kunna vara så att de ledförändringar som ses på DT-undersökningarna i denna studie ännu inte lett till ändrad belastning av extremiteter hos katterna så teorin att katter med hälta och minskad aktivitet skulle få nedsatt bendensitet orsakat av minskad belastning och aktivitet går inte att utesluta trots resultatet i denna studie. Ytterligare studier, som tittar på hur bendensitet påverkas vid hälta hos katter med OA behövs men även hur bendensitet påverkas hos katter med hälta av andra orsaker.

Vid OA hos katt sker en rad förändringar i benvolym och bendensitet lokalt i området runt afpekterad led. Det bildas varierande grad av osteofyter, skleros och mineralisering av mjukvävnad (Clarke *et al.*, 2005). Studier på andra djurslag talar för en ökad benvolym och ökad bendensitet kopplat till de förändringar som ses vid OA (Heales *et al.*, 2019; Batiste *et al.*, 2004) samtidigt som även lysis av benvävnad kan ske i området (Stewart & Kawcak, 2018). En studie av Batiste *et al.* (2004) på kirurgiskt orsakad OA hos kanin visade på en initial (4–8 v.) minskning av trabekulär bendensitet subkondralt som en följd av minskad belastning av leden. När benet började belastas igen normaliserades trabekulära bendensiteten. Därefter, i takt med att OA progredierade och subkondrala brosket degenererade, ökade tjockleken på den subkondrala benplattan. De lokala förändringar som uppstår i och runt leden skulle till viss del kunna förklara resultatet av denna studie men är kanske för små för att ensamma kunna förklara de uppmätta skillnaderna mellan grupperna katter med OA och katter utan OA. Kanske är skillnaden ett resultat av en systemisk effekt, att OA är kopplat till en uppreglering av mineralisering i skelettet som helhet.

Vid helkroppsmätning sågs att katter med OA i höger armbågsled hade högre benvolym och bendensitet (baserat på medel-/ medianvärde), jämfört med katter fria från OA samt en positiv korrelation mellan benvolym och bendensitet.

Vid mätning av höger framben sågs även här att katter med OA i höger armbågsled hade högre benvolym och bendensitet (baserat på medel-/ medianvärde) jämfört med katter fria från OA, däremot kunde inget samband mellan benvolym och bendensitet ses.

En viktig fråga att ställa sig är vad skillnaderna mellan grupperna beror på: är det p.g.a. att OA ger ökad benvolym och bendensitet? Är det för att stora katter löper ökad risk att drabbas av OA? Är det en kombination av de två? Intressant är att katter med OA i höger armbågsled hade större bendensitet i höger framben jämfört med katter fria från OA då denna studie inte fann en positiv korrelation mellan benvolym och bendensitet i höger framben hos katter fria från OA. Detta tyder starkt på att OA ger ökad bendensitet. Tidigare studier har visat att det kan finnas en koppling mellan storvuxna raser och höftleds dysplasi (Low *et al.*, 2019; Keller *et al.*, 1999)



samt koppling mellan höftledsdysplasi och OA i höftled på katt (Keller *et al.*, 1999). Detta skulle kunna ge stöd åt tanken att stora katter löper ökad risk att drabbas av OA.

För att vidare utreda om OA har en inverkan på bendensitet behövs ytterligare studier där katter av samma storlek (medelvärde och standardavvikelse för benvolym) jämförs med varandra. För att vidare utreda om OA har en inverkan på benvolym behövs även här ytterligare studier där katter av samma storlek jämförs med varandra men storleksindelningen kan inte baseras på benvolym. Kanske vore mankhöjd ett användbart mått vid indelning av grupper då denna är ett mått på storlek som inte påverkas av fetma och ej heller borde påverkas av variationer i benvolym och bendensitet som OA eventuellt skulle kunna ge upphov till.

Fremsta begränsningen i detta arbete är undergruppernas storlek och innehåll i del II och del III. På grund av litet urval blev undergrupperna små. Små grupper gör det svårt att dra statistiskt signifikanta slutsatser vid jämförelser mellan grupperna samt avvikande individer får större tyngd i analyserna. I del II av studien påverkades även uppdelning i numeriska kategorier av det låga antalet då uppdelningen baseras på uppmätta värden inom gruppen snarare än fastställda referensvärden. Resultaten är signifikanta men för att bekräfta att dessa inte är ett resultat av urvalsskevheter behövs ytterligare studier med fler individer i varje grupp. Litet urval gör även att faktorer som ålder, kön och ras (t.ex. storvuxna raser) inte kunnat tas hänsyn till vid jämförelse av OA-katter med katter utan OA. Detta har lett till att bägge grupperna i del III innehåller en stor spridning av data och ojämn fördelning avseende ålder, kön och ras. För att undvika detta bör framtida studier, utifrån studiens frågeställning, sikta på att ha så homogena grupper som möjligt alternativt fler individer i varje grupp för att minska risken för urvalsskevheter.

En annan begränsning med studien är att det hos katt saknas fastställt nedre gränsvärde för benvävnad. Då ”partial volume averaging” är ett känt fenomen inom datortomografi valdes en avvägning med syfte att minska risken att voxlar som utgörs till mindre än hälften av benvävnad räknas med vid mätning. Målet var att undvika att räkna med voxlar som utgörs av en liten andel benvävnad med hög densitet utan att missa voxlar som utgörs av stor andel benvävnad med låg densitet. Metod 1 saknar övre gränsvärde eftersom föremål (icke benvävnad) med hög attenuering segmenterats bort manuellt innan mätning. Utifrån resultaten som setts i denna studie bedöms gränsdragningen ha fungerat bra.

Ytterligare en begränsning med denna studie är avsaknaden av fantom i samband med att DT-undersökningarna genomfördes. Det var därför inte möjligt att omräkna vad beräknad bendensitet ( $\text{HU}/\text{cm}^3$ ) motsvarar i mängd inlagrad benmineral ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ). Avsaknad av fantom i kombination med att olika datortomografer kan skilja sig i uppmätt HU för samma täthet innebär att uppmätta värden i denna studie inte kan användas som generella referensvärden. Studiens resultat står sig dock fortfarande då dessa bygger på relativa jämförelser och samtliga undersökningar genomfördes med samma datortomograf.

## Konklusion

Studien hittade ett starkt samband mellan mätning med metod 1 och 2 trots att systematiska skillnader föreligger mellan metoderna vid helkroppsmätning. Slutsatsen är att bägge meto-

derna går att använda vid mätning av benvolym och bendensitet förutsatt att man bara jämför med mätningar gjorda av samma metod alternativt använder regressionsekvation för att omvandla resultatet av metod 2 till metod 1. Trots få individer i del II av arbetet sågs signifikanta skillnader i helkropps bendensitet mellan individer med stor benvolym och individer med liten benvolym men inte vid mätning av höger framben. För att närmare utreda om detta innebär att det är bendensiteten i axialskelettet som korrelerar med kroppsstorleken (benvolymen) kan man göra en studie liknande del II i denna studie, men där man tittar på bendensiteten i ryggkotorna istället för helkropps bendensitet. En sådan studie skulle kunna genomföras utifrån studiematerialet i denna studie. För att helt kunna svara på frågan om det finns en positiv korrelation mellan benvolym och bendensitet även i höger framben, bara att den var för liten för att upptäckas i denna studie, behövs ytterligare studier med större grupper. Det förelåg även en mätbar skillnad i bendensitet och benvolym mellan katter med OA och katter utan OA, vilket var i motsats till studiens hypotes och katter med OA hade både högre benvolym och bendensitet sett till helkropp samt höger framben jämfört med gruppen katter fria från OA. Detta skulle kunna innebära att OA leder till ökad benvolym och bendensitet men det skulle även kunna vara så att storvuxna individer löper ökad risk att drabbas av OA. Att katter med OA även hade ökad bendensitet vid mätning av höger framben skulle kunna tala för en koppling mellan OA och höjd bendensitet som inte kan förklaras av storleken på individen. Studier där katter med OA jämförs med katter fria från OA i samma storlek skulle kunna bidra till att svara på frågan om det finns en koppling mellan OA och bendensitet.

## POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Kroppens benvävnad är uppbyggd av en stomme av organiskt material som mineraliseras. Omfattningen av mineraliseringen kan påverkas av faktorer såsom tillväxt hos unga individer, fysikalisk belastning och olika sjukdomstillstånd. Ett mått på mängden mineraler lagrade i skelettet i förhållande till benvolym kallas bendensitet. Bendensiteten påverkas även av hur porös benvävnaden är. Kunskap om hur bendensitet och benvolym förhåller sig till kön, ålder och storlek hos friska individer möjliggör att man skulle kunna skilja individer drabbade av en sjukdom som påverkar bendensitet och/eller benvolym från friska individer. På människa är mätning av bendensitet ett viktigt redskap vid diagnosticering av osteoporos. Hos katt skulle mätning av benvolym och bendensitet kunna användas som ett led i diagnosticering av t.ex. osteoartrit (OA), hälta eller andra sjukdomar som kan tänkas påverka benvolym och bendensitet. Att mäta bendensitet skulle därför kunna användas både inom forskning för att bättre förstå sjukdomsprocesser men även i den dagliga kliniska verksamheten för att diagnosticera sjukdomar.

Även benvolym är viktigt att mäta, framför allt vid forskning i samband med undersökning av kroppscomposition då mängden fettvävnad i relation till benvolym är ett säkrare mått än mängden fettvävnad i förhållande till övrig mjukdelsvävnad men även när man letar efter tänkbara samband/förhållanden till olika sjukdomstillstånd. Ibland kan kroppsstorlek fungera som en fristående påverkande faktor, s.k. förväxlingsfaktor (confounder), och då vill man kunna utesluta denna. Men ibland kan kroppsstorlek istället vara en bidragande faktor och i dessa fall vill man kunna kvantifiera denna. Att använda kroppsweight som mått på kroppsstorlek kan bli missvisande då en liten, överviktig katt kan ha samma kroppsweight som en stor smal. Att istället använda benvolym som referens för normalvariation skulle därför vara en säkrare metod. Detta gäller framför allt vid forskning inom veterinärmedicin där benvolymer (kroppsstorleken) hos vuxna individer kan variera mellan raser.

Osteoartrit är en inflammatorisk ledsjukdom som är vanlig hos äldre katter. Vid röntgen av påverkade leder ses bl.a. förändring i bendensitet och benpålagringar. Omfattningen av förändringarna beror på hur långt framskriden sjukdomen är. Hur bendensitet och benvolym i övriga delar av kroppen påverkas vid OA är i stor utsträckning okänt idag men katter med OA kan uppvisa hälta och eller minskad aktivitet, något som kan leda till minskad belastning av skelettet. Belastning är en viktig faktor som påverkar bendensitet och benvolym, där minskad belastning leder till framför allt minskad bendensitet men även minskad benvolym. Hypotesen i denna studie var att katter med OA, som kan tänkas påverka bendensitet och benvolym, har lägre bendensitet och benvolym jämfört med friska katter utan OA.

Det finns många olika sätt att mäta benstorlek. Datortomografi (DT) är en typ av bilddiagnostik som möjliggör att man kan mäta benvolym ( $\text{cm}^3$ ). Vid DT används röntgenstrålning likt konventionell röntgen men strålkällan och detektorplattor roterar synkront runt patienten. Varje varv ger en bild som motsvarar en tunn skiva av objektet. Resultatet av en undersökning blir en stor mängd tunna skivor vilka kan undersökas separat eller sättas samman varpå man kan utföra mätningar på valfritt område och omfattning av objektet. Mätning av benvolym och bendensitet bygger på att skivan delas upp i små kuber, s.k. voxel, där varje voxel tillskrivs ett individuellt täthetsvärde. Tätheten mäts i Hounsfieldenheter (HU) och olika typer av vävnader

har olika spann av HU. Det är därmed möjligt att urskilja om voxeln representerar benvävnad eller ej utifrån uppmätt HU i voxeln. Alla voxlar är likformiga med en känd storlek. Genom att summera voxlar med HU inom det spann som benvävnad förväntas ha kan man beräkna sammanlagda volymen av benvävnad. Genomsnittlig bendensitet beräknas genom att summera HU för samtliga voxlar vars HU motsvarar benvävnad och dividera med den beräknade volymen.

För en frisk katt är det idag inte klarlagt vad som är normal benvolym och bendensitet. Det saknas även utvärderingar av olika metoder som kan användas vid mätning av benvolym och bendensitet med datortomografi.

Syftena med detta arbete var att jämföra två metoder för mätning av bendensitet och benvolym på bilder tagna med en datortomograf; undersöka om det fanns ett samband mellan bendensitet och kön, ålder samt kroppsstorlek (benvolym) hos friska individer och slutligen undersöka om bendensitet och benvolym skiljer sig åt mellan katter med OA i höger armbågsled (men ingen annan sjukdom) och friska katter utan OA.

Jämförelse av bendensitet och benvolym gjordes med två metoder och på två områden: helkropp, där alla ben och leder förutom bröstben och svanskotor ingick, och höger framben. Metod 1 innebär att man räknar alla voxlar i hela den aktuella undersökningen med ett HU som ligger inom spannet för benvävnad. Fördelen med metod 1 är att inga voxlar med HU motsvarande benvävnad riskerar att missas och metoden kan därför användas som referensmetod. Nackdelen är att metod 1 är mycket mer tidskrävande än metod 2. Metod 2 innebär att man låter ett datorprogram bygga en 3D-modell över skelettet utifrån voxlarnas HU. Fördelen är att metoden är snabb, nackdelen är att datorn kan missa voxlar som har önskat HU samt att det i vissa fall krävs kompletterande mätningar. Eftersom metod 1 ansågs vara referensmetod användes metod 1 i studiens alla delar medan metod 2 bara användes i studiens första del, där de två metoderna jämfördes med varandra.

Datortomografiundersökningar från 75 katter, samtliga bedömt kliniskt friska men ett fåtal hade en historik av lindrig kronisk hälta, användes för att jämföra de två metoderna. Alla katter mättes avseende helkropp benvolym, helkropp bendensitet, benvolym höger framben samt bendensitet höger framben, först med metod 1, och därefter med metod 2. Resultatet visade på ett tydligt samband mellan mätresultaten för metod 1 och 2 inom samtliga fyra mätområden. Vid mätning av helkropp benvolym uppmätte metod 1 större benvolym än metod 2 och vid mätning av helkropp bendensitet uppmätte metod 1 lägre värden än metod 2. Även vid mätning av benvolym och bendensitet höger framben sågs en skillnad mellan metoderna. Skillnaden var dock så pass liten att den saknar betydelse i praktiken.

Femton katter av ursprungliga 75 kunde klassas som fria från OA och andra sjukdomar som skulle kunna påverka bendensitet. Dessa femton katter delades in i undergrupper som möjliggjorde jämförelse av bendensitet hos hona–hane, unga–gamla samt liten skelettstorlek–stor skelettstorlek. Resultatet visade på samband endast mellan skelettstorlek och bendensitet, där katter med stor skelettstorlek även hade högre bendensitet. Sambandet sågs dock bara för helkroppsmätningar, inte för mätningar av höger framben.

I gruppen med 75 katter fanns även nio katter med måttlig till grav OA i höger armbågsled men utan andra sjukdomar som skulle kunna påverka bendensitet. Dessa nio katter plockades ut och jämfördes med de femton friska katterna avseende helkroppsmätning av benvolym och bendensitet samt benvolym och bendensitet i höger framben. Resultaten visade att katter med OA hade större benvolym och högre bendensitet både sett till helkropp och höger framben.

Studien har visat att mätresultat från de två metoderna skiljer sig åt vid mätning av benvolym och bendensitet vid mätning av helkropp. I vissa fall var skillnaden så pass liten att den saknar praktisk betydelse medan den i andra fall var större och följde kroppsstorleken (benvolymen). Den skillnad som sågs mellan metoderna vid mätning helkropp kombinerat med att metoderna inte skiljer sig åt nämnvärt vid mätning av höger framben skulle kunna bero på att metod 2 inte räknar med bröstben och svanskotor. Sambandet mellan metoderna är dock så pass starkt att man med stor säkerhet kan använda en matematisk formel för att utifrån mätresultatet från den ena metoden beräkna resultatet för motsvarande mätning om den gjorts med den andra metoden.

Att samband mellan ökad benvolym och ökad bendensitet hos friska individer inte sågs vid mätning av höger framben skulle kunna bero på att det bara är andra delar av skelettet, såsom ryggraden, som påverkas. En annan tänkbar förklaring skulle kunna vara att skillnaden mellan grupperna vid mätning av höger framben var för liten för att detekteras i denna studie p.g.a. att grupperna som jämfördes var för få till antalet. Individer med OA hade i denna studie högre benvolym och bendensitet än katter fria från OA men orsaken till sambandet är inte fastställd. Detta väcker flera frågor: Är den ökade bendensiteten en följd av att katterna är stora? är OA orsaken till högre bendensitet eller är hög bendensitet en orsak till OA? Det skulle även kunna vara så att stora katter (d.v.s. katter med större benvolym) löper högre risk att utveckla OA. I detta arbete saknas information om katterna med OA uppvisat tecken på hälta eller ej. Hälta borde, indirekt, leda till minskad bendensitet i drabbad extremitet som en följd av minskad belastning av benet. Katter med OA hade i denna studie högre bendensitet och högre benvolym i höger framben än katter fria från OA. Detta skulle kunna tala för att OA leder till ökad bendensitet då denna studie ej fann något samband mellan benvolym och bendensitet vid mätning av höger framben hos katter fria från OA.

En begränsning med denna studie har varit det låga antalet individer i de olika undergrupperna kombinerat med stor spridning av storlek inom grupperna. Riskerna med små grupper är att samband kan missas samt resultaten blir mer beroenden av de få individer som ingår, det vill säga att risken för s.k. urvalsskevhet ökar. Därför behövs fler studier, motsvarande denna, med större grupper för att vidare utreda sambandet mellan benvolym och bendensitet samt grupper av jämnstora katter för att vidare utreda sambandet mellan OA och benvolym/bendensitet. Även studier som undersöker hur bendensitet hos katt påverkas av hälta vore önskvärt.

## **TACK**

Jag vill tacka min handledare Charles Ley och biträdande handledare Cecilia Ley för allt stöd och hjälp under arbetets gång samt ge en eloge för att ni tålmodigt läst igenom arbetet gång efter annan. Jag önskar även rikta ett stort tack till min examinator Kerstin Hansson.

## REFERENSLISTA

- Anderson-MacKenzie, J.M., Quasnichka, H.L., Starr, R.L., Lewis, E.J., Billingham, M.E. & Bailey, A.J. (2005). Fundamental subchondral bone changes in spontaneous knee osteoarthritis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37(1), ss. 224-36.
- Ash, P., Loutit, J.F. & Townsend, K.M. (1981). Osteoclasts derive from hematopoietic stem cells according to marker, giant lysosomes of beige mice. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (155), ss. 249-58.
- Avrunin, A.S. & Tses, E.A. (2016). The birth of a new scientific field - biomechanics of the skeleton. Julius Wolff and his work "Das Gesetz der Transformation der Knochen". *History of Medicine*, 3(4), ss. 372-376.
- Barber, P.J. & Elliott, J. (1998). Feline chronic renal failure: calcium homeostasis in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995. *Journal of Small Animal Practice*, 39(3), ss. 108-116.
- Bashir, M., Amarpal, A., Kinjavdekar, P., Aithal, H.P., Pawde, A. & Dhama, K. (2014). An update on diagnostic imaging techniques in veterinary practice. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2, ss. 64-77.
- Batiste, D.L., Kirkley, A., Laverty, S., Thain, L.M., Spouge, A.R. & Holdsworth, D.W. (2004). Ex vivo characterization of articular cartilage and bone lesions in a rabbit ACL transection model of osteoarthritis using MRI and micro-CT. *Osteoarthritis Cartilage*, 12(12), ss. 986-96.
- Berkshire Community College (2018). Connective tissue: compact bone. *BCC Bioscience Image Library* <https://www.flickr.com/photos/146824358@N03/39978304920>: bccoer <https://www.flickr.com/photos/146824358@N03>, s. licens under CC0 1.0. [2019-10-18]
- Birnbaum, B.A., Hindman, N., Lee, J. & Babb, J.S. (2007). Multidetector row CT attenuation measurements: assessment of intra- and interscanner variability with an anthropomorphic body CT phantom. *Radiology*, 242(1), ss. 109-19.
- Blake, G.M., Parker, J.C., Buxton, F.M. & Fogelman, I. (1993). Dual X-ray absorptiometry: a comparison between fan beam and pencil beam scans. *British Journal of Radiology*, 66(790), ss. 902-6.
- Bonewald, L.F. (2007). Osteocytes as dynamic multifunctional cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1116(1), ss. 281-290.
- Boonen, S., Nijs, J., Borghs, H., Peeters, H., Vanderschueren, D. & Luyten, F.P. (2005). Identifying postmenopausal women with osteoporosis by calcaneal ultrasound, metacarpal digital X-ray radiogrammetry and phalangeal radiographic absorptiometry: a comparative study. *Osteoporos International*, 16(1), ss. 93-100.
- Boyd, S.K., Muller, R., Leonard, T. & Herzog, W. (2005). Long-term periarticular bone adaptation in a feline knee injury model for post-traumatic experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 13(3), ss. 235-42.
- Brand, R.A. (2010). Biographical sketch: Julius Wolff, 1836-1902. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 468(4), ss. 1047-1049.
- Buenzli, P.R. & Sims, N.A. (2015). Quantifying the osteocyte network in the human skeleton. *Bone*, 75, ss. 144-50.
- Carlson, C.S. & Weisbrode, S.E. (2012). Bones, joints, tendons, and ligaments. I: Zachary, J.F. & McGavin, M.D. (red.) *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5. uppl. Missouri: Elsevier, ss. 920-971.
- Cheon, H., Choi, W., Lee, Y., Lee, D., Kim, J., Kang, J.H., Na, K., Chang, J. & Chang, D. (2012). Assessment of trabecular bone mineral density using quantitative computed tomography in normal cats. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(11), ss. 1461-7.

- Clarke, S.P. & Bennett, D. (2006). Feline osteoarthritis: a prospective study of 28 cases. *Journal of Small Animal Practice*, 47(8), ss. 439-45.
- Clarke, S.P., Mellor, D., Clements, D.N., Gemmill, T., Farrell, M., Carmichael, S. & Bennett, D. (2005). Prevalence of radiographic signs of degenerative joint disease in a hospital population of cats. *Veterinary Record*, 157(25), ss. 793-9.
- Cline, M.G., Witzel, A.L., Moyers, T.D. & Kirk, C.A. (2019). Body composition of lean outdoor intact cats vs lean indoor neutered cats using dual-energy x-ray absorptiometry. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 21(6), ss. 459-464.
- Council, N., Dyce, J., Drost, W.T., de Brito Galvao, J.F., Rosol, T.J. & Chew, D.J. (2017). Bilateral patellar fractures and increased cortical bone thickness associated with long-term oral alendronate treatment in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 3(2), ss. 1-6.
- Crabtree, N.J., Leonard, M.B. & Zemel, B.S. (2007). Dual-energy X-ray absorptiometry. I: Sawyer, A.J., Bachrach, L.K. & Fung, E.B. (red.) *Bone Densitometry in Growing Patients: Guidelines for Clinical Practice. (Current Clinical Practice)*. Totowa: Humana Press Inc., ss. 41-57.
- Craig, L.E., Dittmer, K.E. & Thompson, K.G. (2016). Chapter 2 - Bones and joints. I: Maxie, M.G. (red.) *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 1 (Sixth Edition)* W.B. Saunders, ss. 16-163.e1. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702053177000023>.
- d'Anjou, M.-A. (2012). Principles of computed tomography and magnetic resonance imaging. I: Thrall, D.E. (red.) *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology*. 6. uppl. Missouri: Elsevier, ss. 71-82.
- Dáni (2010). Espiral 121. *Wikimedia Commons*.  
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=9867364>: Dnu72  
<https://commons.wikimedia.org/wiki/User:Dnu72>, s. Licens under CC BY-SA 4.0. [2019-10-20]
- Dedic, C., Hung, T.S., Shipley, A.M., Maeda, A., Gardella, T., Miller, A.L., Divieti Pajevic, P., Kunkel, J.G. & Rubinacci, A. (2018). Calcium fluxes at the bone/plasma interface: Acute effects of parathyroid hormone (PTH) and targeted deletion of PTH/PTH-related peptide (PTHrP) receptor in the osteocytes. *Bone*, 116, ss. 135-143.
- Dehmeshki, J., Amin, H., Valdivieso, M. & Ye, X. (2008). Segmentation of pulmonary nodules in thoracic CT scans: a region growing approach. *Institute of Electrical and Electronics Engineers Transactions on Medical Imaging*, 27(4), ss. 467-480.
- Dhainaut, A., Hoff, M., Syversen, U. & Haugeberg, G. (2016). Technologies for assessment of bone reflecting bone strength and bone mineral density in elderly women: an update. *Womens Health (London, England)*, 12(2), ss. 209-16.
- Ducy, P., Schinke, T. & Karsenty, G. (2000). The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science*, 289(5484), ss. 1501-4.
- Ebbesen, E.N., Thomsen, J.S., Beck-Nielsen, H., Nepper-Rasmussen, H.J. & Mosekilde, L. (1999). Lumbar vertebral body compressive strength evaluated by dual-energy X-ray absorptiometry, quantitative computed tomography, and ashing. *Bone*, 25(6), ss. 713-24.
- Fantner, G.E., Adams, J., Turner, P., Thurner, P.J., Fisher, L.W. & Hansma, P.K. (2007). Nanoscale ion mediated networks in bone: osteopontin can repeatedly dissipate large amounts of energy. *Nano Letters*, 7(8), ss. 2491-2498.
- Faulkner, K.G., Gluer, C.C., Majumdar, S., Lang, P., Engelke, K. & Genant, H.K. (1991). Noninvasive measurements of bone mass, structure, and strength: current methods and experimental techniques. *American Journal of Roentgenology*, 157(6), ss. 1229-37.
- Fetter, A.W., Siemering, G.H. & Riser, W.H. (1985). Osteoporosis and osteopetrosis. I: Newton, C.D., Nunamaker, D.M. (red.) *Textbook of Small Animal Orthopedics*. Philadelphia: Lippincott. Tillgänglig: [http://cal.vet.upenn.edu/projects/saortho/chapter\\_55/55mast.htm](http://cal.vet.upenn.edu/projects/saortho/chapter_55/55mast.htm) [2020-01-07].



- Formica, C.A., Nieves, J.W., Cosman, F., Garrett, P. & Lindsay, R. (1998). Comparative assessment of bone mineral measurements using dual X-ray absorptiometry and peripheral quantitative computed tomography. *Osteoporos International*, 8(5), ss. 460-7.
- Franz-Odenaal, T.A., Hall, B.K. & Witten, P.E. (2006). Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Developmental Dynamics*, 235(1), ss. 176-190.
- Freire, M., Brown, J., Robertson, I.D., Pease, A.P., Hash, J., Hunter, S., Simpson, W., Thomson Sumrell, A. & Lascelles, B.D.X. (2010). Meniscal mineralization in domestic cats. *Veterinary Surgery*, 39(5), ss. 545-552.
- Freire, M., Meuten, D., Lascelles, D. (2014). Pathology of articular cartilage and synovial membrane from elbow joints with and without degenerative joint disease in domestic cats. *Veterinary Pathology*, 51(5), ss. 968-978.
- Freire, M., Robertson, I., Bondell, H.D., Brown, J., Hash, J., Pease, A.P. & Lascelles, B.D.X. (2011). Radiographic evaluation of feline appendicular degenerative joint disease vs. macroscopic appearance of articular cartilage. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 52(3), ss. 239-247.
- Frost, H.L. (1960). Presence of microscopic cracks in vivo in bone. *Henry Ford Hospital Medical Bulletin*, 8(1), ss. 25-35.
- Frost, H.M. (1994). Wolff's Law and bone's structural adaptations to mechanical usage: an overview for clinicians. *Angle Orthodontist*, 64(3), ss. 175-88.
- Fujita, M., Takaishi, Y., Nagae, H., Watanabe, N., Hasegawa, D., Taniguchi, A. & Orima, H. (2007). Osteopetrosis-like disease in a cat with respiratory distress. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69(6), ss. 687-690.
- Gao, X., Lee, J., Malladi, S., Melendez, L., Lascelles, B.D. & Al-Murrani, S. (2013). Feline degenerative joint disease: a genomic and proteomic approach. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(6), ss. 466-77.
- Gibon, E., Lu, L.Y., Nathan, K. & Goodman, S.B. (2017). Inflammation, ageing, and bone regeneration. *Journal of Orthopaedic Translation*, 10, ss. 28-35.
- Godfrey, D.R. (2002). Orthopaedics. *Journal of Small Animal Practice*, 43(6), ss. 260-260.
- Godfrey, D.R. (2005). Osteoarthritis in cats: a retrospective radiological study. *Journal of Small Animal Practice*, 46(9), ss. 425-9.
- Goldman, L.W. (2007). Principles of CT and CT technology. *Journal of Nuclear Medicine Technology*, 35(3), ss. 115-28; quiz 129-30.
- Goldman, L.W. (2008). Principles of CT: multislice CT. *Journal of Nuclear Medicine Technology*, 36(2), ss. 57-68; quiz 75-6.
- Gorski, J.P. (2011). Biomineralization of bone: a fresh view of the roles of non-collagenous proteins. *Frontiers in Bioscience (Landmark edition)*, 16, ss. 2598-2621.
- Greenblatt, M.B. & Shim, J.-H. (2013). Osteoimmunology: a brief introduction. *Immune Network*, 13(4), ss. 111-115.
- Gruen, M.E., Alfaro-Cordoba, M., Thomson, A.E., Worth, A.C., Staicu, A.M. & Lascelles, B.D. (2017). The use of functional data analysis to evaluate activity in a spontaneous model of degenerative joint disease associated pain in cats. *Public Library of Science One*, 12(1), s. e0169576.
- Hanel, R.M., Graham, J.P., Levy, J.K., Buergelt, C.D. & Creamer, J. (2004). Generalized osteosclerosis in a cat. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 45(4), ss. 318-324.
- Hardie, E.M. (1997). Management of osteoarthritis in cats. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 27(4), ss. 945-53.

- Hardie, E.M., Roe, S.C. & Martin, F.R. (2002). Radiographic evidence of degenerative joint disease in geriatric cats: 100 cases (1994-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(5), ss. 628-32.
- Hazenbergh, J.G., Taylor, D. & Lee, T.C. (2007). The role of osteocytes and bone microstructure in preventing osteoporotic fractures. *Osteoporosis International*, 18(1), ss. 1-8.
- Hodsman, A.B., Bauer, D.C., Dempster, D.W., Dian, L., Hanley, D.A., Harris, S.T., Kendler, D.L., McClung, M.R., Miller, P.D., Olszynski, W.P., Orwoll, E. & Yuen, C.K. (2005). Parathyroid hormone and teriparatide for the treatment of osteoporosis: a review of the evidence and suggested guidelines for its use. *Endocrine Reviews*, 26(5), ss. 688-703.
- Hoover, E.A. & Kociba, G.J. (1974). Bone lesions in cats with anemia induced by feline leukemia virus. *Journal of the National Cancer Institute*, 53(5), ss. 1277-84.
- Jaworski, Z.F., Liskova-Kiar, M. & Uhthoff, H.K. (1980). Effect of long-term immobilisation on the pattern of bone loss in older dogs. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, 62-b(1), ss. 104-10.
- Jergas, M., Uffmann, M., Escher, H., Glüer, C.C., Young, K.C., Grampp, S., Köster, O. & Genant, H.K. (1994). Interobserver variation in the detection of osteopenia by radiography and comparison with dual X-ray absorptiometry of the lumbar spine. *Skeletal Radiology*, 23(3), ss. 195-199.
- Jäger, I. & Fratzl, P. (2000). Mineralized collagen fibrils: a mechanical model with a staggered arrangement of mineral particles. *Biophysical Journal*, 79(4), ss. 1737-46.
- Kamioka, H., Honjo, T. & Takano-Yamamoto, T. (2001). A three-dimensional distribution of osteocyte processes revealed by the combination of confocal laser scanning microscopy and differential interference contrast microscopy. *Bone*, 28(2), ss. 145-9.
- Keller, G.G., Reed, A.L., Lattimer, J.C. & Corley, E.A. (1999). Hip dysplasia: a feline population study. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 40(5), ss. 460-4.
- Kimpe, T. & Tuytschaever, T. (2007). Increasing the number of gray shades in medical display systems--how much is enough? *Journal of Digital Imaging*, 20(4), ss. 422-432.
- Kovach, T.K., Dighe, A.S., Lobo, P.I. & Cui, Q. (2015). Interactions between MSCs and Immune Cells: Implications for Bone Healing. *Journal of Immunology Research*, 2015, s. 17.
- Lamba, R., McGahan, J.P., Corwin, M.T., Li, C.S., Tran, T., Seibert, J.A. & Boone, J.M. (2014). CT Hounsfield numbers of soft tissues on unenhanced abdominal CT scans: variability between two different manufacturers' MDCT scanners. *American Journal of Roentgenology*, 203(5), ss. 1013-20.
- Larson, M.J., Oakes, A.B., Epperson, E. & Chew, D.J. (2019). Medication-related osteonecrosis of the jaw after long-term bisphosphonate treatment in a cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), ss. 862-867.
- Lascelles, B.D. (2010). Feline degenerative joint disease. *Veterinary Surgery*, 39(1), ss. 2-13.
- Lascelles, B.D., Dong, Y.H., Marcellin-Little, D.J., Thomson, A., Wheeler, S. & Correa, M. (2012). Relationship of orthopedic examination, goniometric measurements, and radiographic signs of degenerative joint disease in cats. *BioMed Central Veterinary Research*, 8, s. 10.
- Lascelles, B.D., Henry, J.B., 3rd, Brown, J., Robertson, I., Sumrell, A.T., Simpson, W., Wheeler, S., Hansen, B.D., Zamprogno, H., Freire, M. & Pease, A. (2010). Cross-sectional study of the prevalence of radiographic degenerative joint disease in domesticated cats. *Veterinary Surgery*, 39(5), ss. 535-44.
- Lauten, S.D., Cox, N.R., Baker, G.H., Painter, D.J., Morrison, N.E. & Baker, H.J. (2000). Body composition of growing and adult cats as measured by use of dual energy X-ray absorptiometry. *Comparative Medicine*, 50(2), ss. 175-83.

- Leijon, A., Ley, C.J., Corin, A. & Ley, C. (2017). Cartilage lesions in feline stifle joints - Associations with articular mineralizations and implications for osteoarthritis. *Research in Veterinary Science*, 114, ss. 186-193.
- Lewin, E., Wang, W. & Olgaard, K. (1999). Rapid recovery of plasma ionized calcium after acute induction of hypocalcaemia in parathyroidectomized and nephrectomized rats. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, 14(3), ss. 604-9.
- Li, G., Yin, J., Gao, J., Cheng, T.S., Pavlos, N.J., Zhang, C. & Zheng, M.H. (2013). Subchondral bone in osteoarthritis: insight into risk factors and microstructural changes. *Arthritis Research & Therapy*, 15(6), s. 223.
- Lindskog, B.I. (2008). *Medicinsk terminologi*. 6:3 uppl. Stockholm: Norstedts Akademiska Förlag.
- Loeser, R.F., Goldring, S.R., Scanzello, C.R. & Goldring, M.B. (2012). Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ. *Arthritis & Rheumatism*, 64(6), ss. 1697-1707.
- Loi, F., Córdova, L.A., Pajarinen, J., Lin, T.-h., Yao, Z. & Goodman, S.B. (2016). Inflammation, fracture and bone repair. *Bone*, 86, ss. 119-130.
- Low, M., Eksell, P., Högström, K., Olsson, U., Audell, L. & Ohlsson, Å. (2019). Demography, heritability and genetic correlation of feline hip dysplasia and response to selection in a health screening programme. *Scientific Reports*, 9(1), s. 17164.
- Manke (2011). Anatomy and physiology of animals Haversian system compact bone. *Wikimedia Commons*. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=13673746>: File Upload Bot (Magnus Manke) [https://commons.wikimedia.org/wiki/User:File\\_Upload\\_Bot](https://commons.wikimedia.org/wiki/User:File_Upload_Bot), s. Licens under CC BY 3.0. [2019-10-17]
- Manolagas, S.C. (2000). Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocrine Reviews*, 21(2), ss. 115-37.
- Marino, C.L., Lascelles, B.D., Vaden, S.L., Gruen, M.E. & Marks, S.L. (2014). Prevalence and classification of chronic kidney disease in cats randomly selected from four age groups and in cats recruited for degenerative joint disease studies. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16(6), ss. 465-72.
- Markel, M.D., Sielman, E. & Bodganske, J.J. (1994). Densitometric properties of long bones in dogs, as determined by use of dual-energy x-ray absorptiometry. *American Journal of Veterinary Research*, 55(12), ss. 1750-6.
- Marks, S.C., Jr. & Walker, D.G. (1981). The hematogenous origin of osteoclasts: experimental evidence from osteopetrotic (microphthalmic) mice treated with spleen cells from beige mouse donors. *The American Journal of Anatomy*, 161(1), ss. 1-10.
- Mazonakis, M. & Damilakis, J. (2016). Computed tomography: What and how does it measure? *European Journal of Radiology*, 85(8), ss. 1499-504.
- Njeh, C.F. & Boivin, C.M. (1998). Variation in bone mineral density between different anatomical sites in a normal local population. *Applied Radiation and Isotopes*, 49(5-6), ss. 685-6.
- Nordholm, A., Mace, M.L., Gravesen, E., Olgaard, K. & Lewin, E. (2015). A potential kidney - bone axis involved in the rapid minute-to-minute regulation of plasma Ca<sup>2+</sup>. *BioMed Central Nephrology*, 16(1), s. 29.
- Omoumi, P., Babel, H., Jolles, B.M. & Favre, J. (2019). Relationships between cartilage thickness and subchondral bone mineral density in non-osteoarthritic and severely osteoarthritic knees: In vivo concomitant 3D analysis using CT arthrography. *Osteoarthritis Cartilage*, 27(4), ss. 621-629.
- Pocock, N.A., Noakes, K.A., Majerovic, Y. & Griffiths, M.R. (1997). Magnification error of femoral geometry using fan beam densitometers. *Calcified Tissue International*, 60(1), ss. 8-10.

- Preston, T., Glyde, M., Hosgood, G. & Snow, L. (2015). Morphometric description of the feline radius and ulna generated from computed tomography. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(12), ss. 991-999.
- Raggatt, L.J. & Partridge, N.C. (2010). Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(33), ss. 25103-25108.
- Rai, H. & Nair, T.R. (2010). Gradient based seeded region grow method for CT angiographic image segmentation. *International Journal of Research and Industry - Computer Science and Networking*, 1.
- Ramsey, I. (2017). *BSAVA Small Animal Formulary - Part A: Canine and Feline*. 9. uppl. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Robling, A.G., Castillo, A.B. & Turner, C.H. (2006). Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 8(1), ss. 455-498.
- Robling, A.G., Hinant, F.M., Burr, D.B. & Turner, C.H. (2002). Improved bone structure and strength after long-term mechanical loading is greatest if loading is separated into short bouts. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(8), ss. 1545-54.
- Ross, M.H. & Pawlina, W. (2011). Bone. I: Pawlina, W. (red.) *Histology - A Text and Atlas*. 6. uppl. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, ss. 218-253.
- Ross, S.J., Polzin, D.J. & Osborne, C.A. (2006). Chapter 42 - Clinical progression of early chronic renal failure and implications for management. I: August, J.R. (red.) *Consultations in Feline Internal Medicine (Fifth Edition)*. Saint Louis: W.B. Saunders, ss. 389-398. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0721604234500457>.
- Ruff, C., Holt, B. & Trinkaus, E. (2006). Who's afraid of the big bad Wolff?: "Wolff's law" and bone functional adaptation. *American Journal of Physical Anthropology*, 129(4), ss. 484-498.
- Ruffing, J.A., Cosman, F., Zion, M., Tendy, S., Garrett, P., Lindsay, R. & Nieves, J.W. (2006). Determinants of bone mass and bone size in a large cohort of physically active young adult men. *Nutrition & Metabolism*, 3(1), s. 14.
- Ryan, J.M., Lascelles, B.D., Benito, J., Hash, J., Smith, S.H., Bennett, D., Argyle, D.J. & Clements, D.N. (2013). Histological and molecular characterisation of feline humeral condylar osteoarthritis. *BioMed Central Veterinary Research*, 9, s. 110.
- Saunders, J. & Ohlerth, S. (2011). CT physics and instrumentation - mechanical design. I: Schwartz, T. & Saunders, J. (red.) *Veterinary Computed Tomography*. Chichester: Wiley-Blackwell, ss. 1-8.
- Saunders, J. & Schwartz, T. (2011). Principles of CT image interpretation. I: Saunders, J. & Schwartz, T. (red.) *Veterinary Computed Tomography*. Chichester: Wiley-Blackwell, ss. 29-37.
- Schaffler, M.B., Cheung, W.Y., Majeska, R. & Kennedy, O. (2014). Osteocytes: master orchestrators of bone. *Calcified Tissue International*, 94(1), ss. 5-24.
- Schreiber, J.J., Anderson, P.A. & Hsu, W.K. (2014). Use of computed tomography for assessing bone mineral density. *Neurosurgical Focus*, 37(1), s. E4.
- Schwartz, T. (2011a). Artifacts in CT. I: Schwartz, T. & Saunders, J. (red.) *Veterinary Computed Tomography*. Chichester: Wiley-Blackwell, ss. 35-55.
- Schwartz, T. (2011b). CT acquisition principles. I: Schwartz, T. & O'Brien, R. (red.) *Veterinary Computed Tomography*. Chichester: Wiley-Blackwell, ss. 9-27.
- Segev, G., Meltzer, H. & Shipov, A. (2016). Does secondary renal osteopathy exist in companion animals? *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 46(6), ss. 1151-62.
- Segovia-Silvestre, T., Neutzsky-Wulff, A.V., Sorensen, M.G., Christiansen, C., Bollerslev, J., Karsdal, M.A. & Henriksen, K. (2009). Advances in osteoclast biology resulting from the study of osteopetrotic mutations. *Human Genetics*, 124(6), ss. 561-77.

- Seibert, J.A. & Boone, J.M. (2005). X-ray imaging physics for nuclear medicine technologists. Part 2: X-ray interactions and image formation. *Journal of Nuclear Medicine Technology*, 33(1), ss. 3-18.
- Shipov, A., Segev, G., Meltzer, H., Milrad, M., Brenner, O., Atkins, A. & Shahar, R. (2014). The effect of naturally occurring chronic kidney disease on the micro-structural and mechanical properties of bone. *The Public Library of Science One*, 9(10), s. e110057.
- Sivewright, G.J. & Elliott, P.J. (1994). Interactive region and volume growing for segmenting volumes in MR and CT images. *Medical Informatics*, 19(1), ss. 71-80.
- Sjaastad, O.V., Sand, O. & Hove, K. (2012). Bone tissue and mineral metabolism. I: Sjaastad, O.V., Sand, O. & Hove, K. (red.) *Physiology of Domestic Animals*. 2. uppl. Norge: Scandinavian Veterinary Press, ss. 259-278.
- Slingerland, L.I., Hazewinkel, H.A., Meij, B.P., Picavet, P. & Voorhout, G. (2011). Cross-sectional study of the prevalence and clinical features of osteoarthritis in 100 cats. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 187(3), ss. 304-9.
- Solis-Chavez, S.A., Castillo-Rivera, M.A., Arteaga-Silva, M., Ibanez-Contreras, A., Hernandez-Godinez, B., Moron-Mendoza, A., Mendoza-Cuevas, G., Morales-Guadarrama, A. & Sacristan-Rock, E. (2018). Computed tomography is a feasible method for quantifying bone density in *Macaca mulatta*. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 59(5), ss. 545-550.
- Stewart, H.L. & Kawcak, C.E. (2018). The importance of subchondral bone in the pathophysiology of osteoarthritis. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, ss. 178-178.
- Tassani, S., Öhman, C., Baruffaldi, F., Baleani, M. & Viceconti, M. (2011). Volume to density relation in adult human bone tissue. *Journal of Biomechanics*, 44(1), ss. 103-108.
- Thambyah, A. & Broom, N. (2009). On new bone formation in the pre-osteoarthritic joint. *Osteoarthritis and Cartilage*, 17(4), ss. 456-63.
- Thrall, D.E. & Widmer, W.R. (2012). Radiation protection and physics of diagnostic radiology. I: Thrall, D.E. (red.) *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology*. Missouri: Elsevier, ss. 2-22.
- Uthoff, H.K. & Jaworski, Z.F. (1978). Bone loss in response to long-term immobilisation. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, 60-b(3), ss. 420-9.
- Walsh, D.A., Bonnet, C.S., Turner, E.L., Wilson, D., Situ, M. & McWilliams, D.F. (2007). Angiogenesis in the synovium and at the osteochondral junction in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15(7), ss. 743-51.
- van der Kraan, P.M. & van den Berg, W.B. (2007). Osteophytes: relevance and biology. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15(3), ss. 237-44.
- Wang, W., Lewin, E. & Olgaard, K. (1999a). 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> only affects long-term levels of plasma Ca<sup>2+</sup> but not the rapid minute-to-minute plasma Ca<sup>2+</sup> homeostasis in the rat. *Steroids*, 64(10), ss. 726-34.
- Wang, W., Lewin, E. & Olgaard, K. (1999b). Parathyroid hormone is not a key hormone in the rapid minute-to-minute regulation of plasma Ca<sup>2+</sup> homeostasis in rats. *European Journal of Clinical Investigation*, 29(4), ss. 309-20.
- Wang, W., Lewin, E. & Olgaard, K. (2002). Role of calcitonin in the rapid minute-to-minute regulation of plasma Ca<sup>2+</sup> homeostasis in the rat. *European Journal of Clinical Investigation*, 32(9), ss. 674-81.
- Wang, Y., Wluka, A.E., Pelletier, J.P., Martel-Pelletier, J., Abram, F., Ding, C. & Cicuttini, F.M. (2010). Meniscal extrusion predicts increases in subchondral bone marrow lesions and bone cysts and expansion of subchondral bone in osteoarthritic knees. *Rheumatology (Oxford, England)*, 49(5), ss. 997-1004.

- Warden, S.J., Hurst, J.A., Sanders, M.S., Turner, C.H., Burr, D.B. & Li, J. (2005). Bone adaptation to a mechanical loading program significantly increases skeletal fatigue resistance. *Journal of Bone and Mineral Research*, 20(5), ss. 809-16.
- Wei, Y. & Bai, L. (2016). Recent advances in the understanding of molecular mechanisms of cartilage degeneration, synovitis and subchondral bone changes in osteoarthritis. *Connective Tissue Research*, 57(4), ss. 245-261.
- WHO Scientific Group on the Prevention and Management of Osteoporosis (2000 : Geneva, Switzerland). (2003). Prevention and management of osteoporosis : report of a WHO scientific group. World Health Organization. *World Health Organization Technical Report Series*, 921, ss. 1-164, back cover.
- Voss, K., Karli, P., Montavon, P.M. & Geyer, H. (2017). Association of mineralisations in the stifle joint of domestic cats with degenerative joint disease and cranial cruciate ligament pathology. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(1), ss. 27-35.
- Yusup, A., Kaneko, H., Liu, L., Ning, L., Sadatsuki, R., Hada, S., Kamagata, K., Kinoshita, M., Futami, I., Shimura, Y., Tsuchiya, M., Saita, Y., Takazawa, Y., Ikeda, H., Aoki, S., Kaneko, K. & Ishijima, M. (2015). Bone marrow lesions, subchondral bone cysts and subchondral bone attrition are associated with histological synovitis in patients with end-stage knee osteoarthritis: a cross-sectional study. *Osteoarthritis and Cartilage*, 23(11), ss. 1858-64.
- Zidan, A., Abdelfatah, M., Fouad, A., Hassanien, A.E. & Hefny, H. (2015). Enhanced region growing segmentation for CT liver images I: Gaber T., Hassanien A., El-Bendary N., Dey N. (red). *The 1st International Conference on Advanced Intelligent System and Informatics (AISI2015), November 28-30, 2015, Beni Suef, Egypt. Advances in Intelligent Systems and Computing, vol 407*. Cham: Springer, ss. 115-127.