

Review

Neurological and behavioural impact of IUGR in piglets (*Sus Scrofa*)

F. de Zeeuw – Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University

Student: Florina de Zeeuw
Registration number: 3260348
Subject: Research master
Date: July, 2011
Specialisation: Landbouwhuisdieren en Veterinaire Volksgezondheid
Mentor: Dr. Wikke Kuller, Utrecht University
Location: Faculty of Veterinary Science, Utrecht University

Neurological and behavioural impact of IUGR in piglets (*Sus Scrofa*)

F. de Zeeuw – Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University

Abstract

Intra uterine growth retardation is a common problem in human and in the pig industry. IUGR can be caused by maternal, foetal, placental, environmental and other medical complications. An important possible treatment of IUGR is allopurinol, which can have the positive protective and neuromodulatory role in reperfusion injury or the negative way of switching off the mechanism of the foetus to save the brain. For a better understanding of IUGR, the anatomy and functions of the brains and the expression of it in behaviour can be studied and tested in several ways. It would however be useful to diagnose IUGR before the damage already is created. The pig could be used as a model for IUGR in humans, because in both species IUGR causes often similar problems and a lot of similarities can be found between both species (e.g. brain development). Pregnancy diagnosis, foetal movements and foetal heart rates are already studied well in pigs with the use of the ultrasound technique. The first step forward in IUGR research in pigs as a model for humans will be the determination of the most suitable parameters (o.a. humerus length, femur length, BPD, cross section of the orbit, height of the thorax and cross section of the heart) and references for normal intra uterine growth in pigs.

Contents

1. Introduction	5.1.3. Foetal movements
2. IUGR general	5.1.4. Foetal heart rate
2.1. What is IUGR?	5.2. Birth weight
2.2. Classification	5.3. Treatment
2.3. Symmetric vs asymmetric	5.3.1. Allopurinol
2.4. Causes	5.3.1.1. Positive mechanism
3. IUGR in the pig - implications	5.3.1.2. Negative mechanism
3.1. Intro	6. Conclusion
3.2. Neurology	7. Acknowledgements
3.2.1. Implications	8. References
3.2.2. Measurements	
3.3. Behaviour	
3.3.1. Implications	
3.3.2. Measurements	
3.3.2.1. Criteria for behavioural research	
3.3.2.2. Behavioural tests	
3.4. Prenatal and post-partum measurements	
4. The pig as a model – other model species knowledge	
4.1. General	
4.2. Similarities – general	
4.2.1. anatomy brain	
4.2.2. behaviour	
4.3. Extrapolation to other species	
5. Detection of IUGR and treatment	
5.1. Ultrasound	
5.1.1. Pregnancy diagnosis	
5.1.2. Foetal measurements skeleton	

1. Introduction

Intra uterine growth retardation (IUGR) is a pathological reduction in an expected genetically determined pattern of foetal growth that leads to attenuation of the foetal growth potential due to an insult that has occurred in utero, which often leads to a small for gestational birth. (1,2)

In the pig industry worldwide the effects of IUGR are of major interest from both an economical and welfare point of view. (3,4). Economically, increasing reproductive efficiency and the financial income in pig production by reducing non-productive days per sow per year, is important. (5,6) Decreased neonatal viability of newborn piglets, decreased growth and a higher rate of perinatal mortality during delivery and during the first days after birth is not desired. (3,7) In this review especially the impact of IUGR on the neurology and behaviour are of major interest. Not because this is only important in the pig industry, but because it also is in human.

Intrauterine growth retardation (IUGR) has already given many problems in human. (1,7,8) According to a reference of Moxon-Lester et al . IUGR is the second cause of perinatal death after prematurity and can complicate up to 4-6% of all pregnancies. (9) IUGR can cause brain damage, which for example causes behavioural problems and difficulties for learning. (10) This leads to higher mortality rates and increased prevalence of motor-, cognitive, and affective disabilities in human children born with IUGR. (1,9-11) Various human studies have shown that individuals born with underweight or born light receive a risk factor for cognitive deficits, learning problems, spatial orientation difficulties, attention problems, depression, reduced brain volume, and reduced academic achievement & professional attainment later in life. (10)

Piglets are already widely used as animal models in studies of IUGR (7) Similarities between pigs and humans were already emphasised many years ago and runt piglets seem to be a suitable model for newborn IUGR infants. (12)

This review will focus on IUGR in general and specifically on information about the brain and behaviour of the piglet. An explanation of the pig as an animal model will be given and finally the detection of IUGR piglets via ultrasound will be discussed. The aim of this report finally is to find the first step forward in IUGR research by determination of the most suitable parameters for intra uterine growth in pigs (o.a. humerus length, femur length, BPD, cross section of the orbit, height of the thorax and cross section of the heart). In this way it might be possible to diagnose IUGR earlier and maybe save foetuses from being born with IUGR in the future.

2. IUGR general

2.1 What is IUGR?

Intra uterine growth retardation (IUGR) is a pathological reduction in an expected genetically determined pattern of foetal growth that leads to attenuation of the foetal growth potential due to an insult that has occurred in utero, which often leads to a small for gestational birth. (1,2) A IUGR piglet, a 'runt' piglet, has been recognised as the smallest of the litter and often 1/3 of the weight of their siblings. (see fig. 1) They have undergone a full gestation, but show intra uterine growth retardation. From the outside they show abnormalities in conformation, particularly organ weight ratios, and clinically they have a somewhat characteristic skinny appearance and rounded head. Differences in brain development between runts and normal littermates have been demonstrated years ago (12) and still brain research is done in those animals. (see part 3.2)

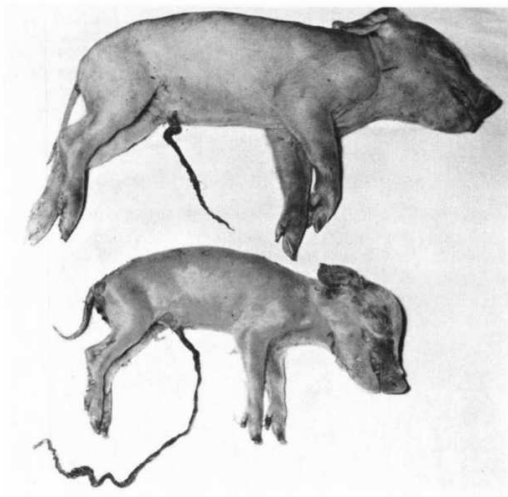


Fig. 1 Normal and 'runt' piglet from same litter, both born at term (114 days). (12)



Fig. 2 Normal and 'runt' piglet. (13)

IUGR can increase a perinatal susceptibility to a lowered oxygen percentage in blood and tissue (hypoxia), a diminution of the base exes and bicarbonate (HCO_3^-) and accumulation of substances, like carbon dioxide (CO_2) and lactat acid (lactate). In blood several changes are known by the sour-base balance (Ph, BE, HCO_3^- , pCO_2 , lactate). The overall effect is a mild to severe diminution of the pH (acidosis) in blood and cells, followed by the arise of cell- and tissue damage. (3) Because of the disturbance of gas exchange between sow and unborn piglet during late gestation the piglets are hypoxic, hypoglycaemic and acidotic. Uterine contractions can also affect and thus increase the risk of intrapartum hypoxia and subsequent dangerous brain injury. (3,11)

The retardation of foetal growth late in gestation following intrauterine malnutrition can be seen as a compensatory process, which enables the foetus to survive. Reduction of substrate consumption sometimes makes it possible to prevent for a life-threatening imbalance between nutritional supply and demand. The period of suitable compensation is characterized by reduced growth due to restricted nutrient availability, but widely compensated placental respiratory function. This reflects a functional state in which the foetus is able to alter organ maturation including brain function (3,11)

It is interesting to see that IUGR newborns are more capable of protecting some brain regions against hypoperfusion during hypotensive periods than normal weight neonates. They possess an improved ability to withstand critical periods of gradual oxygen deficit which is shown by improved cerebrovascular autoregulation during hemorrhagic hypotension. (11,14)

2.2 Classification

Without explanation of the terminology that is used in this review, it is harder to understand what exactly the meaning is of some words. For example intrauterine growth retardation or foetal growth restriction (IUGR, FGR) and small for gestational age (SGA) are related terms, but are not synonymous. In table 1 those terms are summed up, according to several authors.

2.3 Symmetric vs asymmetric

According to human research IUGR can be split up in 'symmetric' and 'asymmetric'. Symmetric means 'a proportionate decrease in length, weight, and head size for gestational age that generally occurs early in gestation'. Asymmetric IUGR means that 'the length and weight are decreased for gestational age but there is head sparing such that foetal head circumference is appropriate for gestational age'. (1) IUGR associated with utero-placental insufficiency is typically asymmetric where foetal brain growth is spared relative to other organs such as the liver. (see part 3.2.1) Asymmetric IUGR happens in a spontaneous matter in large litters of piglets, and has been well characterised before as an animal model of IUGR through gravimetric and biochemical studies.(9) (see also part 4) Now knowing what IUGR is and which forms exist, the focus can be pointed to the causes of IUGR.

2.4 Causes

Uteroplacental insufficiency is seen as the main cause (80-90% of all cases) of asymmetrical IUGR in pigs, whereby the impairment of uteroplacental blood flow limits the supply of oxygen and nutrients tot the foetus (9,11,18). This is not the only cause or risk factor of IUGR. (see table 2)

Table 1 IUGR related terminology

Terminology	Abbreviation	Explanation (citations)	Species	Author
Intra Uterine Growth Retardation or Foetal Growth Restriction	IUGR, FGR	'IUGR is a pathological reduction in an expected pattern of foetal growth that leads to attenuation of foetal growth potential due to an insult that has occurred in utero.'	Human	(1)
		'IUGR hinders the foetus from achieving its genetically determined growth potential and often results in the loss of small for gestational age offspring either during gestation or postnatally.'	Pig	(2)
Small for Gestational Age	SGA	'SGA: an infant with a birth weight lower than a predetermined cut off value according to standard curves, referring to the weight of the infant at birth and not to the growth pattern. SGA may reflect a normal pattern in a given population.' 'Those with births weights two standard deviations (>3%) below the mean for gestational age. There were also suggestions for the use of 10 th , 5 th and 15 th percentile as a cut off. Use of the 10 th percentile means that the foetus weights less than 90 percent of all other foetuses of the same gestational age.'	Human	(1,15)
		'SGA infants have undergone the full gestation period but their development in utero has been retarded. They are usually defined as being more than 2 standard deviations below the expected weight for gestational age.'	Human	(12)
Low Birth Weight (premature/dysmature)	LBW	'A weight well below the range of most of the litter: 0.80–1.10 kg (heavy birth weight: 1.75–2.05 kg)'	Pig	(16)
		'weight at term <2500 g (normal birth weight is 2500 to 4000 g)'	Human	(12,17)

Understanding the etiology is the first step towards prevention, so the treatment is the following important part of IUGR.

3. IUGR in the pig – implications

3.1 Intro

The impact of IUGR can be noticed in brain anatomy and function. This will be expressed in behaviour when the piglets are born. In both ways certain things can be noticed to understand and to see what the impact of IUGR is to the neurological system. In different possible sorts of test this impact could be found.

3.2 Brains

3.2.1. Implications

Qua anatomy in IUGR studies it is most logic to look at the sizes of the different organs, and especially the ratios between them. Several ratios are mentioned, like brain-to-liver(4,20-22), Head-to-body (21), brain-to-lung (21), brain-to-heart (21), brain-to-pancreas, -skeletal muscle and -fatty tissue (18) and brain-to-kidney (4), which can give an indication of the immaturity of the piglet. The higher the ratio, the more immature the piglet. (21) This shows the phenomenon of 'brain sparing', namely disproportionate growth of the brain in relation to

other foetal organs. The phenomenon '*brain sparing*' means that most of the nutrition and oxygen is used by the brain and there's not enough left for the other foetal organs. As already explained, the slow-down of foetal growth late in gestation following intrauterine malnutrition can be regarded primarily as a compensatory process. (18) (see also part 2.1)

Table 2 Causes and risk factors for IUGR in human

Category	Causes/risk factors
Maternal	Inadequate or severe malnutrition Chronic maternal diseases Birth order Parental genetic factors Low pregnancy body mass index Low maternal weight gain Delivery at age <16 or >35 years Low socio-economic status Drug use Smoking Alcohol Illicit drugs
Foetal	Multiple births Malformation Chromosomal anomalies Inborn errors of metabolism Intrauterine infections
Placental pathology	Placenta vascular damage that may lead to placental insufficiency Reduced blood flow Reduced area for exchange Infarcts Haematomas Partial abruption
Environmental	High altitude Toxic substances
Medical complications	Pre-eclampsia Acute or chronic hypertension Antepartum haemorrhage Severe chronic disease Severe chronic infections Systemic lupus erythematosus Antiphospholipid syndrome Anaemia Malignancy Abnormalities of the uterus Uterine fibroids

(1,3,11,19)

According to Wang et al. a theory of 'foetal origins of adult disease' exists, whereby changes in functions are mentioned. Alterations in foetal nutrition and endocrine status may result in developmental adaptations that permanently change the structure, physiology, and metabolism of the offspring, thereby predisposing individuals to metabolic, endocrine, and cardiovascular diseases in adult life. (7)

3.2.2. Measurements

More information is found about brain functions in human research than it is in pig research. Recently Biswal et al used resting-state functional MRI (R-fMRI) for questioning the great number of functional systems in the brain. Imaging the brain gives detailed maps of complex neural systems. They demonstrated a universal architecture of positive and negative functional connections as well as consistent loci of inter-individual variability. Age and sex appear as significant determinants. The results demonstrate that independent R-fMRI

datasets can be aggregated and shared. High-throughput R-fMRI can provide quantitative phenotypes for molecular genetic studies and biomarkers of developmental and pathological processes in the brain. (23) Because of the similarities between the human brain and the pig brain, which will be explained later on, it could be possible that the brains of the pig react the same way as human brains do and maybe such a technique could be useful in research of IUGR in piglets. And not only this technique could be useful. (see table 3) In pigs a lot of other techniques were already used to describe the anatomy of the porcine brain. (8,24) Maybe not all of those measurements are useful for IUGR research, but it always is important to firstly weight the invasiveness of the technique against the results. One can think of the use of narcosis in MRI measurements and the death of animals for histology or pathology research.

Table 3 techniques used for description of the anatomy of the porcine brain

Anatomic structure	Technique applied
Telencephalon <i>Cerebral cortex</i> Gross morphology of the cerebral cortex Sulci and gyri patterns Neocortex Prefrontal cortex Occipital cortex Auditory temporal cortex Somatosensory cortices Motor cortex Allocortex <i>Hippocampus</i> <i>Basal ganglia</i>	 Descriptive on basis of size and shape Descriptive on basis of size and shape Histology Histology, tracing Histology Functional mapping (fMRI) Evoked potential mapping Cytoarchitectonics Histology Functional mapping Functional mapping Quantitative, morphologic and cytoarchitectonic descriptions Morphology (dentate gyrus) Histochemistry Immunocytochemistry Stereology Immunohistochemistry PET receptor binding
Diencephalon <i>Thalamus, subthalamus and hypothalamic nuclei</i>	Histology Immunohistochemistry
Mesencephalon	Histology, Immunohistochemistry and immunocytochemistry
Brain stem <i>Raphe nucleus</i>	Immunohistochemistry
Cerebellum	Gross morphology (fissures) Histology Morphometry (comparative)
Topological atlases of the pig brain	Stereotaxic coordinates

(24)

3.3 Behaviour

3.3.1 Implications

The IUGR piglets can be observed after birth to find out if any neurological damage has been caused, which is visible in behaviour. First IUGR assessment was based on anatomic criteria, but in a study of Chevaux et al. a combination of morphological and behavioural criteria was made to reflect piglets immaturity at birth. Immature piglets exhibit typical behavioural criteria, like finding them usually isolated from the other piglets, lying on their side, having difficulties to suckle and they are usually found where the farmer left them

previously. (21) As already mentioned human individuals with IUGR may lag behind in their physical and mental development and it creates risk factors for cognitive deficits, learning problems, spatial orientation difficulties, attention problems, depression, reduced brain volume, and reduced academic achievement & professional attainment later in life. (10)

3.3.2 Measurements

3.3.2.1 Criteria for behavioural research

According to a review of Gieling et al. behavioural tests for pigs should be designed to fulfil a number of criteria, which are also important in tests possible in IUGR piglets:

1. the test should be able to be performed by healthy and weakened animals
2. detailed analysis of pig's behaviour (cognitive, sensory, motor or motivational components) should be allowed in the test
3. the test should be as stress-free as possible
4. ecologically relevant behaviours should preferentially be tapped in the test.
5. the test should be standardized in order to make it possible to make comparisons between studies within and across laboratories
6. the test should be automated in order to remove variability between observers, and to allow fine-tune analyses
7. investigation of developmental effects should be allowed in this test and should preferentially be suited for repeated testing in order to allow longitudinal studies
8. for capturing subtle differences in for example cognitive abilities, the test should be complex and sensitive enough

Some of those criteria will be more relevant than others, depending on the specific research questions and hypotheses tested. (8)

With the use of sensory capacities behaviour can be tested. If the capacities of the visual, olfactory, auditory and gustatory system are known, it is possible to accommodate the test to those specific functions. Pigs finally have to understand the test by using their natural behaviour.

3.3.2.2 Behavioural tests

Different sorts of test are designed for testing pigs behaviour and a review can be made of four main classes: operant conditioning (appetitive and aversive), spatial learning and memory tests (alley mazes and free-choice mazes), recognition tests (object recognition and social recognition) and prenatal and post-partum measurements. (8) Those test can be used in IUGR research to find out in which degree the brain is affected.

3.3.2.2.a. Operant conditioning

Operant conditioning or instrumental learning is 'when the response to a stimulus is followed by a reinforcer, the probability that the response will be made is increased.' It can be performed using positive (*appetitive*) or negative (*aversive*) reinforcers.

Examples of positive food reinforcers in appetitive tests could be pieces of apple, chocolate raisins, commercial pellets or milk replacers and positive non-food reinforcer could be a dry area (in case of a water maze) and heat.

An example of an aversive test is a test where 3- to 6-month-old pigs were trained in a one-way shock-motivated avoidance shuttle box task in which a telephone buzzer was used as auditory conditioning stimulus. When the buzzer went off, pigs could avoid a subtetanizing shock by moving from a darkened to an illuminated chamber. If the pig did not cross into the illuminated chamber before the unconditioning stimulus, they received an electric shock. The average level of shock avoidance was very high. (8)

An other example was described by Lind et al, whereby anxiety-related behaviour can be tested by the plus maze test, in which animals avoid the two open arms and retreats to the two covered arms. Variables related to anxiety can be separated from those related to activity. Factor analysis shows similar factor loadings in pigs to those of mice.(24)

3.3.2.2.b. Spatial learning and memory tests

In spatial learning an memory ability of animals different types of mazes can be used, 'alley mazes' and 'free-choice' mazes.

An alley maze consist of a fixed starting position and one correct route to a fixed goal position, where incorrect alternatives such as visits to blind alleys of going back must be avoided.

In a free-choice maze the animal can find rewards in different places and it is free to visit and revisit baited places and unbaited alternatives, in whatever order it wishes. Once an animal had visited a place and consumed the food pellet, its revisits to the same location remain reinforced. Efficient behaviour is therefore when a pig only visits the baited locations once and in this way can be tested how well a pig's memory works. (8)

3.3.2.2.c. Recognition tests

In a recognition test a subdivision can be made into the recognition of objects or social recognition.

In the *object recognition test* the pigs are exposed to a known and/or novel object and thereby their behaviour can be observed. (8) Different sorts of test can be done, like the 'open field test' and the 'novel object test'.

In an open field test, the locomotor activity and specific behaviours can be estimated during a fixed interval after introduction of the animal to an enclosed arena. It seems that the response of pigs is relatively stable when the test is performed a limited number of times. Different factors can be analysed, like emotional reactivity, exploratory locomotion, and non-exploratory locomotion. Compared to rodents pigs are not disposed towards central avoidance of the open field, which rodents normally do and female pigs show more fear than male pigs in an unfamiliar open arena, which is reversed in rodents. Behaviour can be influenced by housing conditions, previous handling of the animals and intermittent stress. Using a digital video tracking system locomotor behaviour can be assessed automatically. (24)

In a novel object test behaviour is recorded after introduction of a novel object to the testing arena. Through this test it is possible to make an assessment of the behavioural response to novelty exploration. It depends on prior experiences with novel objects and the inter-trial interval, if the response to the novel object is relatively stable over an extended period of time. In comparison to the open field test intermittent stress does not modify behaviour. (24)

Litten et al. (25) used this test to conclude that growth in utero can have a detrimental effect on the physical and behavioural development of the neonate. Animals with an enhanced developmental index in conjunction with a higher dominance value exhibited a improved neonatal growth performance. In the abstract was described how this test was performed. 'To assess behavioural development, each litter was exposed to a ball placed in the creep area for a period of 1,800 s, and evaluated once over a 3-day period starting on either 5, 7, 14 or 21 days of postnatal life. Their response to, and interaction with, an object was used to calculate a numerical index of piglet behavioural development. The conclusion was that there was a significant relationship between birth weight, growth performance and behavioural development. Behavioural developmental index (BDI) significantly improved with age and was also influenced by the day on which the ball was introduced.' The principal finding of the present investigation demonstrates that compromised growth in utero can reduce the growth performance and behavioural development of the neonatal piglet, which is in agreement with other studies in humans. (25)

One way to test *social recognition* is that pigs are able to distinguish conspecifics by urine samples. An other way to test this is a test whereby a Y-maze was used with a familiar and an unfamiliar stimulus pig behind doors that allowed tactile, visual and olfactory contact or olfactory contact only. The conclusion was that pigs are able to discriminate between familiar and unfamiliar conspecifics. (8)

Lind et al described that social behaviour of pigs can be studied in a home pen (spontaneous behaviour, social confrontations of age-matched individuals) or in a specific testing situation, whereby different resident-intruder situations can be provoked in which the two test individuals differ substantially from one another in bodyweight. Attack latency has been demonstrated in a test as a good measure of individual pig aggressiveness. A novel method has recently been introduced, which presents the advantage of avoiding fighting during the habituation phase. (24)

3.4. Prenatal and post-partum measurements

An overview of prenatal and post-partum measurements is useful for linking the specific measurements to IUGR. (see table 4)

Table 4 : Measurements possible in IUGR

Subject	Measurements possible	IUGR – relation (possible)
Prenatal		
Blood gas values sow and foetus	Viability foetus and possible distorting effects allo infusion (3)	Higher plasma levels of the brain injury marker protein S-100B can be detected in blood in an IUGR foetus. S-100 protein (S-100) is a calcium-binding protein found predominantly in the cytosol of glial cells in all parts of the central nervous system (CNS). Three different subtypes, designated S-100A, S-100B, and S-100A0, are known. S-100B predominates in the brain. (26) S-100B in urine and/or blood have been reported as indicators of cerebral injury, severity of post-hypoxic-ischemic encephalopathy, and neurodevelopment outcome in preterm and term infants who suffered from birth asphyxia. With use of allopurinol the plasma levels of S-100B seem to be reduced. (3,27,27,28)
	Blood gas and acid base status: Sat Hb, Blood lactate concentration, troponin (29)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ The index of cardiac stress can be determined. (29) ▪ IUGR can increase a perinatal susceptibility to a lowered oxygen percentage in blood and tissue (hypoxia), a diminution of the base exes and bicarbonate (HCO_3^-) and accumulation of substances, like carbon dioxide (CO_2) and lactat acid (lactate). In blood several changes are known by the sour-base balance (Ph, BE, HCO_3^-, pCO_2, lactate). The overall effect is a mild to severe diminution of the pH (acidosis) in blood and cells, followed by the arise of cell- and tissue damage. (3)
Post partum		
Placenta	Weight	Abnormal placenta sizes can give an implication of the cause of IUGR.
	Vascularization	If the vascularization of the placenta is not well, the blood supply to the foetus will be reduced. The foetus can not have enough oxygen and the growth will be retarded. (30)
	Width and length	Abnormal placenta sizes can give an implication of the cause of IUGR.
	Number of areolae in the allantochorion and placenta	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Areolae (dome structures with specialized functions) are formed out of the chorionic epithelium, and absorb and transport secreted uterine gland-derived nutrients which are essential for the growing foetus. When a foetus do not receive enough nutrients, IUGR may occur. (2) ▪ Areola density and total number of areolae were the most important placental traits with respect to prenatal survival. Piglets with placentae having higher numbers of areolae at a greater density were more likely to survive to term. (31)
	Placental efficiency: piglet weight / placental weight	When the (bigger) size of the piglet is not in accordance with the (smaller) size of the placenta, the placenta can not supply for enough nutrients. (4,31)
Behaviour	Vitality (movement, breathing, colostrums uptake)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Immature piglets exhibit typical behavioural criteria, like finding them usually isolated from the other piglets, lying on their side, having difficulties to suckle (32) and they are usually found where the farmer left them previously. (21) ▪ Colostrums uptake IUGR piglets have a lower capacity to compete with heavier littermates for colostrums (4) ▪ latency to suckle is one of the most significant predictors of piglet survival (31) ▪ Birth order and litter size were significant factors affecting postnatal survivability. (31)
	Body weight (31) (24 h after birth, weight change over 24 h)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ with a higher birth weight were more likely to survive to term than those with a lower birth weight. ▪ birth weight was one of the most significant predictors of piglet survival ▪ Birth weight is an important factor when determining the ponderal index and body mass index. ▪ Birth weight is an easy manner to conclude if a piglet is born normal or with IUGR. (31) ▪ 0,80 to 1.10 kg is said to be a weight well below the range of most of the litter and 1,75 to 2,05 kg is categorised as heavy birth weight. (16)
	CRL (crown-rump length)	In combination with birth weight, the CRL of piglets give an indication of piglet survival. (31)
	PI (ponderal index): birth weight (kg)/(crown-rump length (m)) ³	The PI of piglets give an indication of piglet survival. (31)

	Measurements possible	IUGR – relation (possible)
	BMI: birth weight/(crown-rump length) ²	The BMI of piglets give an indication of piglet survival. (31)
	Gender	No significant effect of gender was seen, with respect to prenatal survival. (31)
	Rectal temperature (1h, 2h, 3h, 24h after birth)	IUGR piglets may lay isolated from the other piglets and therefore have a lower rectal temperature. (32) The thermoregulatory patterns displayed over the first 24 h by those piglets surviving and those dying during the neonatal period shows that despite large amounts of variation, lower rectal temperatures are maintained by the population of piglets dying postnatally compared to surviving piglets. And being born into the same environment, with the same ambient temperature, piglets dying postnatally had a much lower birth rectal temperature. (31)
	Neurobehavioral test: Rooting responds to an adapter potentiometer (piglet vigor)	Rooting response is one of the most significant predictors of piglet survival. (31)
	Glucose sample from abdominal vein (24 h after birth) and from umbilical cord (mix venous/arterial blood)	A small placenta results in low levels of glucose and fructose being supplied to the foetus, decreasing growth rates and having implications for birth weight, a factor widely thought of as the most important indicator of piglet survival. (31)
Pathology	Liver samples	Research of allopurinol biotransformation (3)
	Incubation of subcellular liver-fractions	Research of allopurinol biotransformation (3)
	Oxypurinol in subcellular liver fractions	Research of allopurinol biotransformation (3)
	Snap-frozen hearts	Research of allopurinol biotransformation, to measure pro- and antioxidant protein levels (western blot) (3)

4. The pig as a model – other model species knowledge

4.1 General

Generally the domestic pig is a commonly used animal model for human research (7-9,24) The experience with and knowledge of this species as an animal model are still limited, (8)but in a review by Lind et al. (2007) was said that the use of pigs in neuroscience research has increased in the past decade, which is positive (24) It even seems that pigs and minipigs have several advantageous characteristics, such as greater similarity to humans than rodents have. (8)

4.2 Similarities – general

Similarities between pigs and humans were already emphasised many years ago and runt piglets seem to be a suitable model for newborn asymmetric IUGR infants. Both are comparable in level of maturity at birth, have anatomical similarities, are both susceptible to hypothermia, have both ability to shiver, both have increased metabolic rates in the first few days after birth, and are both limited in thermal insulation. More similarities are found, like a growth spurt during the perinatal period, cardiovascular and central autonomic functions, energy metabolism and oxidative brain metabolism. (12) In a recent review of Gieling et al. was also mentioned that the organ size, body mass and physiology strongly look like those of humans. The immune system of pigs is more similar to that of humans than it is to the immune system of rodents, namely 80% of the compared variables between pigs and humans versus 10% between mice and humans. In addition, the sequence and chromosome structure homology in the pig genome show strong similarities with those of the human genome. (8)Especially the brains anatomy and behaviour are of main interest in this review of the impact of intra uterine growth retardation.

IUGR is occurring naturally in pigs and it is not always necessary to cause IUGR by the use of diathermy ablation of branches of the uterine artery or the preferred method uterine artery ligation (30) It is possible to cause a stronger superovulation by use of hormones. (33) Natural occurring things are always less invasive and the welfare of pigs are not decreased.

4.2.1 Anatomy brain

Qua anatomy, the pig brains show several similarities with the human brains. Pig brains have a large volume and extensive gyrfication, which may reflect allometric relationships with body mass. (24)The brain of an average adult pig weights up to 180 g and that of minipigs 70-80 g and the relative large brains make them suitable for different sorts of studies, like imaging studies (see part 3.2.2) (8,23,24)

Qua development it was found that pigs have a similar temporal brain development to the human, which can for example be useful in for assessment of perinatal hypoxic injury (9,24) .

Neurology is being expressed in forms of behaviour, and de similarities are discussed in the next part.

4.2.2. Behaviour

A relation between brain mechanism and psychological functions in human can be seen in the cognitive function. Rats, and also monkeys, traditionally have been the preferred species for behavioural brain research, because of the easy and more inexpensive way of housing of rodents, compared with larger species. (8) By the growing literature published about learning and memory studies in different pig breeds it can be concluded that pigs are really suitable for this research. Pigs can be as trainable as rodents (24) and may be a good non-primate, non-rodent species for biomedical research, for studying the effects of a wide range of clinical and behavioural stresses, for screening in vivo receptor profiles of drugs, and for verifying neurological syndromes. (8) And pigs seem to be relatively cheap compared with primates. Especially the minipig is suited for behavioural research because of its smaller size, which make handling easier and allows the scaling down of test equipment, compared with that used for the common domestic pig. But researchers should always be aware of the differences between the two types of pig, like difference in housing physiology and behaviour, when comparing data. (8)

4.3 Extrapolation to other species

Extrapolation to other species is not totally possible, because there are always found differences between them. But when enough similarities and advantages are found for the use of pigs, it is a real option to use them in IUGR research. Examples of differences between pigs and human are difference in birth weight and subsequent weight gains, the inability of the pig to sweat, the presence in pigs to have many siblings and contrasting body temperature and body fat content. (12)

5. Detection of IUGR and treatment

IUGR could be detected intra uterine by the use of ultrasound and by weighing the piglets after they are born. When the diagnosis of IUGR is made, possible treatments can be discussed.

5.1. Ultrasound

In IUGR it is important to measure the neonatal status of the piglet intrauterine. Ultrasound is a common used technique for finding the information which is important in different animals and human. (5,6)

Different kind of ultrasound can be used for several goals:

1. real time ultrasound (RTU)

The introduction of real-time ultrasonography has enabled direct and repeated observation of the foetus without disturbance of its natural environment (surgery, anaesthesia) (32) It produces a 2 dimensional real time image of the scanned tissues on a screen. A hand transducer that emits and receives the sound waves that penetrate the tissues produces the images. Differences in the density of tissues are displayed on the screen as a series of dots, in a 256-tones grey scale (from black to white). There are sector or linear transducers with different frequency ranges (3.5, 5.0, 6.0, 7.5, 8.0, and 10 MHz). (6)

2. A-mode ultrasound (Pregtone)

It converts the returning sound wave echo signal in an audible tone or a green light. A positive result for pregnancy diagnosis is obtained when the sound waves reflect a structure full of liquid, such as the uterus with foetal fluid, and the echo is converted into an audible tone. A-mode ultrasound can be performed by a non-veterinarian. A-mode ultrasound is inexpensive and easy to use, but they produce more false positive (urine bladder) and false negative diagnoses. (6)

3. B-mode ultrasound

B-mode ultrasound is an old fashioned technique to use, but pregnancy diagnosis were made by it several years ago. (6) In this method a linear array of transducers scans a plane through the body. This can be viewed in a two-dimensional image.

4. Doppler

The Doppler method allows identification of any liquid movement, such as blood flow in the middle uterine artery or umbilical arteries, and the foetal heart beat. It can be performed by a non-veterinarian. Doppler is also inexpensive and easy to use and also produce more false positive and false negative diagnoses (6)

5.1.1. *Pregnancy diagnosis*

One of the first things that can be measured by ultrasound is the diagnosis of the pregnancy itself. If an animal is not pregnant, the rest of the measurements in IUGR are not possible at all. That is why this subject is discussed at first. Large variation may exist in literature on the exact stage of pregnancy when an accurate diagnosis can be made. This can partly be attributed to differences in experimental design among studies. Specifically differences in type of scanner, the conditions of testing (experimental vs field conditions), the place of testing (transabdominal vs rectal), the housing conditions of the sow, the breed and body condition of the sows, the experience of the investigator, etc. (5)

It is important to know what the status of development is at different times of gestation.

Between day 18 and 21 of gestation, embryonic vesicles appear as very small, somewhat spherical dark spots, which correspond to the beginning of the period when allantoic fluid can be seen. Embryos can be seen from day 21 on and they appear as echogenic spots inside the vesicles, but they are generally located close to the vesicle walls. From day 30 the wall of the amnion can be seen and also the heart beat can be detected. At day 37, the limbs are identifiable. After ossification, the skeleton is easy to see. Foetal growth is significant and it is difficult to distinguish the limits between the foetus and the uterus in the images, but the main foetal organs can be seen. Seeing heartbeats makes it possible to determine whether the foetuses are alive or not. Foetal limb movements can be detected from day 40. (34)

Not all researchers come exactly to the same conclusion as to the days of pregnancy, and the conclusions were as following. According to Meas et al, using real time ultrasound, the first pregnancy could be detected already 18 days after insemination. But from day 23 of gestation pregnancy diagnosis in sows using transabdominal ultrasound testing is reliably and quickly possible. (5) With use of the old fashioned B-mode technique a diagnosis can be made (6) at day 21 - 63 days post-mating and to reconfirm pregnancy between 42 and 63 d post-mating. Using the Doppler or A-mode technique the pregnancy diagnosis can be reliably made from 28 – 30 days post-insemination. (5) And according to Williams et al. Doppler and A-mode can not be used before 30-35 days of gestation (6) But out of this can be concluded that the first pregnancy can be first detected about 20 days of gestation. In every pig the development of the piglets during gestation will be different.

5.1.2 *Foetal measurements skeleton*

If the growth of a foetus could be measured intra uterine, a diagnosis of IUGR could be made earlier than after birth. This is important, because then it is possible to interfere with medicine like allopurinol, to improve the blood flow of the placenta and thereby improve the growth of the foetus and maybe save the brain.

In other species than pigs already was determined which parameters are of main interest. In human the biparietal diameter (BPD), abdominal circumference, femur length and crown rump length can give a lot of information about the growth of the foetus. (1) And in captive Malayan Tapir also research was done to follow the foetal growth and to estimate the gestational age by measurements of foetal structures using ultrasound. Out of the ten measured parameters they found the BPD and crown rump length, abdominal diameter and abdominal height as the best predictors. (35)

In pigs it is not yet known which parameters can give a reliably representation of foetal age and growth, but at the moment research is done to establish suitable en reliable parameters for pigs. Different parameters are measured: humerus length, femur length, BPD, cross section of the orbit, height of the thorax and cross section of the heart. Those measurements are done between day 50 and 100 of gestation. Earlier the bones are not yet developed enough to clearly make a measurement and after 100 days it becomes crowded in the pig and it is more difficult to distinguish the piglets from each other.

5.1.3. Foetal movements

To determine if the foetus is still alive and healthy, one can study the foetal movements during the last three weeks of gestation. If a foetus is not moving as normal it can be suggested that something can be said about its health and growth.

Ultrasound was already used for measuring foetal movements in several species, such as the sheep, cow, horse, goat, guinea pig and especially human.

In a recent study in pigs of Cohen et al. repeated ultrasonographic observation of foetal movements was used to distinguish movement patterns and to investigate the rate of occurrence and temporal organisation in these patterns (rest-activity cycles) during the last three weeks of gestation. Foetal general movements (GM), isolated head (HM), forelimb movements (LM) and rotations (ROT) were analysed from video tapes. Towards parturition GM, HM and LM decreased and total foetal activity (all 4) decreased over the last three weeks of gestation, which was also found in sheep, cow, horse, rat, guinea-pig and man. Periods of foetal quiescence gradually increased with progressing gestation, which may account for the decrease in foetal activity during late gestation in the pig. There was no evidence of associations between the periods of rest and activity of GM, HM, and LM or of improved temporal linkage between these movement patterns with time. Foetal bodily activity decreases towards parturition mainly due to prolonged periods of rest. Foetal movement patterns show rest-activity cycles, but each pattern appears to cycle independently from other throughout late gestation. It might be important to mention that there was no additional information on other components of HM, like mouth and tongue movements, suckling and swallowing. HM and their components may have an adaptive function (sucking, drinking, massage of the udder in the first weeks of life) and this components might be measured in future studies. Foetal limb movements could be detected from day 40. (32,34)

5.1.4. Foetal heart rate

Measuring the foetal heart rate can be useful while following the growth of a foetus, because it is possible to distinguish each foetus separately.

It was already demonstrated that ultrasonographic scanning enables the repeated identification of the same individual foetal piglet in the last ten days of gestation, excluding the 24 hours before delivery. Firstly they identified the most caudal foetus intra uterine with real time ultrasonography and after that the heart rate was recorded for 60 minutes by Doppler cardiography. The same foetus was identified and monitored repeatedly and visual inspection and computerized analysis of the recordings were performed. But this method is also permitted for other goals, like longitudinal studies under pathophysiological conditions and the evaluation of the effects of endogenous and exogenous influences on porcine foetal heart rate. (36)

In the future it might be possible to really identify individual piglets for a longer period from day 60 of gestation. Is it not with use of measuring the foetal heart rate, it may be solved by some other technique like using chips.

5.2 Birth weight

According to Gondret et al. 0,80 to 1.10 kg is said to be a weight well below the range of most of the litter and 1,75 to 2,05 kg is categorised as heavy birth weight. (16) In other research the weight of piglets was also determined. (25)

5.3 Treatment

Research has been done to the influences of different ways to improve the utero-placental blood flow, like maternal nutrition (37) and medication. (3,27,28)

5.3.1. Allopurinol

A possible treatment is allopurinol (o.a. Acepurin®), which is originally used in treatments of gout. In human allopurinol is not (yet) registered for maternal administration in times of foetal asphyxia and brain damage, caused by free (pro-)radicals. (38)

5.3.1.1 Positive mechanism

There are two sides to look at the working mechanism of allopurinol. The positive mechanism will be explained first. Xanthine oxidoreductase (XOR) is a key enzyme in the development of reperfusion injury resulting from foetal asphyxia. Allopurinol is recognised as an inhibitor of XOR and has been studied widely for its protective and neuromodulatory role in reperfusion injury in various animal models, including newborn piglets.(3)

A recent study of Derks et al. aimed at maternal treatment of allopurinol in sheep after repeated episodes of ischemia-reperfusion. They tested if a clinical dose of allopurinol in the setting of foetal asphyxia would reduce oxidative stress in the foetal cardiovascular system. Concluded was that it helped maintain umbilical blood flow and it reduced foetal cardiac oxidative stress after ischemia-reperfusion of the type associated with clinically relevant acidemia and repetitive foetal heart rate decelerations. It may offer plausible clinical intervention in the management of in complicated labor. (29)

Van Dijk et al. demonstrated that allopurinol can cross the placental barrier in pigs. This is a priority for a result of pharmacologically active plasma concentrations in the foetus during the expulsive stage of farrowing. Earlier it was demonstrated that allopurinol was present in plasma of newborn piglets up to 24 u after birth. (3) Also in other species was found that allopurinol can cross the placental barrier. Research in lambs was done by Masoaka et al. to find out the transfer of allopurinol from mother to foetus. A good transfer of allopurinol in foetal lambs was demonstrated and they suggested the possibility of intrauterine treatment to inhibit foetal brain damage resulting from increased oxygen free radicals. (39) In human maternal allopurinol and its active metabolite oxypurinol crosses the placenta during foetal hypoxia as well. (27)

5.3.1.2. Negative mechanism

On the other hand the possible negative effect that allopurinol switches of the mechanism of the foetus to save the brain was suggested. Bauer et al. said that 'the slow-down of foetal growth late in gestation following intrauterine malnutrition can be regarded primarily as a compensatory process, which enables the foetus to survive and which, therefore, improves o.a. the reproduction rate.' (18) Not much is known about this subject and to come closer to the solution of this question further investigation of the implications of IUGR on the neurological system and behaviour will be necessary.

6. Conclusion

The conclusion is that intra uterine growth retardation is a common problem in human and in the pig industry. IUGR can be caused by maternal, foetal, placental, environmental and other medical complications. An important possible treatment of IUGR is allopurinol, which can have the positive protective and neuromodulatory role in reperfusion injury or the negative way of switching off the mechanism of the foetus to save the brain. For a better understanding of IUGR, the anatomy and functions of the brains and the expression of it in behaviour can be studied and tested in several ways. It would however be useful to diagnose IUGR before the damage already is created. The pig could be used as a model for IUGR in humans, because in both species IUGR causes often similar problems and a lot of similarities can be found between both species (e.g. brain development). Pregnancy diagnosis, foetal movements and foetal heart rates are already studied well in pigs with the use of the ultrasound technique. The first step forward in IUGR research in pigs as a model for humans will be the determination of the most suitable parameters (o.a. humerus length, femur length, BPD, cross section of the orbit, height of the thorax and cross section of the heart) and references for normal intra uterine growth in pigs.

7. Acknowledgements

The author thanks dr. Wikke Kuller for her enthusiastic mentoring and support during this research and the support in knowledge of Msc. Elise Gieling.

8. References

(1) Ergaz Z, Avgil M, Ornoy A. Intrauterine growth restriction-etiology and consequences: what do we know about the human situation and experimental animal models? *Reprod Toxicol* 2005 Sep-Oct;20(3):301-322.

- (2) Blomberg LA, Schreier LL, Guthrie HD, Sample GL, Vallet J, Caperna T, et al. The effect of intrauterine growth retardation on the expression of developmental factors in porcine placenta subsequent to the initiation of placentation. *Placenta* 2010 Jun;31(6):549-552.
- (3) Dijk v,A.J., Parvizi N, Taverne MA, Fink-Gremmels J. Placental transfer and pharmacokinetics of allopurinol in late pregnant sows and their fetuses. *J Vet Pharmacol Ther* 2008 Dec;31(6):489-495.
- (4) Da Silva-Buttkus P, van den Hurk R, te Velde ER, Taverne MA. Ovarian development in intrauterine growth-retarded and normally developed piglets originating from the same litter. *Reproduction* 2003 Aug;126(2):249-258.
- (5) Maes D, Dewulf J, Vanderhaeghe C, Claerebout K, de Kruif A. Accuracy of trans-abdominal ultrasound pregnancy diagnosis in sows using a linear or sector probe. *Reprod Domest Anim* 2006 Oct;41(5):438-443.
- (6) Williams SI, Pineyro P, de la Sota RL. Accuracy of pregnancy diagnosis in swine by ultrasonography. *Can Vet J* 2008 Mar;49(3):269-273.
- (7) Wang T, Huo YJ, Shi F, Xu RJ, Hutz RJ. Effects of intrauterine growth retardation on development of the gastrointestinal tract in neonatal pigs. *Biol Neonate* 2005;88(1):66-72.
- (8) Gieling ET, Nordquist RE, van der Staay FJ. Assessing learning and memory in pigs. *Anim Cogn* 2011 Mar;14(2):151-173.
- (9) Moxon-Lester L, Sinclair K, Burke C, Cowin GJ, Rose SE, Colditz P. Increased cerebral lactate during hypoxia may be neuroprotective in newborn piglets with intrauterine growth restriction. *Brain Res* 2007 Nov 7;1179:79-88.
- (10) E.T. Gieling, S.Y. Park, R.E. Nordquist, F.J. van der Staay. Performance of low- and normal birth weight piglets in a spatial holeboard discrimination task. 2011.
- (11) Bauer R, Walter B, Vollandt R, Zwiener U. Intrauterine growth restriction ameliorates the effects of gradual hemorrhagic hypotension on regional cerebral blood flow and brain oxygen uptake in newborn piglets. *Pediatr Res* 2004 Oct;56(4):639-646.
- (12) Cooper JE. The use of the pig as an animal model to study problems associated with low birthweight. *Lab Anim* 1975 Oct;9(4):329-336.
- (13) Home Grown Pigs - <http://www.homegrownpigs.co.uk/blog.html> 2011; . Accessed May, 11, 2011.
- (14) Bauer R, Walter B, Brandl U. Intrauterine growth restriction improves cerebral O2 utilization during hypercapnic hypoxia in newborn piglets. *J Physiol* 2007 Oct 15;584(Pt 2):693-704.
- (15) Jochems AAF, Joosten FWMG editors. *Zakwoordenboek der Geneeskunde - Coëlho*. 28th ed. Doetinchem: Elsevier Gezondheidszorg; 2006.
- (16) F. Gondret, L. Lefaucheur, I. Louveau, B. Lebret, X. Pichodo, Y. Le Cozler. Influence of piglet birth weight on postnatal growth performance, tissue lipogenic capacity and muscle histological traits at market weight. *Livestock Production Science* 2005;93(2):137-146.
- (17) Gardner JM, Walker SP, Powell CA, Grantham-McGregor S. A randomized controlled trial of a home-visiting intervention on cognition and behavior in term low birth weight infants. *J Pediatr* 2003 Nov;143(5):634-639.
- (18) Bauer R, Walter B, Brust P, Fuchtnr F, Zwiener U. Impact of asymmetric intrauterine growth restriction on organ function in newborn piglets. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003 Sep 22;110 Suppl 1:S40-9.

- (19) Bryan SM, Hindmarsh PC. Normal and abnormal fetal growth. *Horm Res* 2006;65 Suppl 3:19-27.
- (20) Bauer R, Walter B, Ihring W, Kluge H, Lampe V, Zwiener U. Altered renal function in growth-restricted newborn piglets. *Pediatr Nephrol* 2000 Aug;14(8-9):735-739.
- (21) IntraUterine Growth Retardation (IUGR): morphological and behavioral description. Proceedings of the 21th IPVS Congress; July 18-21; : Practitioner Line - Sow diseases, Oral presentations; 2010.
- (22) Town SC, Patterson JL, Pereira CZ, Gourley G, Foxcroft GR. Embryonic and fetal development in a commercial dam-line genotype. *Anim Reprod Sci* 2005 Feb;85(3-4):301-316.
- (23) Biswal BB, Mennes M, Zuo XN, Gohel S, Kelly C, Smith SM, et al. Toward discovery science of human brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010 Mar 9;107(10):4734-4739.
- (24) Lind NM, Moustgaard A, Jelsing J, Vajta G, Cumming P, Hansen AK. The use of pigs in neuroscience: modeling brain disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(5):728-751.
- (25) Litten JC, Drury PC, Corson AM, Lean IJ, Clarke L. The influence of piglet birth weight on physical and behavioural development in early life. *Biol Neonate* 2003;84(4):311-318.
- (26) Wiesmann M, Missler U, Gottmann D, Gehring S. Plasma S-100b protein concentration in healthy adults is age- and sex-independent. *Clin Chem* 1998 May;44(5):1056-1058.
- (27) Torrance HL, Benders MJ, Derks JB, Rademaker CM, Bos AF, Van Den Berg P, et al. Maternal allopurinol during fetal hypoxia lowers cord blood levels of the brain injury marker S-100B. *Pediatrics* 2009 Jul;124(1):350-357.
- (28) Kaandorp JJ, Benders MJ, Rademaker CM, Torrance HL, Oudijk MA, de Haan TR, et al. Antenatal allopurinol for reduction of birth asphyxia induced brain damage (ALLO-Trial); a randomized double blind placebo controlled multicenter study. *BMC Pregnancy Childbirth* 2010 Feb 18;10:8.
- (29) Derks JB, Oudijk MA, Torrance HL, Rademaker CM, Benders MJ, Rosen KG, et al. Allopurinol reduces oxidative stress in the ovine fetal cardiovascular system after repeated episodes of ischemia-reperfusion. *Pediatr Res* 2010 Nov;68(5):374-380.
- (30) Turner AJ, Trudinger BJ. A modification of the uterine artery restriction technique in the guinea pig fetus produces asymmetrical ultrasound growth. *Placenta* 2009 Mar;30(3):236-240.
- (31) Baxter EM, Jarvis S, D'Eath RB, Ross DW, Robson SK, Farish M, et al. Investigating the behavioural and physiological indicators of neonatal survival in pigs. *Theriogenology* 2008 Apr 1;69(6):773-783.
- (32) Cohen S, Mulder EJ, van Oord HA, Jonker FH, Parvizi N, van der Weijden GC, et al. Fetal movements during late gestation in the pig: a longitudinal ultrasonographic study. *Theriogenology* 2010 Jul 1;74(1):24-30.
- (33) van der Waaij EH, Hazeleger W, Soede NM, Laurensen BF, Kemp B. Effect of excessive, hormonally induced intrauterine crowding in the gilt on fetal development on day 40 of pregnancy. *J Anim Sci* 2010 Aug;88(8):2611-2619.
- (34) Martinat-Botté F., Renaud G., Madec F., Costiou P., Terqui M. editors. *Ultrasonography and reproduction in swine: principles and practical applications*. Paris: Intervet; 2000.
- (35) van Engeldorp Gastelaars Heleen. Endocrine profiles during the oestrous cycle and pregnancy, and ultrasonographic characterization of foetal development in captive Malayan tapirs (*Tapirus indicus*); 2010.

(36) Cohen S, Mulder EJ, van Oord HA, Jonker FH, van der Weijden GC, Taverne MA. Noninvasive monitoring of fetal heart rate during the last ten days of gestation in sows. *Am J Vet Res* 1997 Nov;58(11):1285-1290.

(37) Ferguson EM, Slevin J, Edwards SA, Hunter MG, Ashworth CJ. Effect of alterations in the quantity and composition of the pre-mating diet on embryo survival and foetal growth in the pig. *Anim Reprod Sci* 2006 Nov;96(1-2):89-103.

(38) Perinatologisch centrum Wilhelmina Kinderziekenhuis Utrecht. Investigator's brochure - ALLO-trial: Reduceert maternale allopurinol toediening tijdens perinatale foetale nood post-hypoxisch-ischaemische reperfusieschade bij de pasgeborene? 2009.

(39) Masaoka N, Nakajima Y, Hayakawa Y, Ohgame S, Hamano S, Nagaishi M, et al. Transplacental effects of allopurinol on suppression of oxygen free radical production in chronically instrumented fetal lamb brains during intermittent umbilical cord occlusion. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2005 Jul;18(1):1-7.

Artikel
Parameters foetale groei in varkens (Sus Scrofa)

F. de Zeeuw – Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht

Student: Florina de Zeeuw
Registratie nummer: 3260348
Vak: Master onderzoek
Datum: Juli 2011
Specialisatie: Landbouwhuisdieren en Veterinaire Volksgezondheid
Begeleider: Dr. Wikke Kuller, Universiteit Utrecht
Locaties: Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht
Proefaccomodatie 'de Tolakker', Universiteit Utrecht

Parameters foetale groei in varkens (Sus Scrofa)

Student:	Florina de Zeeuw
Registratie nummer:	3260348
Vak:	Master onderzoek
Datum:	Juli 2011
Specialisatie:	Landbouwhuisdieren en Veterinaire Volksgezondheid
Begeleider:	Dr. Wikke Kuller, Universiteit Utrecht
Locaties:	Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht Proefaccomodatie 'de Tolakker', Universiteit Utrecht

1. Samenvatting

Intra uterine groei vertraging (IUGR, Intra Uterine Growth Retardation) is een veel voorkomend probleem in de varkensindustrie en in de humane geneeskunde. Er is al bekendheid over IUGR in de zin van oorzaken en gevolgen, maar er is nog geen betrouwbare passende mogelijkheid tot behandeling om mogelijke schade te voorkomen. Allopurinol kan hierin misschien een oplossing geven, maar daarvoor is het vinden van passende parameters (referenties) in gezonde groei de eerste stap voorwaarts in IUGR onderzoek. Op die manier kan IUGR eerder gediagnosticeerd worden en wellicht kan in de toekomst voorkomen worden dat foetussen met IUGR geboren worden.

In dit onderzoek werden 6 ($n = 6$) drachtige zeugen (m.n. Fins Landras x York) met 4^e/5^e pariteit geselecteerd. De varkens werden 6 weken achtereen, 1 maal per week, transabdominaal gescand met behulp van echografie. Dit werd uitgevoerd op proefaccomodatie 'de Tolakker'. De beelden werden opgenomen en opgeslagen en konden zo vervolgens worden omgezet van mpg naar image sequences met behulp van Virtual Dub en geanalyseerd worden met behulp van ImageJ. Er werd gekeken naar de volgende parameters: humerus lengte, femur lengte, biparietaal diameter, oogkas diameter, thorax hoogte en hart doorsnede.

Uit dit onderzoek is gebleken dat er geschikte parameters bestaan om de intra uterine groei te volgen. Alle gemeten parameters, namelijk hart doorsnede, BPD, femur lengte, humerus lengte, oogkas diameter en thorax hoogte, lijken hier volgens de resultaten voor geschikt. Bij alle parameters is een lineaire groei te zien. Praktisch gezien is er een eerste voorkeur voor het meten van de BPD, femur lengte, humerus lengte en oogkas diameter, vanwege de kleine variatie en het feit dat ze makkelijk te herkennen zijn. Ze zijn goed duidelijk zichtbaar en zijn vaak goed te meten. Hierbij moet gezegd worden dat het vooral bij de humerus lengte van belang is de anatomische structuren, namelijk de humerus en de ulna, van elkaar te kunnen onderscheiden. De hart doorsnede en de thorax hoogte zijn ook geschikt wanneer de onderzoeker ervaring heeft in de echografie. Dan kunnen duidelijke beelden gevonden worden en is er goed duidelijk op welke plaats er gemeten moet worden. Er is daarnaast ook een verband tussen de femur lengte en de humerus lengte gevonden. Wanneer de humerus lengte toeneemt, neemt de femur lengte ook evenredig toe. Het zou dus een optie zijn om één van beiden te meten, wanneer de andere niet zichtbaar in beeld kan worden gebracht. Het meten van de BPD en de femur lengte is volgens de onderzoeker de meest ideale combinatie om de groei te kunnen volgen voor IUGR onderzoek. De parameters kunnen met minder ervaring duidelijk in beeld gebracht worden en geven duidelijke resultaten met een kleine variabiliteit in metingen, waardoor deze als de meest betrouwbare parameters genoemd kunnen worden. De gemeten tomen biggen lijken gezien het geboortegewicht een groeicurve van gezonde groei weer te geven. In de toekomst zullen deze resultaten, in combinatie met de resultaten van de andere onderzoek(st)ers, gebruikt kunnen worden als referentie in het onderzoek om IUGR biggen op te sporen tijdens de dracht. Wellicht kan er dan ingegrepen worden met een medicijn zoals allopurinol om de schade die IUGR kan veroorzaken te beperken.

2. Introductie

Intra uterine groei vertraging (IUGR, Intra Uterine Growth Retardation) is een veel voorkomend probleem in de varkensindustrie en in de humane geneeskunde. Het is mogelijk om het varken als diermodel te gebruiken in de humane geneeskunde en vice versa, omdat in beiden verscheidene problemen worden veroorzaakt door IUGR. Daarbij kunnen in beide soorten veel overeenkomsten worden gezien, zoals de hersenontwikkeling. IUGR kan worden veroorzaakt door maternale-, foetale-, en placentale factoren, door de omgeving en door andere medische complicaties. Een belangrijke mogelijke behandeling voor IUGR is allopurinol, welke een positieve beschermings- en neuromodulatorische werking in reperfusie schade kan geven of de negatieve werking van het uitschakelen van het mechanisme van de foetus om de hersenen te redden. Voor een beter begrip van IUGR

kunnen de anatomie en functies van de hersenen en de expressie daarvan in het gedrag bestudeerd en getest worden op verscheidene manieren.

Het is wenselijk om IUGR te diagnosticeren voordat er al schade is ontstaan. Daarom zouden ultrasound metingen van het foetale skelet een uitstekende manier zijn om de referenties van normale intra uterine groei vast te stellen. De eerste stap voorwaarts in IUGR onderzoek is het vinden van de meest betrouwbare en passende parameters. In dit onderzoek is gekeken naar de volgende parameters: humerus lengte, femur lengte, biparietaal diameter, oogkas diameter, thorax hoogte en hart doorsnede. (1)

3. Materiaal en Methode

3.1 Materiaal

3.1.1. Ultrasound apparatuur

Tijdens het meten is er gebruikt gemaakt van een 3.75 MHz sector probe. Deze was aangesloten op een humaan echoapparaat: Toshiba Nemio, model SSA-550A. (Wilhelmina Kinder Ziekenhuis) De opnames werden opgenomen en opgeslagen met behulp van software programma TeraTec Grabby op een laptop. (zie fig. 1)



Fig. 1 Apparatuur

3.1.2. Dieren

Deze studie is uitgevoerd op proefaccommodatie en varkensbedrijf 'de Tolakker' op de Faculteit Diergeneeskunde in Utrecht, Nederland. In totaal werden 6 (n = 6) drachtige zeugen (m.n. Fins Landras x York) met 4^e/5^e pariteit geselecteerd voor deze studie. De zeugen waren gezond en werden in een binnen stal met uitloop gehouden in een groep met 140 drachtige zeugen. De zeugen zijn gevoerd volgens een standaard commercieel voerschema.

3.1.3. Data analyse

Voor het omzetten en het analyseren van de beelden is gebruik gemaakt van Virtual Dub (om de mpg bestanden om te zetten in jpg image sequences) en ImageJ (analysering). (zie bijlagen p.77 voor protocol) Voor de statistische analyses is gebruik gemaakt van Microsoft Excel software (Microsoft Office Excel, 2003). De data is gepresenteerd als gemiddelde \pm Standaard Deviatie. (SD)

3.2 Methode

3.1.4. Scan methode

In deze studie werden de varkens transabdominaal gescand met behulp van real time ultrasonografie. De zeugen werden transcutaan over de linker flank gescand, terwijl de zeugen bleven liggen. Ze werden daarvoor niet geïmmobiliseerd, maar bleven vrijwillig liggen. Het is een pijnloze methode, waardoor anesthesie niet nodig is. De foetussen werden gedetecteerd en gemeten met behulp van de methode beschreven door Amer: de probe wordt naar voren, naar achter en met roterende bewegingen van 90 graden met de klok mee of tegen de klok in bewogen, alles boven het uier van de zeug. (2)

Een transmissie gel werd gebruikt voor het verkrijgen van optimale beelden, welke werden opgenomen op video met behulp van Terratec Grabby software via een aangesloten laptop op het scanapparaat.

3.1.5. Data verzameling

De ultrasound metingen werden uitgevoerd vanaf dag 56 tot en met dag 93 van de dracht. Tijdens deze periode waren de individuele foetussen duidelijk zichtbaar. Tijdens de late dracht wordt het lastiger om de groei parameters te meten, omdat de foetus te groot wordt voor het scherm om een duidelijk overzicht te hebben. In eerdere studies met melkschapen en lama's was dit ook het geval. (3,4) De foetussen zitten dicht bij elkaar, waardoor het ook lastig is om ze te individueel te herkennen.

De parameters welke zijn gemeten in dit onderzoek zijn: hart doorsnede, BPD, femur lengte, humerus lengte, oogkas diameter en thorax hoogte. (zie fig. 2)

- Hart doorsnede (HD): de maximale lengte van de uiterste einden van het hart werden gemeten.
- Biparietaal diameter (BPD): de maximale lengte gemeten vanaf de uitersten van de grenzen van de schedel op de maximale lengte (uiterste-uiterste) De lengte is loodrecht gemeten op de occipitofrontale as. (5)
- Femur lengte (FL): de maximale lengte werd gemeten van het ene eind van de diafyse tot de andere. Een goed beeld liet een equale helderheid en scherp omliggende uiteinden zien.
- Humerus lengte (HL): de maximale lengte werd gemeten van het ene eind van de diafyse tot de andere. Een goed beeld liet een equale helderheid en scherp omliggende uiteinden zien. (5)
- Thorax hoogte (TH): de maximale lengte van de thorax hoogte werd gemeten op de plaats waar het hart het duidelijkst zichtbaar was, met een loodrechte meting ten opzichte van de kop. (zie fig. 2 rode lijn in de afbeelding van de thorax hoogte)
- Oogkas diameter (OD): er werd een cirkel getrokken in de oogkas, waarbij de lijn net op het benige gedeelte stond. Hieruit werd de diameter berekend door ImageJ.

Er is geprobeerd alle foetale parameters te meten tijdens een analysering van één big. De metingen werden echter alleen gemeten wanneer ze duidelijk zichtbaar waren. De correcte beelden van de foetale structuren is te vinden in figuur 2. Tijdens de opnames is gelet op de vitaliteit van de foetus door te kijken naar de hartslag en de bewegingen. Een opname van ongeveer vijf biggen in één zeug duurde met het hebben van ervaring ongeveer 1 uur.

Om een beter overzicht te houden zijn er eenvoudige tekeningen gemaakt om zo de biggen beter individueel te blijven herkennen en zo geen dubbele opnames te maken van dezelfde big (zie fig. 3).

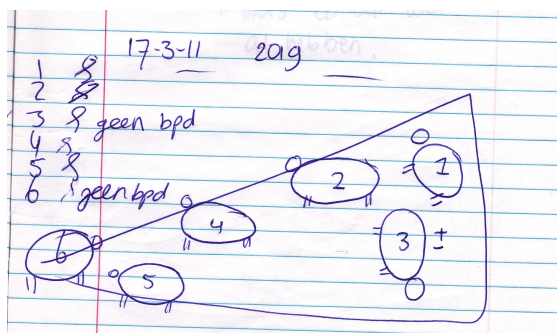


Fig. 3 Eenvoudige tekening

3.1.6. Tijdsplanning

De metingen werden uitgevoerd in zes achtereenvolgende weken. Iedere zeug werd eenmaal per week gemeten op vastgestelde dagen, waarvan soms 1 of 2 dagen is afgeweken. In iedere zeug werden gemiddeld vijf foetussen gemeten. Per zeug werden dus ongeveer 30 metingen uitgevoerd. De analysering van de beelden werd in de vijf daarop volgende weken gedaan.

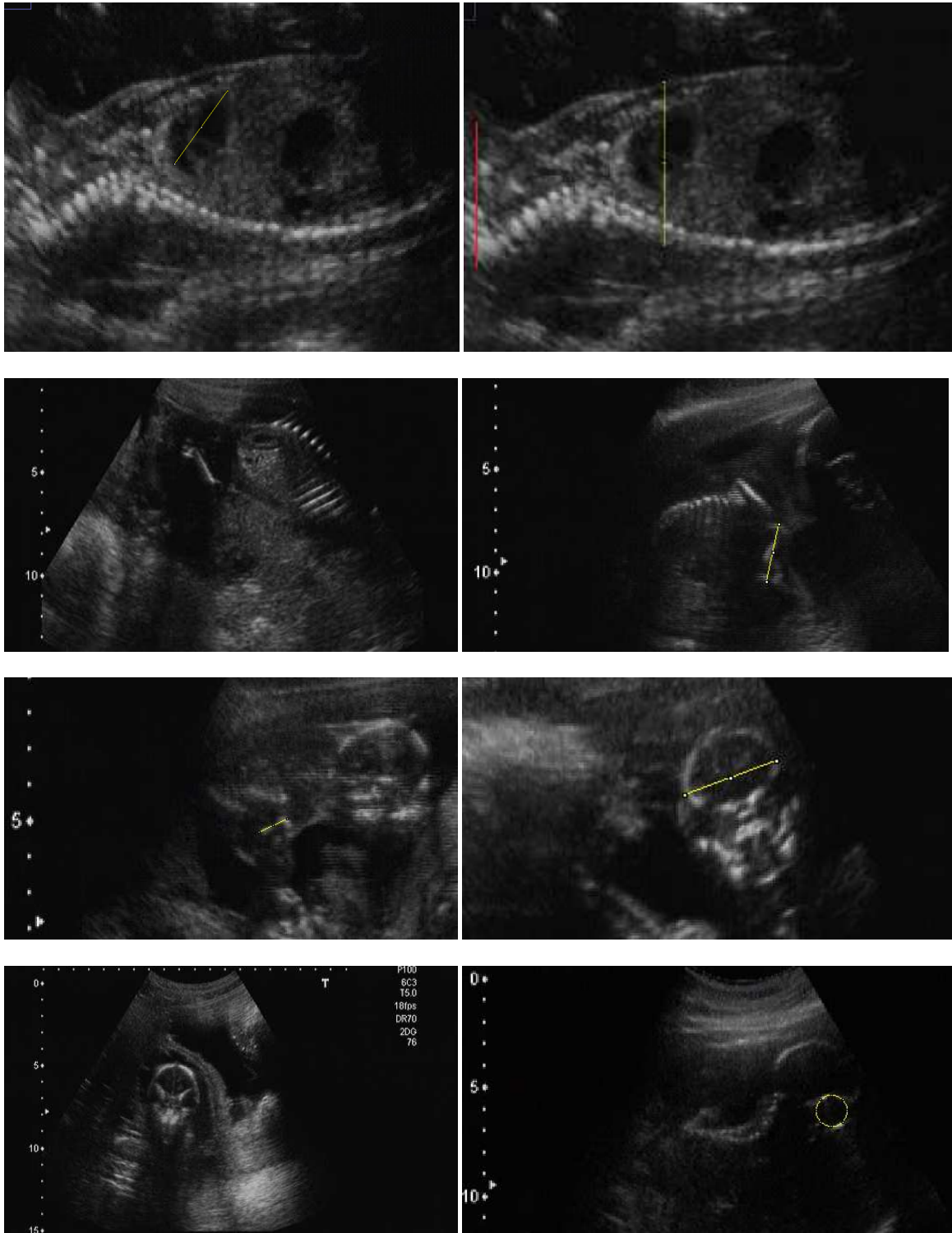


Fig. 2 Van links boven naar rechts onder: doorsnede hart op dag 69 van de dracht; thorax hoogte op dag 69 van de dracht (rode lijn, loodrecht t.o.v. de kop); femur lengte op dag 77 van de dracht; humeruslengte op dag 84 van de dracht (draaiing zichtbaar); humeruslengte op dag 56 van de dracht; BPD dag 56 van de dracht; BPD dag 66 van de dracht; oogkas diameter dag 84 van de dracht.

4. Resultaten

4.1 Parameters

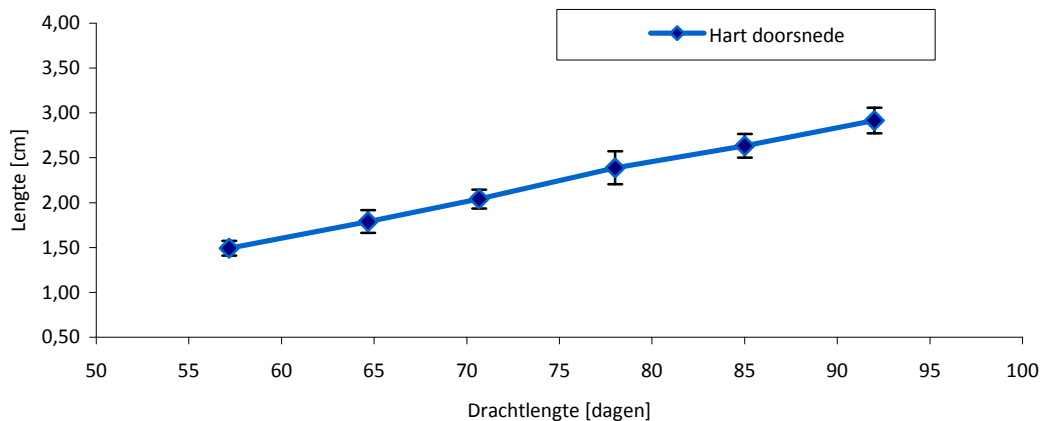
Per parameter zijn alle data van de zes zeugen samengevoegd. Eerst zijn per big gemiddeldes berekend. Daarna zijn gemiddeldes per zeug berekend met een standaard deviatie. Deze gegevens zijn samengevoegd tot

gemiddeldes over alle 6 zeugen met een standaard deviatie. In figuur 4-10 zijn deze resultaten weergegeven in grafieken.

4.1.1. Hart doorsnede

Wat opvalt aan de grafieken van de verschillende zeugen is dat er een lineaire groei te zien is met een grote variatie (SD). Bij één van de zeugen lijkt de SD toe te nemen (zie bijlagen pag. 9) en bij twee van de zeugen is de SD bij meting 4 in verhouding veel groter (zie bijlagen pag. 10 en 11).

In figuur 4 is te zien dat er over een gemiddelde van alle gemeten zeugen een lineaire groei te zien is met een hart groeigemiddelde van 4,1 mm/dag tussen dag 57 en dag 92. Op dag 92 is een biggenhart 2,92 cm groot.

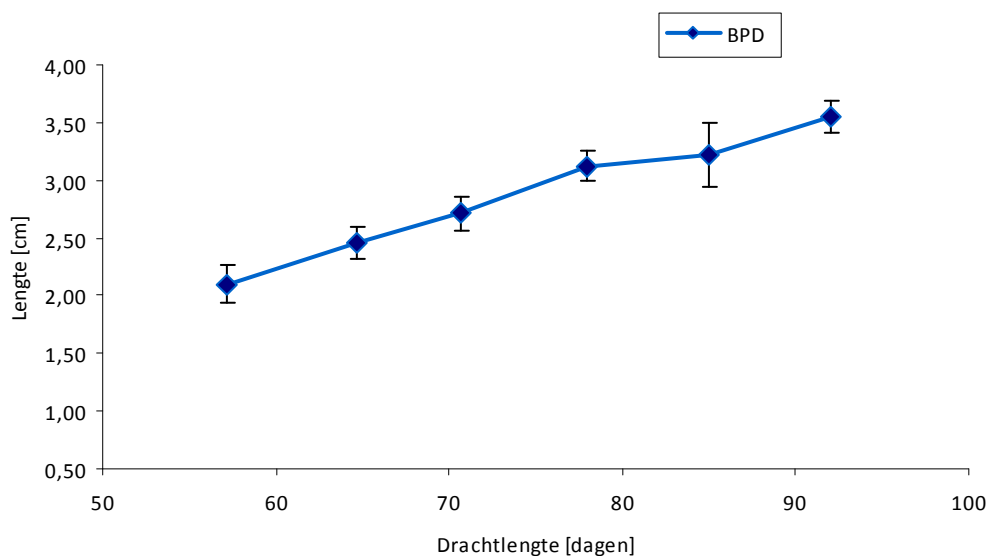


Figuur 4: Toename van de lengte van de hart doorsnede tijdens dag 50-100 van de dracht.

4.1.2. BPD

In de metingen van de BPD valt op dat er over het algemeen een lineaire groei waarneembaar is, waarbij in één van de zeugen een erg afwijkend gemiddelde zichtbaar is, welke weggelaten zou kunnen worden (zie bijlagen pag. 20). In zeug 2023 valt op dat meting 4 en 5 heel dicht bij elkaar liggen (zie bijlagen pag. 23)

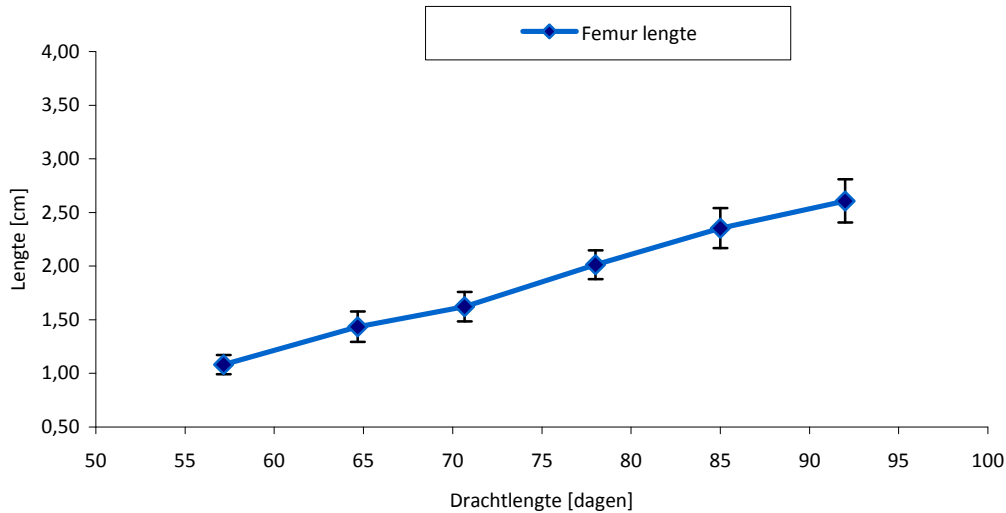
In figuur 5 is te zien dat er over een gemiddelde van alle gemeten zeugen een lineaire groei te zien is met een BPD groeigemiddelde van 4,2 mm/dag tussen dag 57 en dag 92. Op dag 92 is de BPD van een big 3,55 cm groot. De SD is in verhouding veel groter in de 5^e meting, wat verklaard kan worden door de afwijkende meting van zeug 1969.



Figuur 5: Toename van de lengte van de BPD tijdens dag 50-100 van de dracht.

4.1.3. Femur lengte

In figuur 6 is te zien dat er over een gemiddelde van alle gemeten zeugen een lineaire groei te zien is met een femur lengte groeigemiddelde van 4,4 mm/dag tussen dag 57 en dag 92. Op dag 92 is de femur van een big 2,61 cm lang. De SD is klein en deze lijkt vanaf dag 70 iets toe te nemen.

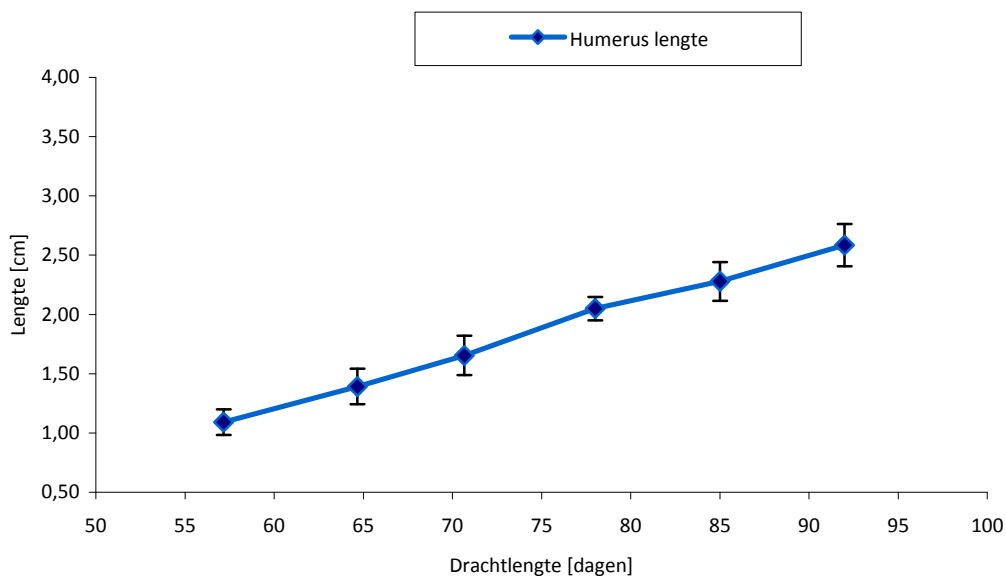


Figuur 6: Toename van de femur lengte tijdens dag 50-100 van de dracht.

4.1.4. Humerus lengte

Over het algemeen geeft de humerus lengte een lineaire groei, met uitzondering van zeug 2019, waarbij de laatste meting lager is dan de 5^e meting (zie bijlagen pag. 40). Verder valt op dat er heel weinig verschil te zien is in meting 4 en 5 in zeug 2023 (zie bijlagen pag. 41).

In figuur 7 is te zien dat er over een gemiddelde van alle gemeten zeugen een lineaire groei te zien is met een humerus lengte groeigemiddelde van 4,3 mm/dag tussen dag 57 en dag 92. Op dag 92 is de humerus van een big 2,58 cm lang.

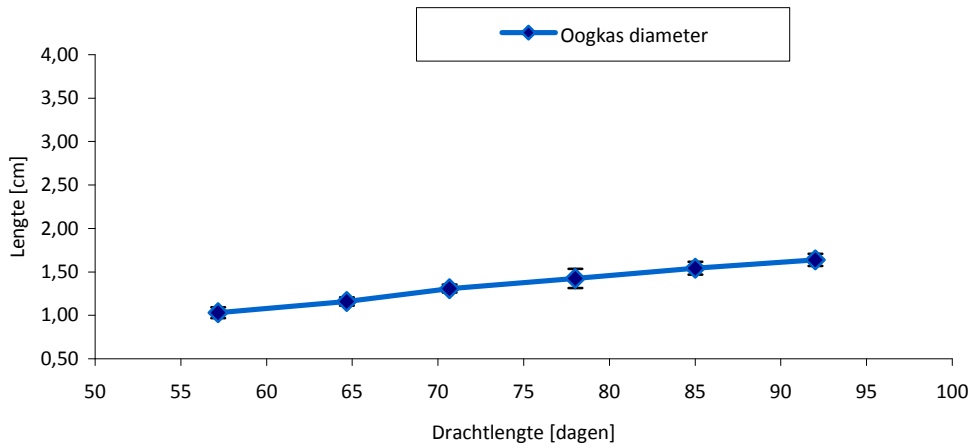


Figuur 7. Toename van de humerus lengte tijdens dag 50-100 van de dracht.

4.1.5. Oogkas diameter

De oogkas diameter geeft over het algemeen een lineaire groei, met uitzondering van zeug 1959, waarbij de 4^e meting lager is dan de 3^e meting en welke weggelaten zou kunnen worden (zie bijlagen pag. 46)

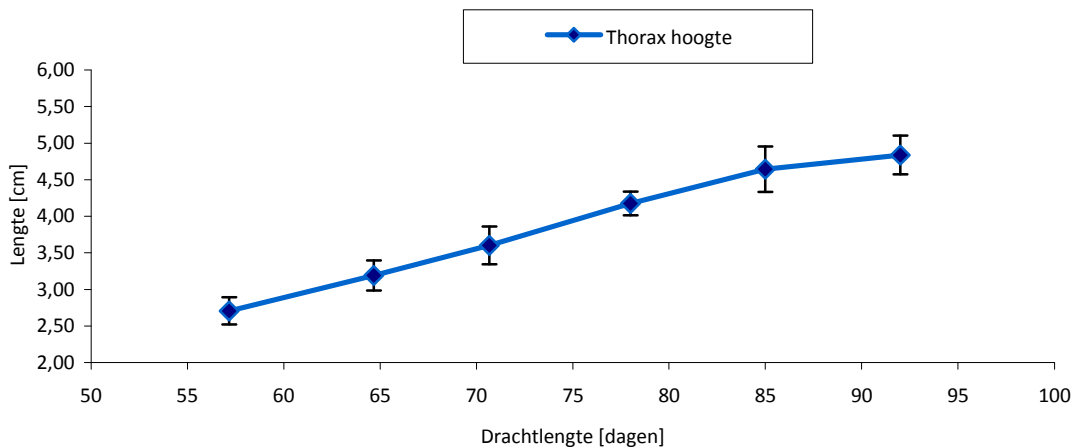
In figuur 8 is te zien dat er over een gemiddelde van alle gemeten zeugen een lineaire groei te zien is met een oogkas diameter groeigemiddelde van 1,7 mm/dag tussen dag 57 en dag 92. Op dag 92 is de diameter van een biggenoogkas 1,64 cm groot.



Figuur 8. Toename van de oogkas diameter tijdens dag 50-100 van de dracht.

4.1.6. Thorax hoogte

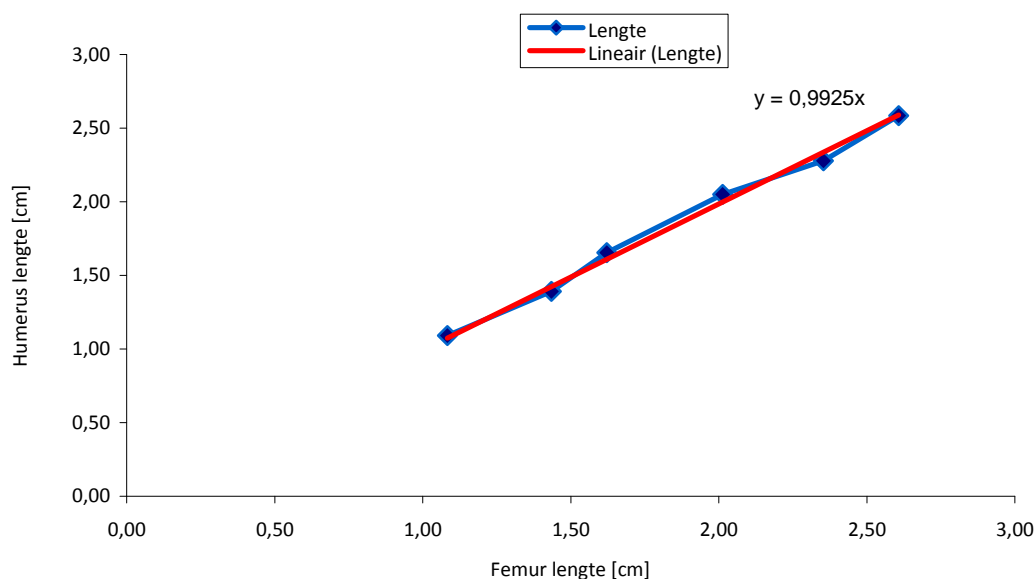
In zeug 2019 is te zien dat de laatste meting lager uitvalt dan de 5^e meting. (zie bijlagen pag. 58) In figuur 9 is te zien dat er over een gemiddelde van alle gemeten zeugen een lineaire groei te zien is met een thorax hoogte groeigemiddelde van 6,1 mm/dag tussen dag 57 en dag 92. Op dag 92 is de thorax van een big 4,84 cm hoog.



Figuur 9. Toename van de hoogte van thorax tijdens dag 50-100 van de dracht.

4.1.7 Verband femur – humerus lengte

Er is een lineair verband tussen de femur lengte en de humerus lengte. Volgens de formule: $y = 0,9925x$ is in figuur 10 te zien dat wanneer de humerus lengte toeneemt, de femur lengte ook evenredig toeneemt. Dit is ook logisch te verklaren door het feit dat een varken op vier poten loopt. Deze dienen allemaal even lang te zijn voor het optimaal functioneren van het dier.



Figuur 10. Relatie femur lengte vs humerus lengte tijdens dag 50-100 van de dracht.

4.2 Geboortegegevens

Bij de zeugen werden respectievelijk 9, 11, 12, 15, 16 en 18 biggen geboren. In tabel 2 wordt van elke zeug het aantal levend geboren biggen, het aantal dood geboren biggen, het aantal mummies, het aantal doodgelegen biggen, de partus datum, het gemiddeld geboortegewicht en het SD van het geboortegewicht weergegeven.

Hierbij valt op dat er grote verschillen kunnen voorkomen tussen de biggen uit 1 toom. Het lijkt erop dat biggen uit een grotere toom gemiddeld een lager geboortegewicht hebben. Dit is logischerwijs te verklaren door het feit dat er minder groeiruimte ter beschikking staat voor deze biggen. Verder valt op dat in zeug 1959 een big geboren is van maar 0,59 kg. Dit ligt behoorlijk lager dan het gemiddelde gewicht en zou kunnen wijzen op IUGR. Dit gewicht is gemeten door een van de medewerkers van 'de Tolakker' en het is onbekend hoe deze big er verder uit zag, hoe hij zich ontwikkeld heeft of dat deze misschien doodgeboren was. Over het algemeen kan worden geconcludeerd dat dit 6 gezonde tomen biggen waren en waardoor de metingen kunnen gelden als referentiewaarden voor gezonde biggen.

Tabel 2: geboortegegevens

zeug	1942	1959	1969	2009	2019	2023
aantal levend geboren biggen	15	16	12	18	9	11
aantal dood geboren biggen	0	0	0	0	0	0
aantal mummies	0	0	0	1	0	0
aantal doodgelegen	1	0	0	0	0	0
partus datum	4-22-2011	4-25-2011	4-23-2011	4-20-2011	4-22-2011	4-24-2011
gemiddeld geboortegewicht (kg) levende biggen	1,54	1,27	2,07	1,48	1,92	2
SD geboortegewicht	0,21	0,26	0,30	0,17	0,38	0,29

5. Discussie

5.1 Ultrasound beelden opnemen

Tijdens de eerste metingen was de *omgeving* van de metingen erg van belang voor de *rust* van de zeug. Allereerst was er een scanbox aanwezig in de dragende zeugen stal, waar het vaak onrustig was door de

invloed van andere zeugen die reageerden op allerlei prikkels. Daardoor was de zeug die gemeten werd ook erg onrustig, waardoor ze niet goed stil bleef liggen en uiteraard ook de metingen minder goed en snel gedaan konden worden. Ook was het hier niet mogelijk om het heel donker te krijgen, waardoor de beelden minder goed te zien waren op het beeldscherm. Al snel is er daarom een scanbox gemaakt in de dekstal, waar het veel rustiger is en waar het makkelijker donker te maken was. De zeugen waren rustiger en de metingen konden sneller gedaan worden. Nu leek er eerst een probleem te ontstaan doordat het vaker donker was in de stal. De zeugen die daar stonden werden niet meer zo snel berig, maar nadat het lichtregime verder daarop is aangepast verliep de berigheid weer zoals normaal.

Tijdens het opnemen van de beelden zijn er *eenvoudige tekeningen* gemaakt van de zeug en de daarin liggende biggen. Dit was nodig vanwege het feit dat het lastig te bepalen is of je een big al gemeten hebt of niet. Aan de hand van het tekenen van de ligging van de biggen waren de biggen beter uit elkaar te houden en kon men zekerder zijn dat niet tweemaal dezelfde big gemeten is op één dag.

5.2 Analyse

Allereerst was het een opgave om de juiste *software* te vinden en daarna om uit te vinden hoe het *gebruik* daarvan was. Via allerlei personen en het uitproberen van allerlei programma's, is geconcludeerd dat voor het omzetten van de beelden Virtual Dub gebruikt kan worden en voor het analyseren van de beelden kan ImageJ gebruikt worden. Hierbij werden de beelden omgezet uit mpg naar image sequences. Er is gekozen voor Image Sequences, omdat de omzet naar bijvoorbeeld avi voor veel te grote bestanden zorgden. Hierdoor zou het weken extra kosten, omdat er geen optimaal snelle computer ter beschikking was.

Voor het verkrijgen van een bepaalde *betrouwbaarheid* is bepaald dat er meerdere metingen van eenzelfde parameter uit verschillende beelden van één filmpje genomen konden worden. Om tijd te besparen was het sneller om geen bepaalde volgorde hierin aan te houden. Dit kon later in Excel weer in de goede volgorde gezet worden. Het was ook mogelijk geweest om drie dezelfde metingen uit één beeld te nemen in één filmpje, maar er is besloten te kiezen voor metingen uit verschillende metingen, omdat dit een beter overzicht geeft van de variatie die kan bestaan tussen beelden van dezelfde parameter in dezelfde big.

Het is tijdens de metingen belangrijk geweest om een aantal zaken steeds opnieuw te *controleren*. Hierbij moet gedacht worden aan de bepaling van de schaal, de instellingen van ImageJ en de benamingen van de bestanden die opgeslagen moesten worden. Uiteraard moest alles opgeslagen worden en terug te vinden zijn.

Qua *apparatuur* is het van belang geweest om een groot beschikbaar geheugen te hebben, omdat de bestanden toch gemiddeld 30 GB per zeug in beslag namen.

Qua *tijdsplanning* was het op een gegeven moment mogelijk om alle parameters in een big te analyseren in minimaal 15 minuten. Door eerst overzichtelijk door het filmpje heen te scrollen was het mogelijk om sneller de juiste en mogelijk meetbare beelden te vinden. Al met al kostte het veel tijd en doorzettingsvermogen met het meten van 6 (zeugen) x 6 (weken) x 5 (biggen) = 180 metingen. Dit was dus minimaal 45 uur aan maximale concentratie, waarvoor ook nog alle beelden opgenomen en omgezet moesten worden.

5.3 Parameters

In eerdere studies werden de kruin-romp lengte en biparietaal diameter (BPD) als meest betrouwbare parameters gezien in verschillende diersoorten, zoals geiten en lama's. (2,5-7) In de mens blijken abdominale omtrek en schattingen van foetaal gewicht metingen het meest betrouwbaar te zijn voor een prenatale diagnose voor IUGR. (8) De metingen van de BPD laten een hoge correlatie zien met drachtlengte in geiten en melkschapen. (2,3,9) Daarom bleek de BPD een goede indicator voor foetale ontwikkeling. (3)

De verschillende parameters welke in dit onderzoek gemeten zijn, zullen allen afzonderlijk besproken worden, maar allereerst is het belangrijk om een algemeen opvallende constatering te bespreken. Het viel op dat in sommige resultaten afwijkende metingen en standaard deviaties te zien waren. Dit kan verklaard worden door verschillende oorzaken.

Ten eerste kunnen er altijd menselijke *meetfouten* optreden, welke niet altijd opgemerkt worden. In sommige gevallen bleek dat er weinig metingen genomen konden worden uit de beelden. Soms waren de beelden te onduidelijk en was daardoor moeilijk te bepalen wat de uiteinden van het gemeten bot zijn. Het is mogelijk dat

een beeld erg goed lijkt te zijn, maar dat toch een bepaald deel van de botten niet oplicht en daardoor niet mee gemeten wordt (voornamelijk in humerus).

Daarnaast is het daarbij mogelijk dat er een *gemiddeld kleinere big* is gemeten. Zoals te zien is in de geboortegewichten, kan er namelijk een flink verschil bestaan tussen de grootste en de kleinste big in de toom. Wanneer deze redenen niet van toepassing zijn en bijvoorbeeld de variatie erg groot is, kan het tenslotte zijn dat de parameter *niet geschikt* is.

Al deze oorzaken kunnen een aanleiding geven om bepaalde punten weg te laten in de eindresultaten om de betrouwbaarheid te verhogen.

5.3.1. Hart doorsnede

In sommige afbeeldingen is de grens van de hartomtrek lastig te bepalen, wat de metingen bemoeilijkt. In het begin was het ook lastig om te zien van welk punt tot welk punt er het beste gemeten kon worden. Maar wanneer dit goed vastgesteld kan worden door middel van ervaring, is het mogelijk iedere meting op dezelfde manier uit te voeren en dat maakt het tot een redelijk geschikte parameter.

Qua resultaten lijkt de hart doorsnede een goede parameter om te meten. Er kwam eenmaal een daling van de lengte voor. Dit zou verklaard kunnen worden door het feit dat er maar 1 meting heeft plaatsgevonden op die dag, welke kan zijn van een in verhouding kleinere big. Dit punt zou eventueel weggelaten kunnen worden en dit geeft nog mooiere resultaten. De SD is variabel en dit geeft weer dat er een grote variatie tussen biggen van dezelfde leeftijd is. Er kan een meetfout optreden, maar het kan ook dat de grootte van het hart erg verschillend is bij biggen van dezelfde leeftijd. Daarom zou dit een minder betrouwbare parameter kunnen zijn.

5.3.2. BPD

De BPD kan gemeten worden vanuit verschillende aanzichten, namelijk vanaf craniaal of vanaf dorsaal. Maar er lijkt weinig verschil te zitten in deze uitslagen. De BPD is vaak duidelijk te zien en maakt het tot een betrouwbare en duidelijk parameter, wat ook in onderzoek van andere diersoorten en de mens zichtbaar is. (5)

In zeug 1969 was een afwijkend gemiddelde te zien, welke weggelaten zou kunnen worden. Ook hier kunnen juist de kleinere biggen zijn gemeten. Wanneer dit gemiddelde weggelaten zou kunnen worden zou de SD in de eindgrafiek ook veel kleiner zijn en daarbij een minder groot verschil opleveren in verhouding met de andere SD's.

5.3.3. Femur lengte

De femur lengte is een erg mooie parameter, omdat hij vrijwel altijd goed zichtbaar gemaakt kan worden. Met weinig ervaring is deze parameter goed in beeld te krijgen.

Er waren geen afwijkende gemiddeldes gemeten in de zeugen, waardoor er geen punten weggelaten hoeven te worden. De variatie is klein, dus om deze te kunnen meten is dus minder ervaring nodig van de onderzoeker. De SD neemt vanaf meting 3 iets toe, wat betekent dat de variatie groter wordt. Dit kan verklaard worden doordat de biggen meer uit elkaar groeien of doordat er meer meetfouten gemaakt zijn.

5.3.4. Humerus lengte

Tijdens het meten van de eerste zeug, werd in week 4 geconstateerd dat er een bepaalde draaiing te zien was in de humerus (zie fig. 2 humerusbreedte op dag 84 van de dracht met draaiing zichtbaar). Het was nogal onduidelijk of bepaalde delen van de oplichtende structuren echt tot de humerus behoorden. Deze metingen waren gemarkeerd. Na de literatuur te hebben nagekeken bleek het dat het hoogstwaarschijnlijk behoorde tot de kop van de ulna en daarom zijn de gemarkeerde metingen weggelaten in de resultaten. Later bleek ook dat in week 3 al een onderscheid gemaakt kon worden. Maar in de laatste gemeten zeugen was dit duidelijk en daarom zijn daar geen resultaten meer weggelaten.

5.3.5. Oogkas diameter

In de praktijk is het belangrijk dat de cirkel daadwerkelijk rond is en daarom is gecontroleerd dat dit ook het geval was. Verder was de oogkas praktisch erg duidelijk zichtbaar en was dan ook zeker geschikt als parameter.

5.3.6. Thorax hoogte

Praktisch gezien was het lastig te bepalen op welke lijn van de thorax de hoogte bepaald kon worden. Vastgesteld was dat dit zou zijn in een beeld waarin het hart duidelijk zichtbaar was, waarbij loodrecht (zie figuur 3) op de big een lijn getrokken zou kunnen worden. Wanneer er echter geen duidelijk hart zichtbaar was in een erg mooie afbeelding van de thorax is bepaald dat er op de plaats waar ongeveer het hart aanwezig is gezien een meting gemaakt mocht worden. Dit geeft dus een verminderde betrouwbaarheid in deze metingen.

Er zou één punt weggelaten kunnen worden, namelijk de laatste meting in zeug 2019. Deze was lager dan de 5^e meting. Het valt op dat in de eindgrafiek bij alle gemiddelden de SD redelijk klein is, wat weergeeft dat er minder variabiliteit is. Deze kunnen verklaard worden door de eerder genoemde oorzaken.

5.3.7. Verband femur en humerus lengte

Er is een verband tussen de femur lengte en de humerus lengte. De femur lengte en de humerus lengte lopen gelijk op, dus het zou dus een optie zijn om één van beiden te meten, wanneer de andere niet zichtbaar in beeld kan worden gebracht.

6. Conclusie

Uit dit onderzoek is gebleken dat er geschikte parameters bestaan om de intra uteriene groei te volgen. Alle gemeten parameters, namelijk hart doorsnede, BPD, femur lengte, humerus lengte, oogkas diameter en thorax hoogte, lijken hier volgens de resultaten voor geschikt. Bij alle parameters is een lineaire groei te zien.

Praktisch gezien is er een eerste voorkeur voor het meten van de BPD, femur lengte, humerus lengte en oogkas diameter, vanwege de kleine variatie en het feit dat ze makkelijk te herkennen zijn. Ze zijn goed duidelijk zichtbaar en zijn vaak goed te meten. Hierbij moet gezegd worden dat het vooral bij de humerus lengte van belang is de anatomisch structuren, namelijk de humerus en de ulna, van elkaar te kunnen onderscheiden.

De hart doorsnede en de thorax hoogte zijn ook geschikt wanneer de onderzoeker ervaring heeft in de echografie. Dan kunnen duidelijke beelden gevonden worden en is er goed duidelijk op welke plaats er gemeten moet worden.

Er is daarnaast ook een verband tussen de femur lengte en de humerus lengte gevonden. Wanneer de humerus lengte toeneemt, neemt de femur lengte ook evenredig toe. Het zou dus een optie zijn om één van beiden te meten, wanneer de andere niet zichtbaar in beeld kan worden gebracht.

Het meten van de BPD en de femur lengte is volgens de onderzoeker de meest ideale combinatie om de groei te kunnen volgen voor IUGR onderzoek. De parameters kunnen met minder ervaring duidelijk in beeld gebracht worden en geven duidelijke resultaten met een kleine variabiliteit in metingen, waardoor deze als de meest betrouwbare parameters genoemd kunnen worden.

De gemeten tomen biggen lijken gezien het geboortegewicht een groeicurve van gezonde groei weer te geven. In de toekomst zullen deze resultaten, in combinatie met de resultaten van de andere onderzoek(st)ers, gebruikt kunnen worden als referentie in het onderzoek om IUGR biggen op te sporen tijdens de dracht. Wellicht kan er dan ingegrepen worden met een medicijn zoals allopurinol om de schade die IUGR kan veroorzaken te beperken.

7. Dankwoord

Graag wil ik mijn begeleidster dr. Wikke Kuller, werkzaam bij de Varkensgezondheidszorg, bedanken voor de mogelijkheid om mee te werken aan dit leerzame onderzoek en voor alle goede en enthousiaste begeleiding. Daarnaast wil ik ook Elise Gieling bedanken voor de adviezen en hulp op het gebied van IUGR en het omzetten van de beelden. De werknemers van proefaccommodatie 'de Tolakker' worden ook heel erg bedankt voor alle hulp en mogelijkheden die er waren om deze metingen uit te voeren. Veel mensen komen nog dank toe in het vinden van de juiste manier om de beelden om te zetten en te analyseren, met name Richard Wubbolts, werkzaam bij het CCI. Ook bedank ik mijn Diergeneeskunde studiegenoot Theo Wieggers en student Dierwetenschappen Elke van Gelderen voor de goede samenwerking in dit onderzoek. Uiteraard bedank ik mijn familie en vrienden voor alle ondersteuning en in het bijzonder Paul en mijn ouders Siem en Rienke.

8. Referenties

- (1) De Zeeuw F. Neurological and behavioural impact of IUGR in piglets (*Sus Scrofa*).
- (2) Amer HA. Determination of first pregnancy and foetal measurements in Egyptian Baladi goats (*Capra hircus*). *Vet Ital* 2008 Apr-Jun;44(2):429-437.
- (3) Gonzalez de Bulnes A, Garcia Fernandez P, Mayenco Aguirre AM, Sanchez de la Muela M. Ultrasonographic imaging of canine mammary tumours. *Vet Rec* 1998 Dec 19-26;143(25):687-689.
- (4) Haibel GK, Fung ED. Real-time ultrasonic biparietal diameter measurement for the prediction of gestational age in llamas. *Theriogenology* 1991 Apr;35(4):683-687.
- (5) van Engeldorp Gastelaars Heleen. Endocrine profiles during the oestrous cycle and pregnancy, and ultrasonographic characterization of foetal development in captive Malayan tapirs (*Tapirus indicus*); 2010.
- (6) Lee Y, Lee O, Cho J, Shin H, Choi Y, Shim Y, et al. Ultrasonic measurement of fetal parameters for estimation of gestational age in Korean black goats. *J Vet Med Sci* 2005 May;67(5):497-502.
- (7) Gazitua FJ, Corradini P, Ferrando G, Raggi LA, Parraguez VH. Prediction of gestational age by ultrasonic fetometry in llamas (*Lama glama*) and alpacas (*Lama pacos*). *Anim Reprod Sci* 2001 Apr 30;66(1-2):81-92.
- (8) Gallivan S, Robson SC, Chang TC, Vaughan J, Spencer JA. An investigation of fetal growth using serial ultrasound data. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1993 Mar 1;3(2):109-114.
- (9) Amer HA. Ultrasonographic assessment of early pregnancy diagnosis, fetometry and sex determination in goats. *Anim Reprod Sci* 2010 Feb;117(3-4):226-231.

9. Bijlagen

In het bijgesloten document zijn alle bijlagen te vinden: de tabellen en grafieken van dit onderzoek, de afbeeldingen van het echo onderzoek, een data analyse protocol en een onderzoeksvoorstel.

Bijlagen

Parameters foetale groei in varkens (Sus Scrofa)

F. de Zeeuw – Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht

Student: Florina de Zeeuw
Registratie nummer: 3260348
Vak: Master onderzoek
Datum: Juli 2011
Specialisatie: Landbouwhuisdieren en Veterinaire Volksgezondheid
Begeleider: Dr. Wikke Kuller, Universiteit Utrecht
Locaties: Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht
Proefaccomodatie 'de Tolakker', Universiteit Utrecht

Inhoudsopgave

	Pag.		Pag.
Tabellen			
Resultaten doorsnede hart	2	Oogkas alle zeugen zonder SD	42
Resultaten BPD	2	Oogkas gemiddelde alle zeugen - figuur 8	43
Resultaten femur lengte	3	Oogkas alle zeugen met SD	44
Resultaten humerus lengte	3	Oogkas zeug 1942	45
Resultaten oogkas diameter	4	Oogkas zeug 1959	46
Resultaten thorax hoogte	4	Oogkas zeug 1969	47
Resultaten gemiddelden	5	Oogkas zeug 2009	48
		Oogkas zeug 2019	49
		Oogkas zeug 2023	50
Grafieken			
Hart doorsnede alle zeugen zonder SD	6	Thorax hoogte alle zeugen zonder SD	51
Hart doorsnede gemiddelde alle zeugen - figuur 4	7	Thorax hoogte gemiddelde alle zeugen - figuur 9	52
Hart doorsnede alle zeugen met SD	8	Thorax hoogte alle zeugen met SD	53
Hart doorsnede zeug 1942	9	Thorax hoogte zeug 1942	54
Hart doorsnede zeug 1959	10	Thorax hoogte zeug 1959	55
Hart doorsnede zeug 1969	11	Thorax hoogte zeug 1969	56
Hart doorsnede zeug 2009	12	Thorax hoogte zeug 2009	57
Hart doorsnede zeug 2019	13	Thorax hoogte zeug 2019	58
Hart doorsnede zeug 2023	14	Thorax hoogte zeug 2023	59
BPD alle zeugen zonder SD	15		
BPD gemiddelde alle zeugen - figuur 5	16	Relatie femur lengte vs humerus lengte - figuur 10	60
BPD alle zeugen met SD	17		
BPD zeug 1942	18	Echografie beelden	
BPD zeug 1959	19	Hart doorsnede	61
BPD zeug 1969	20	Thorax hoogte	64
BPD zeug 2009	21	Femur	65
BPD zeug 2019	22	Humerus	67
BPD zeug 2023	23	BPD	72
		Oogkas	76
Femur alle zeugen zonder SD	24		
Femur gemiddelde alle zeugen - figuur 6	25	Data analyse	
Femur alle zeugen met SD	26	Protocol	77
Femur zeug 1942	27		
Femur zeug 1959	28	Onderzoeksvoorstel	
Femur zeug 1969	29	Onderzoeksvoorstel	79
Femur zeug 2009	30		
Femur zeug 2019	31	Foto's	
Femur zeug 2023	32	Geboren biggen	83
Humerus alle zeugen zonder SD	33		
Humerus gemiddelde alle zeugen - figuur 7	34		
Humerus alle zeugen met SD	35		
Humerus zeug 1942	36		
Humerus zeug 1959	37		
Humerus zeug 1969	38		
Humerus zeug 2009	39		
Humerus zeug 2019	40		
Humerus zeug 2023	41		

Results

Cross section heart / hart doorsnede

Sow 1942			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	1,381	0,059
01-03-2011	63	1,475	0,033
07-03-2011	69	1,604	0,065
15-03-2011	77	2,078	0,133
22-03-2011	84	2,563	0,160
29-03-2011	91	2,774	0,346

Sow 1959			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	1,424	0,179
01-03-2011	63	1,552	0,111
07-03-2011	69	1,971	0,153
15-03-2011	77	2,339	0,597
22-03-2011	84	2,510	0,173
29-03-2011	91	2,470	0,103

Sow 1969			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,763	0,146
04-03-2011	66	1,925	0,122
10-03-2011	72	2,289	0,163
16-03-2011	78	2,661	0,467
23-03-2011	85	2,799	0,285
30-03-2011	92	3,246	0,148

Sow 2009			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
23-02-2011	57	1,317	0,102
02-03-2011	64	1,907	0,117
08-03-2011	70	2,065	0,286
16-03-2011	78	2,402	0,348
23-03-2011	85	2,530	0,446
30-03-2011	92	3,099	0,093

Sow 2019			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,497	0,175
04-03-2011	66	1,847	0,212
10-03-2011	72	2,198	0,353
17-03-2011	79	2,303	0,248
24-03-2011	86	2,659	0,062
31-03-2011	93	2,886	0,368

Sow 2023			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,566	0,300
04-03-2011	66	2,032	0,400
10-03-2011	72	2,111	0,267
17-03-2011	79	2,545	0,151
24-03-2011	86	2,737	0,175
31-03-2011	93	3,023	0,401

BPD

Sow 1942			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	1,985	0,097
01-03-2011	63	2,518	0,206
07-03-2011	69	2,593	0,101
15-03-2011	77	3,038	0,073
22-03-2011	84	3,324	0,338
29-03-2011	91	3,410	0,106

Sow 1959			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	1,816	0,022
01-03-2011	63	2,204	0,259
07-03-2011	69	2,504	0,173
15-03-2011	77	2,981	0,085
22-03-2011	84	3,172	0,130
29-03-2011	91	3,389	0,019

Sow 1969			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	2,225	0,138
04-03-2011	66	2,540	0,076
10-03-2011	72	2,895	0,091
16-03-2011	78	3,138	0,104
23-03-2011	85	2,745	0,000
30-03-2011	92	3,625	0,087

Sow 2009			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
23-02-2011	57	2,255	0,267
02-03-2011	64	2,580	0,155
08-03-2011	70	2,856	0,088
16-03-2011	78	3,095	0,128
23-03-2011	85	3,183	0,050
30-03-2011	92	3,474	0,141

Sow 2019			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	2,156	0,275
04-03-2011	66	2,423	0,201
10-03-2011	72	2,700	0,274
17-03-2011	79	3,104	0,221
24-03-2011	86	3,555	0,088
31-03-2011	93	3,648	0,132

Sow 2023			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	2,148	0,153
04-03-2011	66	2,514	0,345
10-03-2011	72	2,740	0,230
17-03-2011	79	3,357	0,168
24-03-2011	86	3,374	0,217
31-03-2011	93	3,748	0,209

Results

Femur

Sow 1942			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	1,090	0,263
01-03-2011	63	1,339	0,296
07-03-2011	69	1,465	0,216
15-03-2011	77	1,847	0,060
22-03-2011	84	2,131	0,090
29-03-2011	91	2,319	0,091

Humerus

Sow 1942			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	0,968	0,070
01-03-2011	63	1,227	0,047
07-03-2011	69	1,404	0,153
15-03-2011	77	1,886	0,121
22-03-2011	84	2,049	0,146
29-03-2011	91	2,559	0,390

Sow 1959			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	0,921	0,032
01-03-2011	63	1,210	0,065
07-03-2011	69	1,450	0,075
15-03-2011	77	1,890	0,183
22-03-2011	84	2,243	0,276
29-03-2011	91	2,401	0,095

Sow 1959			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	0,959	0,084
01-03-2011	63	1,196	0,072
07-03-2011	69	1,483	0,217
15-03-2011	77	2,013	0,141
22-03-2011	84	2,186	0,054
29-03-2011	91	2,312	0,058

Sow 1969			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,107	0,090
04-03-2011	66	1,589	0,274
10-03-2011	72	1,662	0,181
16-03-2011	78	1,963	0,174
23-03-2011	85	2,421	0,165
30-03-2011	92	2,727	0,061

Sow 1969			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,207	0,146
04-03-2011	66	1,497	0,076
10-03-2011	72	1,788	0,131
16-03-2011	78	2,045	0,157
23-03-2011	85	2,461	0,122
30-03-2011	92	2,822	0,025

Sow 2009			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
23-02-2011	57	1,102	0,057
02-03-2011	64	1,429	0,026
08-03-2011	70	1,681	0,088
16-03-2011	78	2,097	0,110
23-03-2011	85	2,634	0,303
30-03-2011	92	2,730	0,163

Sow 2009			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
23-02-2011	57	1,093	0,069
02-03-2011	64	1,411	0,086
08-03-2011	70	1,723	0,068
16-03-2011	78	2,069	0,130
23-03-2011	85	2,288	0,179
30-03-2011	92	2,671	0,081

Sow 2019			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,081	0,138
04-03-2011	66	1,512	0,126
10-03-2011	72	1,801	0,169
17-03-2011	79	2,185	0,169
24-03-2011	86	2,468	0,054
31-03-2011	93	2,817	0,339

Sow 2019			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,115	0,082
04-03-2011	66	1,449	0,127
10-03-2011	72	1,743	0,130
17-03-2011	79	2,100	0,204
24-03-2011	86	2,466	0,177
31-03-2011	93	2,471	0,089

Sow 2023			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,196	0,219
04-03-2011	66	1,533	0,122
10-03-2011	72	1,672	0,144
17-03-2011	79	2,097	0,100
24-03-2011	86	2,228	0,066
31-03-2011	93	2,654	0,092

Sow 2023			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,202	0,090
04-03-2011	66	1,571	0,109
10-03-2011	72	1,779	0,056
17-03-2011	79	2,183	0,153
24-03-2011	86	2,223	0,090
31-03-2011	93	2,671	0,162

Results

Orbit / oogkas

Sow 1942			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	1,083	0,125
01-03-2011	63	1,185	0,091
07-03-2011	69	1,294	0,075
15-03-2011	77	1,440	0,068
22-03-2011	84	1,547	0,078
29-03-2011	91	1,621	0,081

Heigth of the thorax / thorax hoogte

Sow 1942			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	2,669	0,194
01-03-2011	63	3,010	0,207
07-03-2011	69	3,302	0,148
15-03-2011	77	3,980	0,262
22-03-2011	84	4,361	0,398
29-03-2011	91	4,541	0,126

Sow 1959			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	1,067	0,072
01-03-2011	63	1,149	0,049
07-03-2011	69	1,241	0,077
15-03-2011	77	1,215	0,187
22-03-2011	84	1,412	0,102
29-03-2011	91	1,546	0,016

Sow 1959			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
22-02-2011	56	2,353	0,125
01-03-2011	63	2,889	0,423
07-03-2011	69	3,279	0,278
15-03-2011	77	3,980	0,374
22-03-2011	84	4,361	0,165
29-03-2011	91	4,541	0,167

Sow 1969			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,060	0,051
04-03-2011	66	1,198	0,052
10-03-2011	72	1,343	0,017
16-03-2011	78	1,467	0,099
23-03-2011	85	1,637	0,063
30-03-2011	92	1,671	0,018

Sow 1969			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	2,755	0,217
04-03-2011	66	3,352	0,188
10-03-2011	72	3,651	0,355
16-03-2011	78	4,340	0,438
23-03-2011	85	5,019	0,098
30-03-2011	92	5,234	0,451

Sow 2009			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
23-02-2011	57	0,909	0,056
02-03-2011	64	1,071	0,104
08-03-2011	70	1,274	0,054
16-03-2011	78	1,424	0,058
23-03-2011	85	1,580	0,112
30-03-2011	92	1,731	0,077

Sow 2009			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
23-02-2011	57	2,835	0,157
02-03-2011	64	3,251	0,333
08-03-2011	70	3,805	0,141
16-03-2011	78	4,231	0,539
23-03-2011	85	4,446	0,173
30-03-2011	92	4,888	0,449

Sow 2019			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,044	0,063
04-03-2011	66	1,191	0,057
10-03-2011	72	1,368	0,147
17-03-2011	79	1,474	0,111
24-03-2011	86	1,549	0,067
31-03-2011	93	1,579	0,042

Sow 2019			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	2,851	0,213
04-03-2011	66	3,215	0,165
10-03-2011	72	3,894	0,313
17-03-2011	79	4,182	0,347
24-03-2011	86	5,024	0,112
31-03-2011	93	4,853	0,484

Sow 2023			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	1,016	0,042
04-03-2011	66	1,170	0,093
10-03-2011	72	1,327	0,065
17-03-2011	79	1,533	0,076
24-03-2011	86	1,530	0,065
31-03-2011	93	1,685	0,010

Sow 2023			
Date	Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
24-02-2011	58	2,772	0,210
04-03-2011	66	3,424	0,340
10-03-2011	72	3,681	0,227
17-03-2011	79	4,339	0,349
24-03-2011	86	4,645	0,622
31-03-2011	93	4,959	0,478

Results: mean

Cross section heart		
Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
57	1,491	0,082
65	1,789	0,128
71	2,040	0,106
78	2,388	0,183
85	2,633	0,133
92	2,916	0,143

BPD		
Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
57	2,098	0,167
65	2,463	0,137
71	2,715	0,150
78	3,119	0,129
85	3,226	0,274
92	3,549	0,145

Femur		
Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
57	1,083	0,089
65	1,435	0,141
71	1,622	0,137
78	2,013	0,133
85	2,354	0,186
92	2,608	0,201

Humerus		
Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
57	1,090	0,108
65	1,392	0,150
71	1,653	0,166
78	2,049	0,099
85	2,279	0,163
92	2,584	0,179

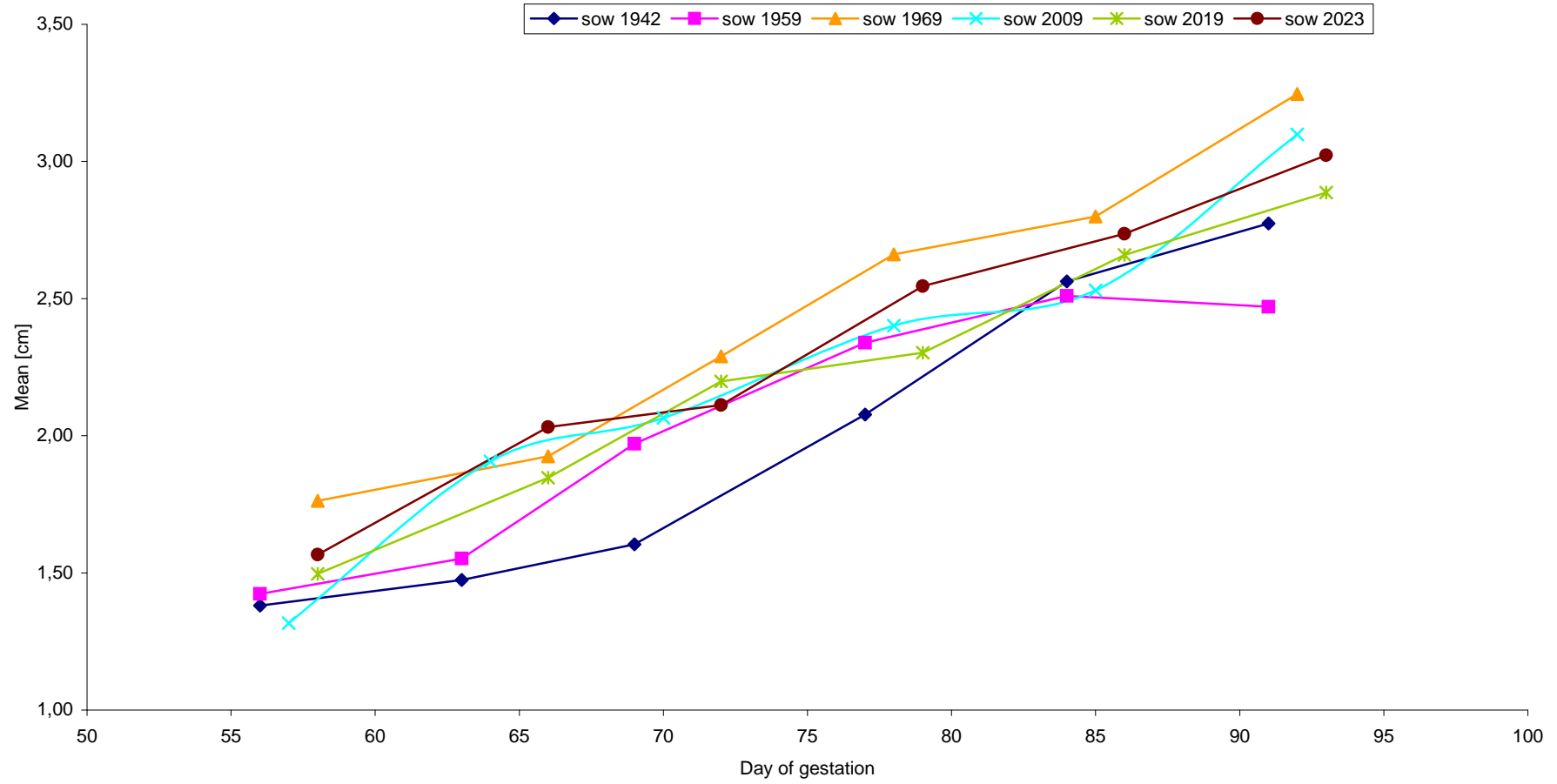
Orbit		
Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
57	1,030	0,063
65	1,160	0,047
71	1,308	0,047
78	1,425	0,110
85	1,542	0,074
92	1,639	0,070

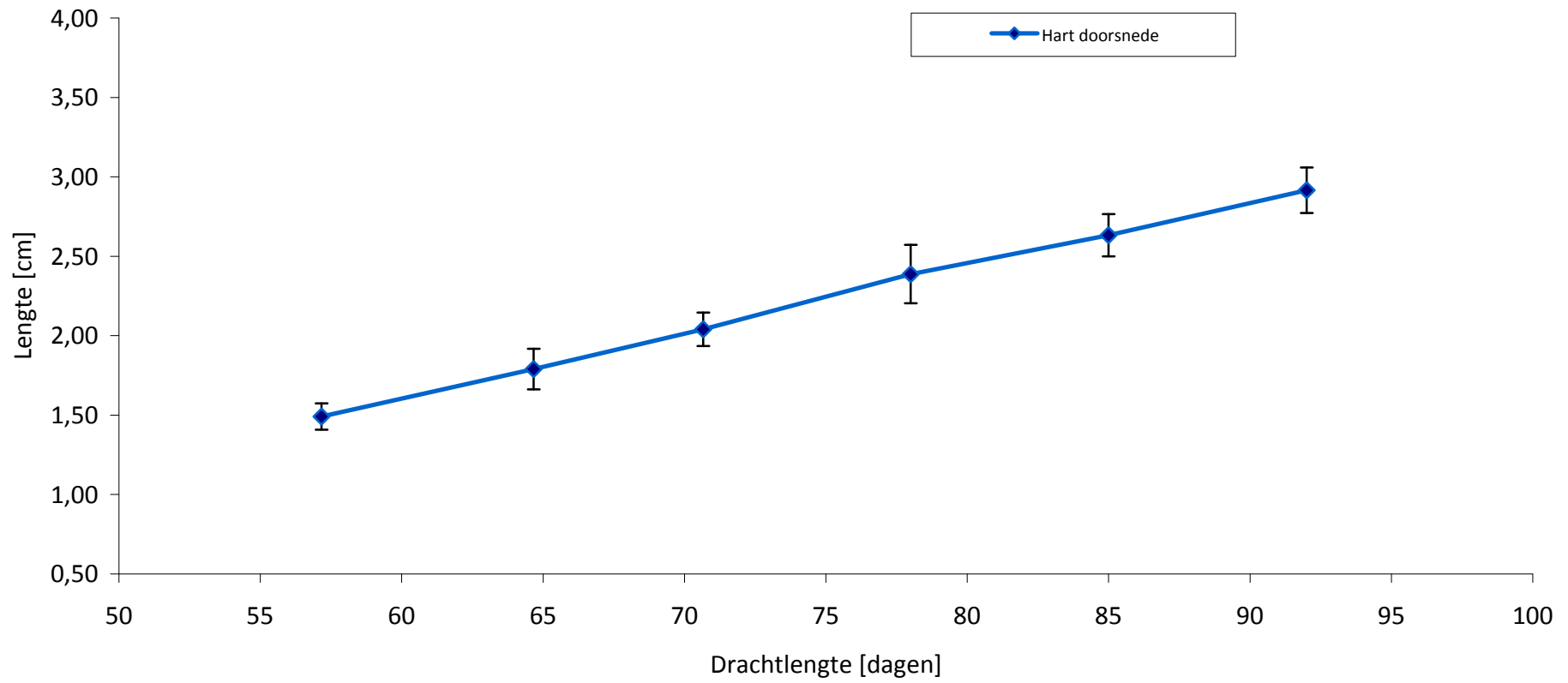
height of the thorax		
Day of gestation	Mean (cm)	StDev (cm)
57	2,706	0,185
65	3,190	0,204
71	3,602	0,257
78	4,175	0,163
85	4,642	0,311
92	4,836	0,265

Femur length/humerus

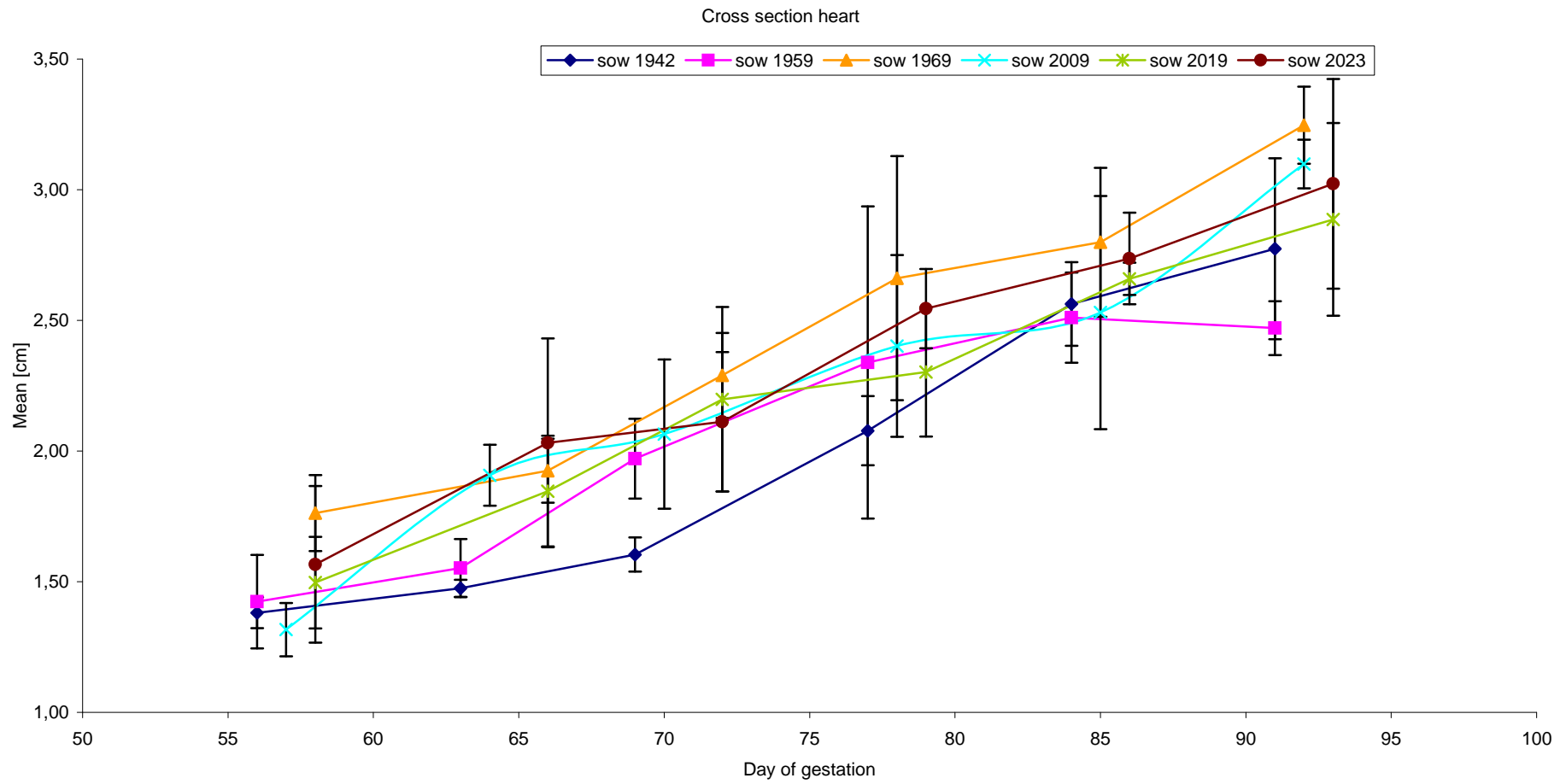
Femur	Humerus
1,083	1,090
1,435	1,392
1,622	1,653
2,013	2,049
2,354	2,279
2,608	2,584

Cross section heart

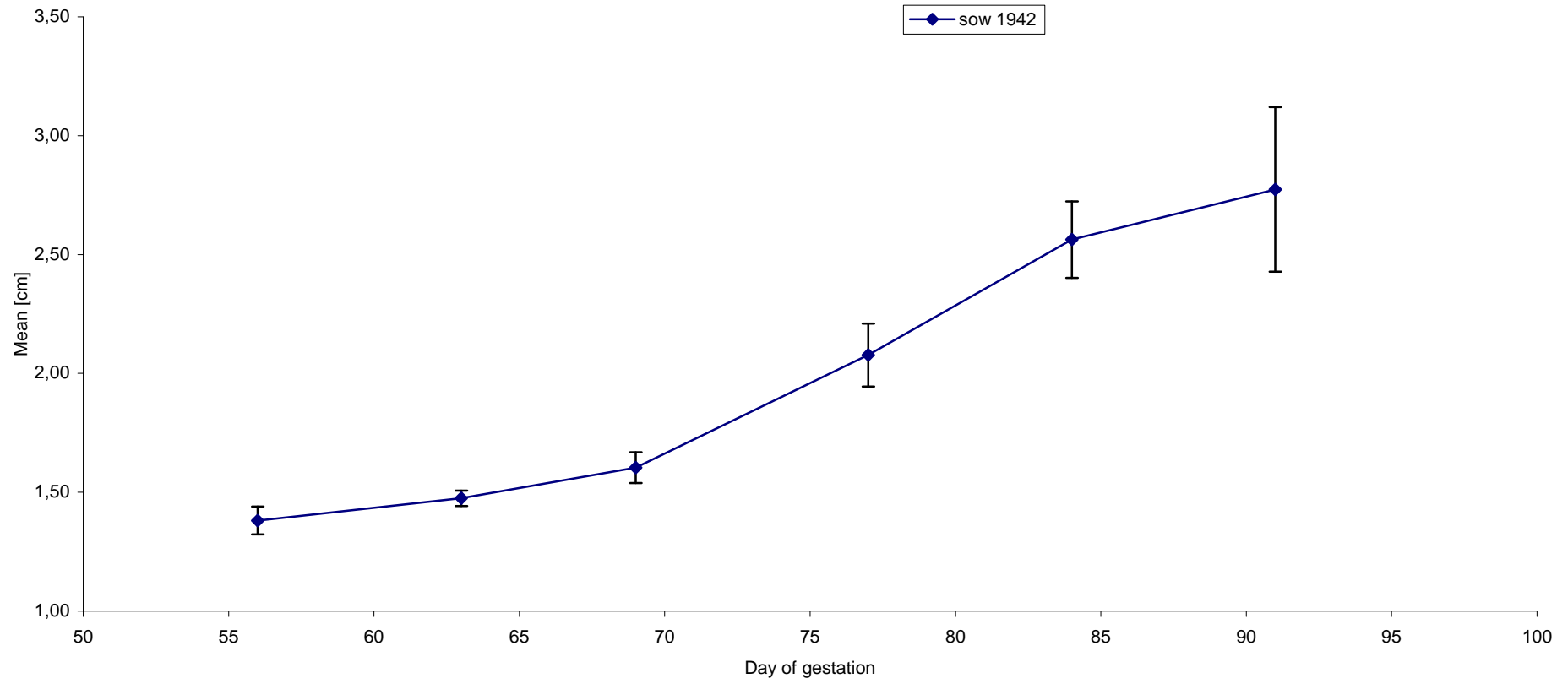




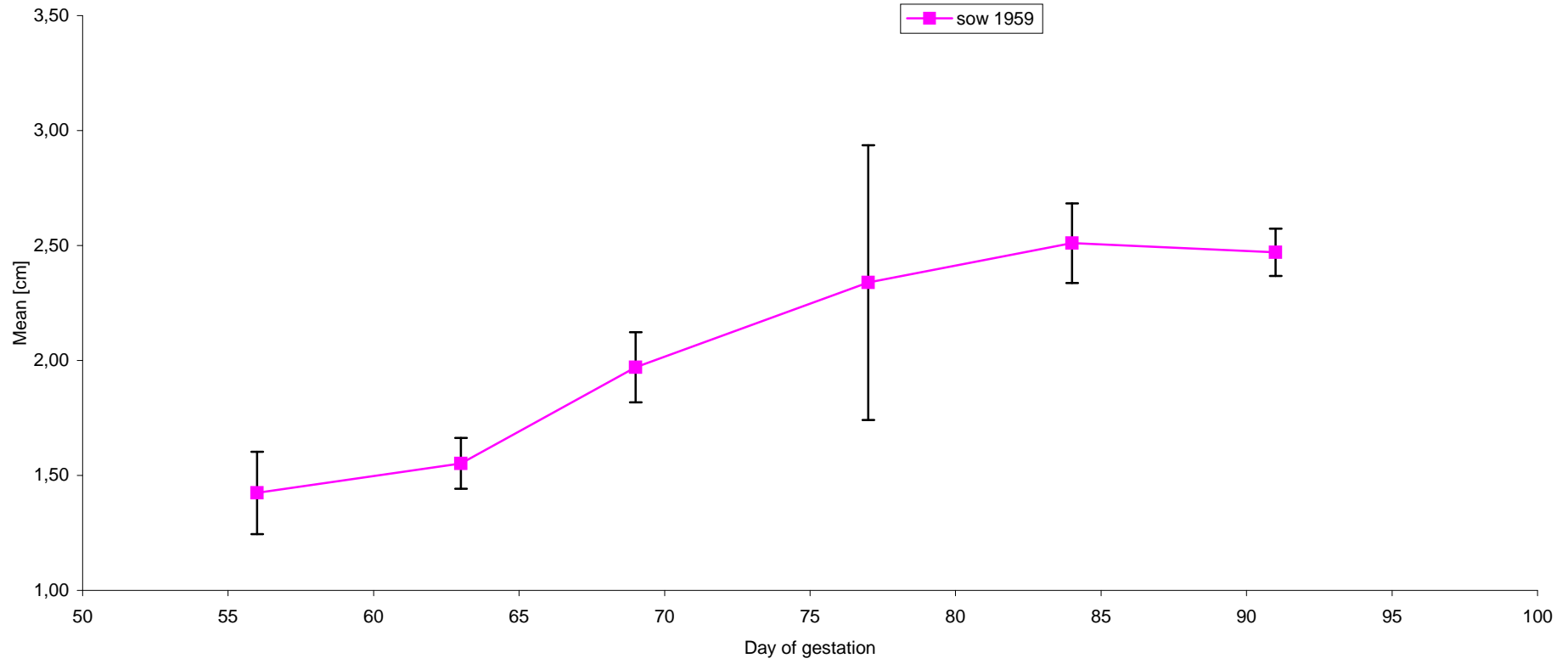
Figuur 4: Toename van de lengte van de hart doorsnede tijdens dag 50-100 van de dracht.

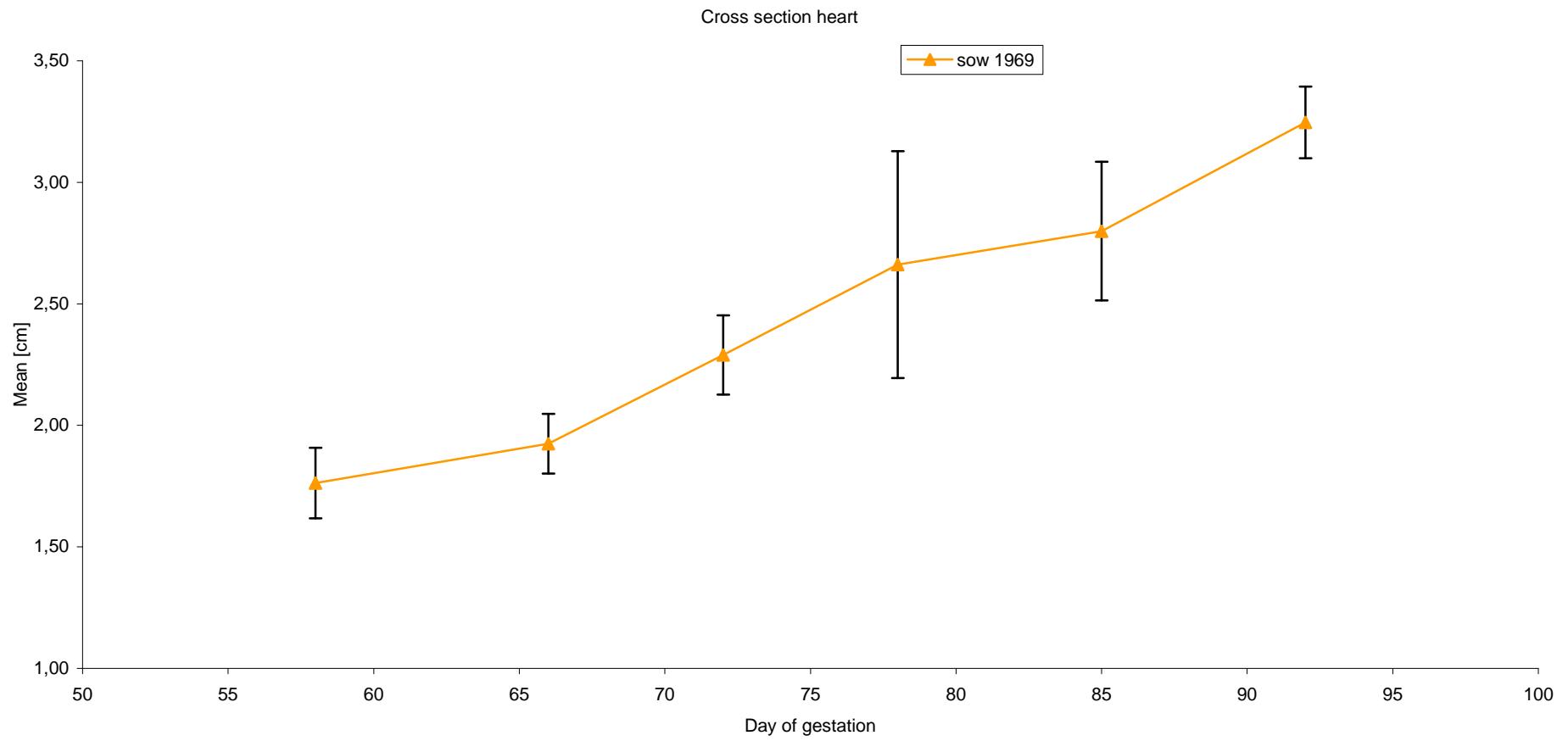


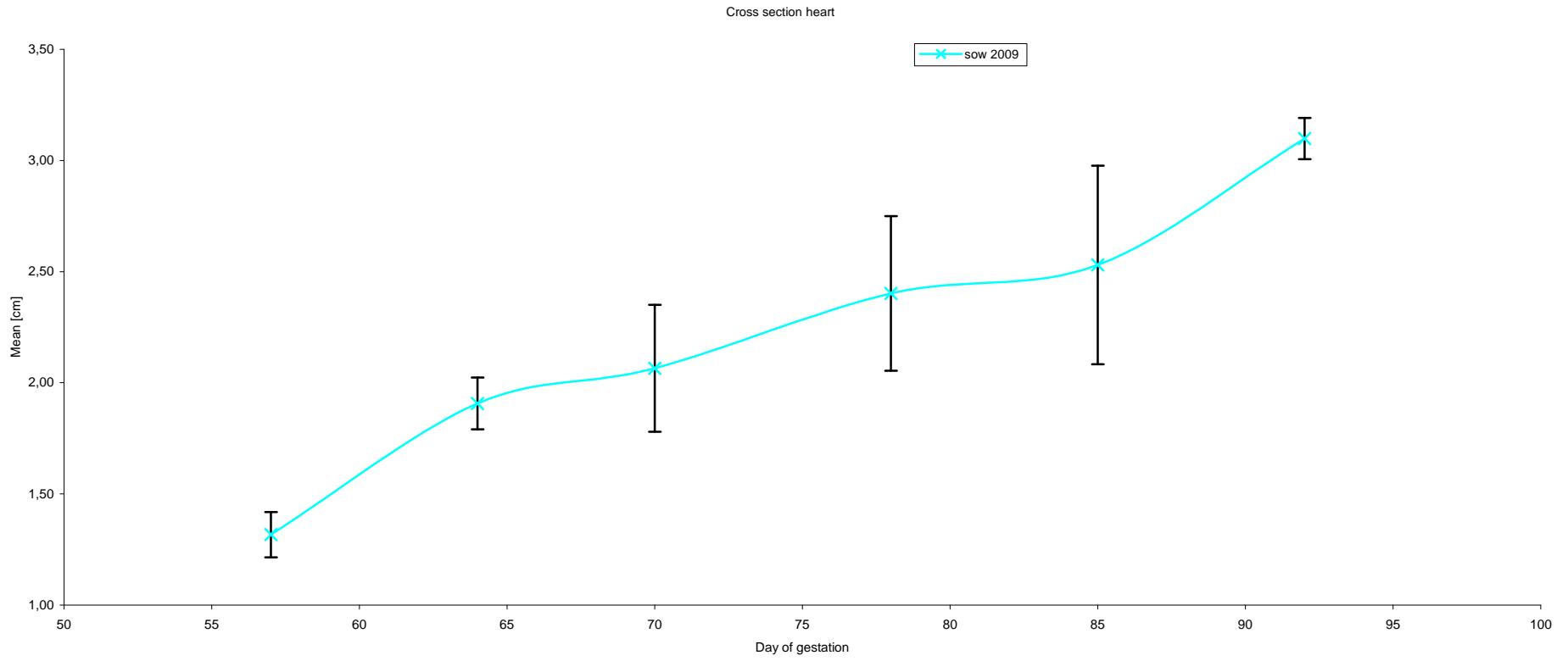
Cross section heart



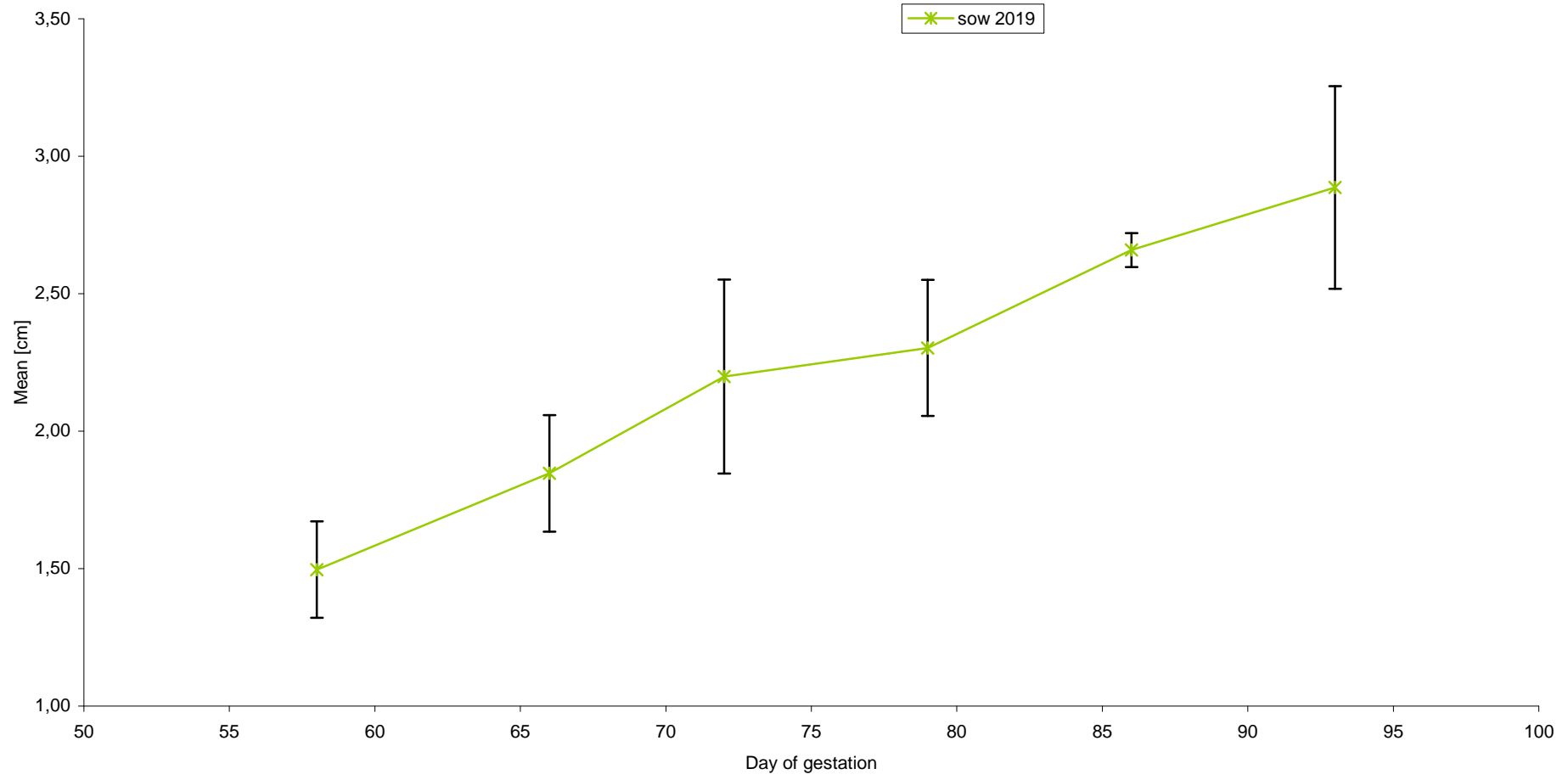
Cross section heart



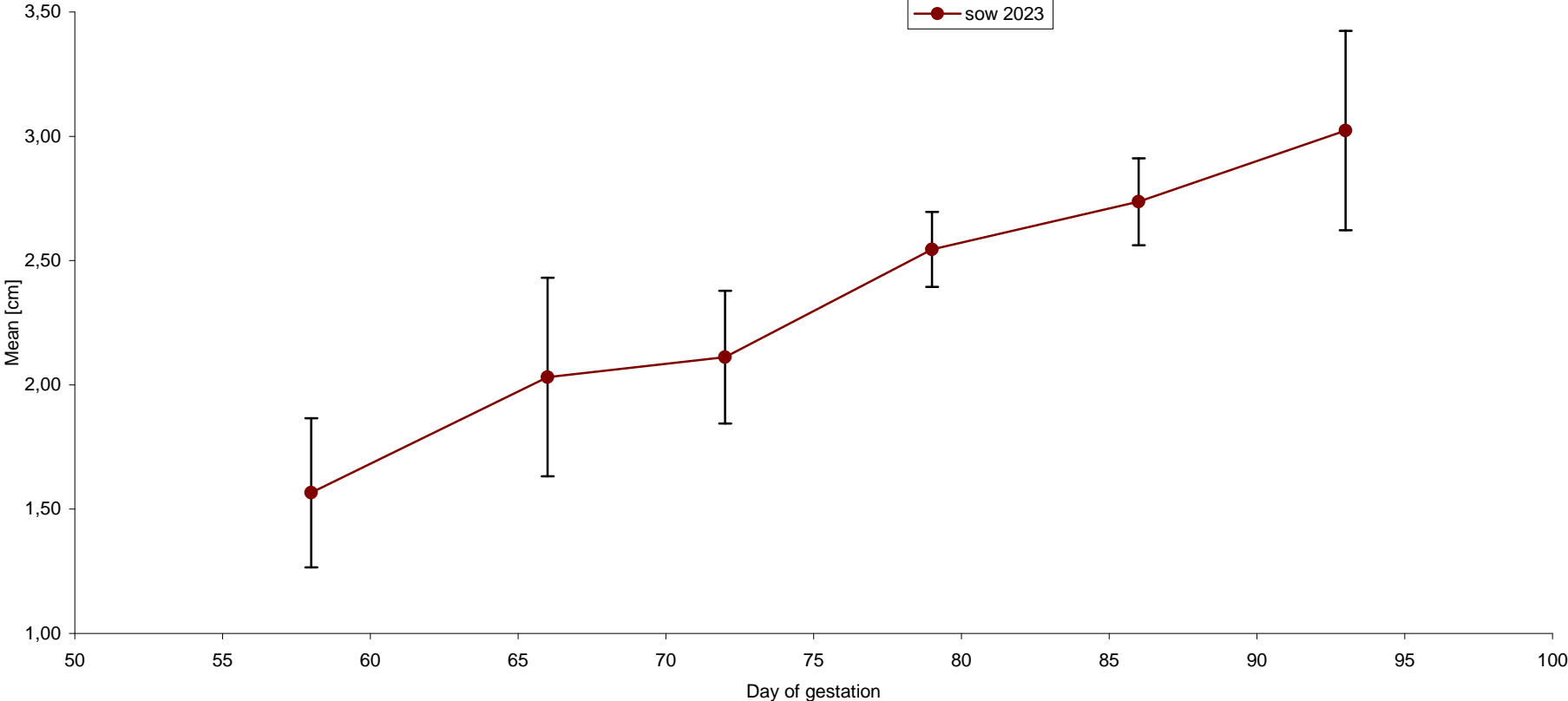


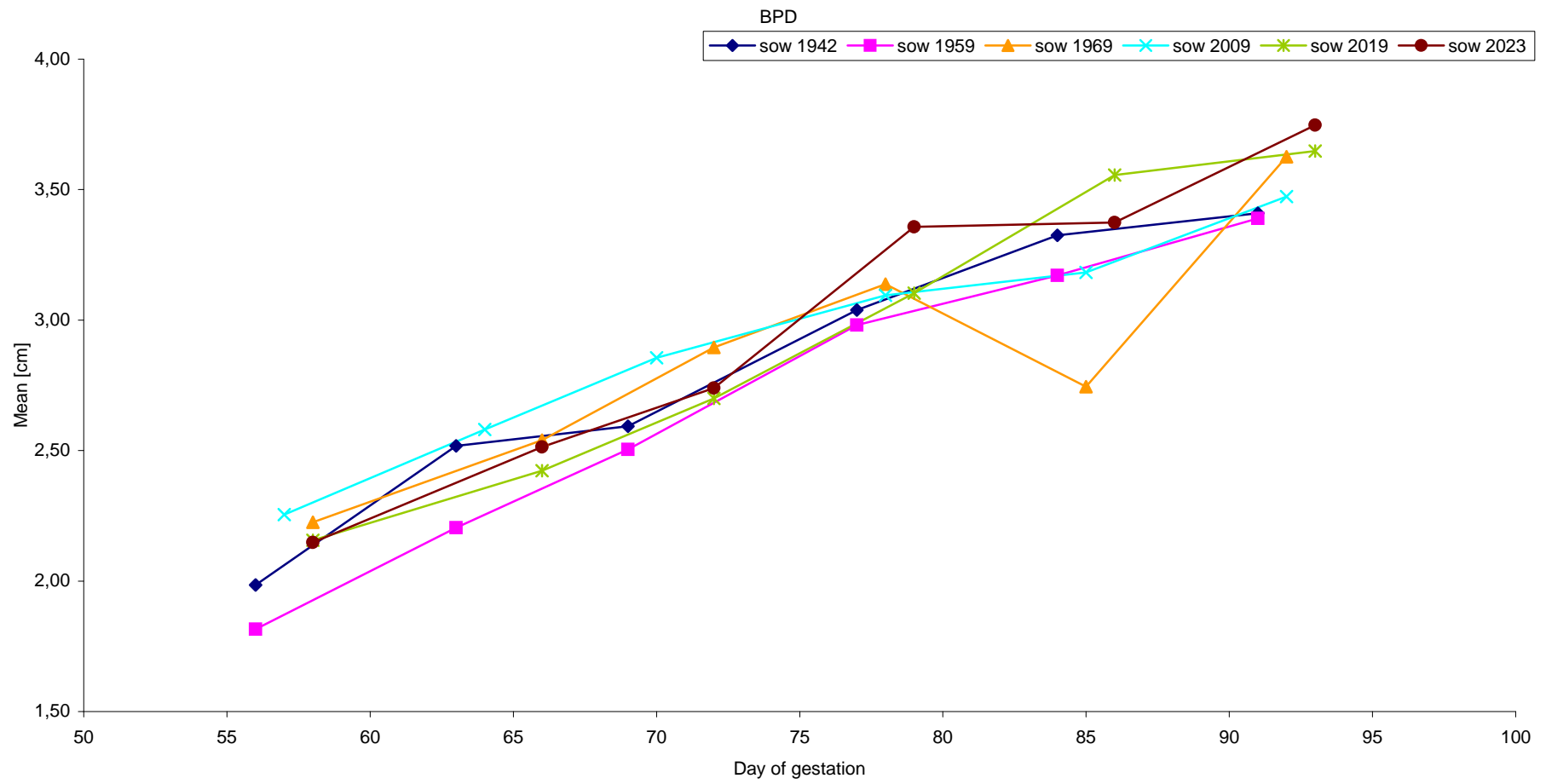


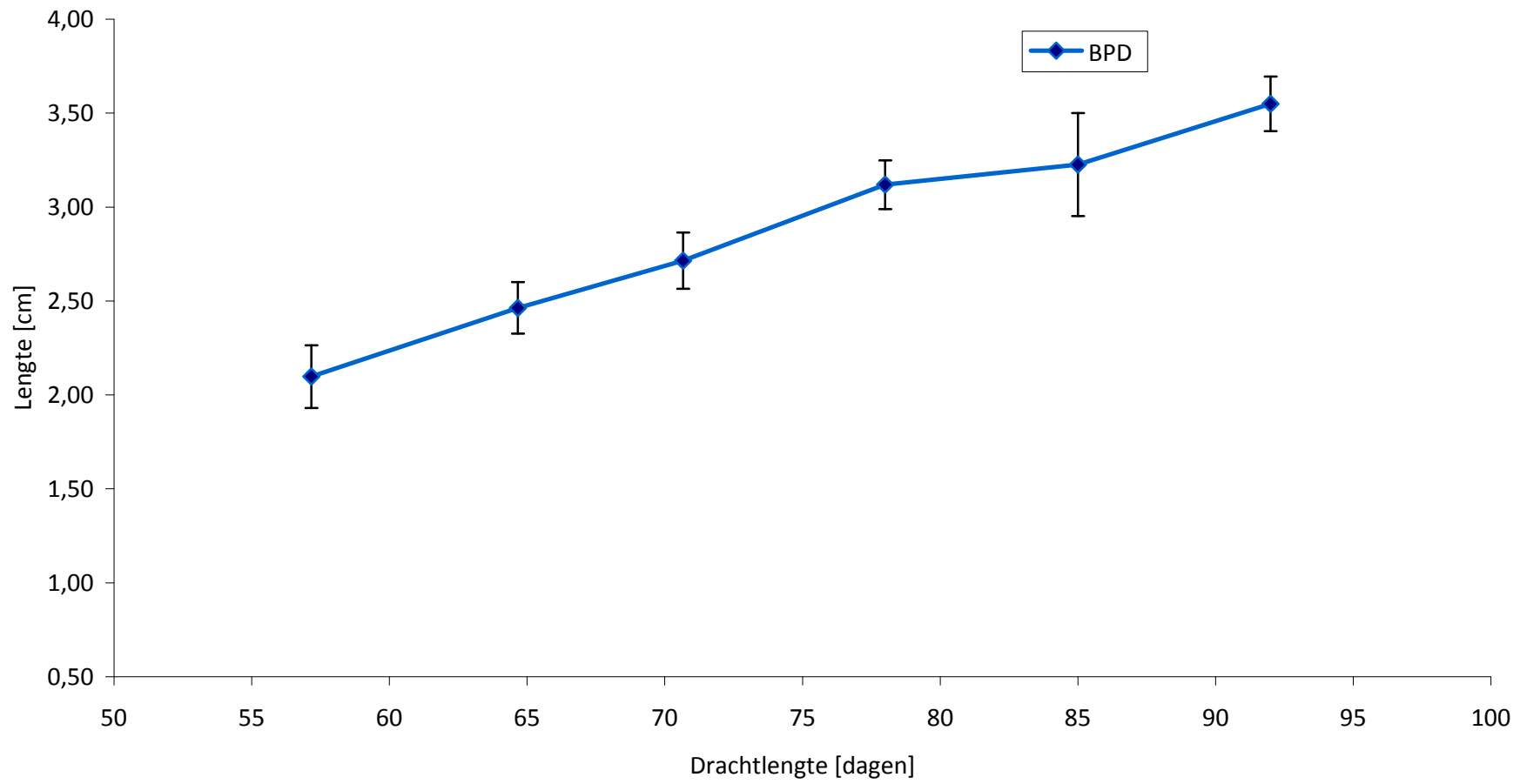
Cross section heart



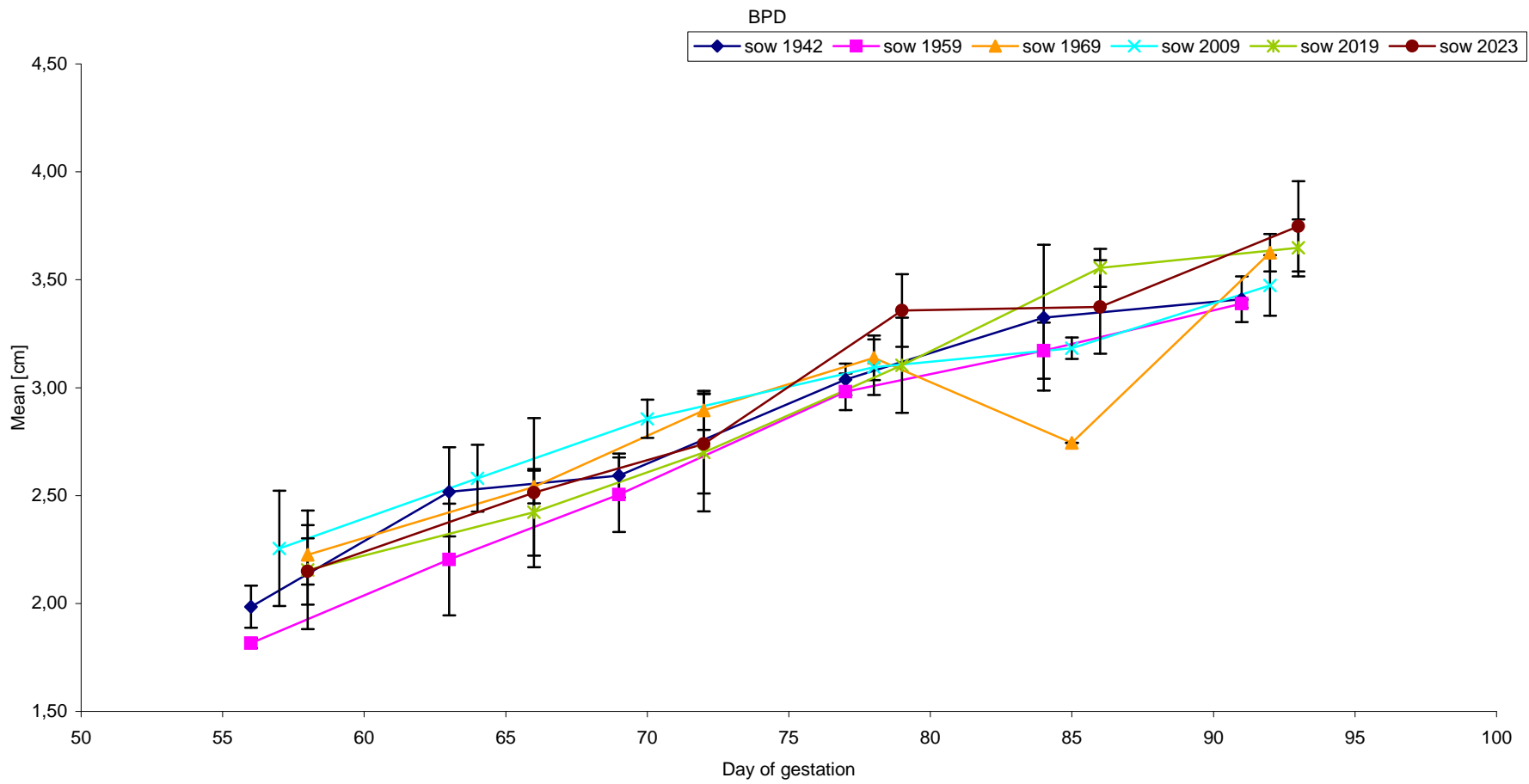
Cross section heart

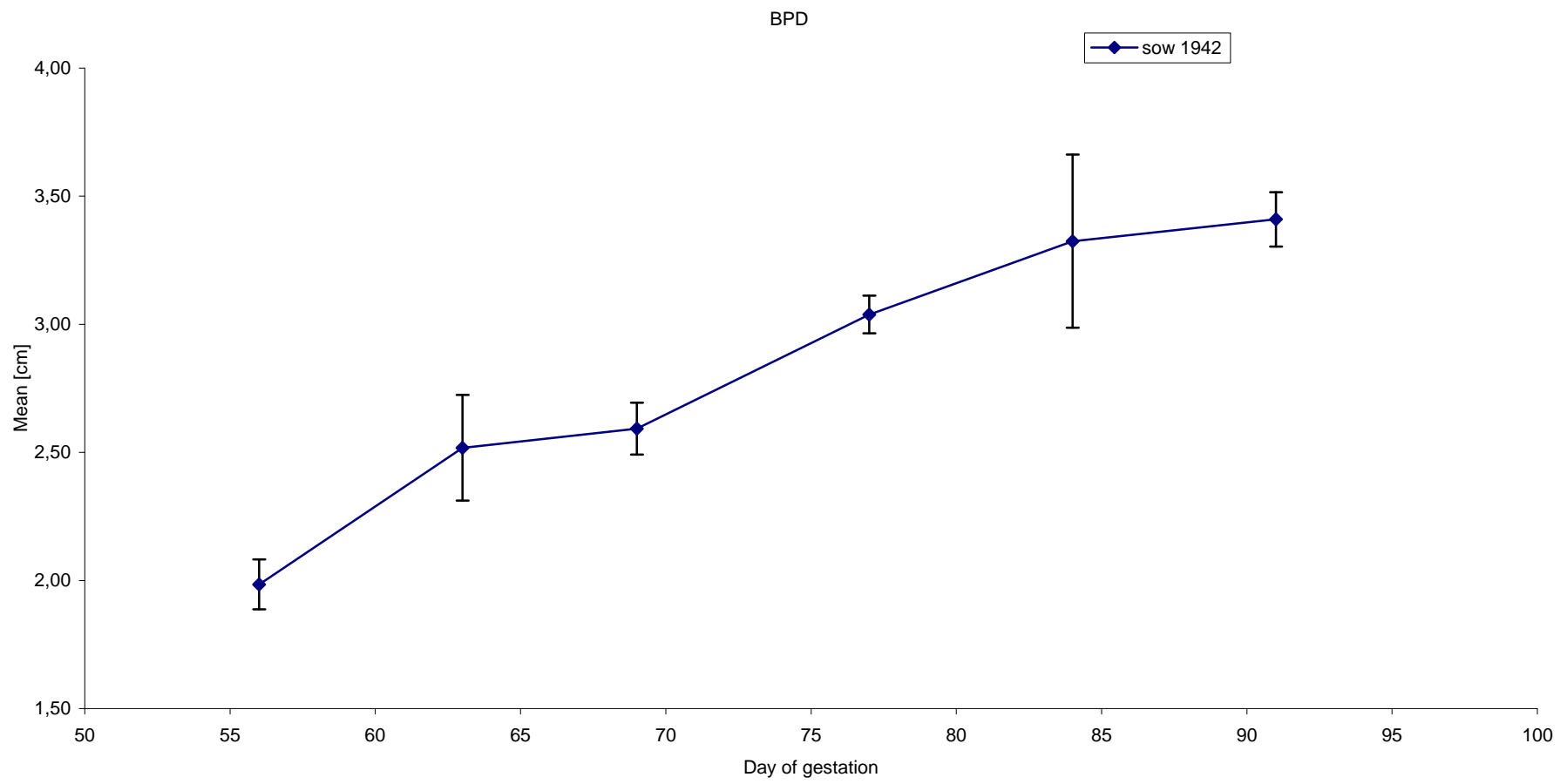


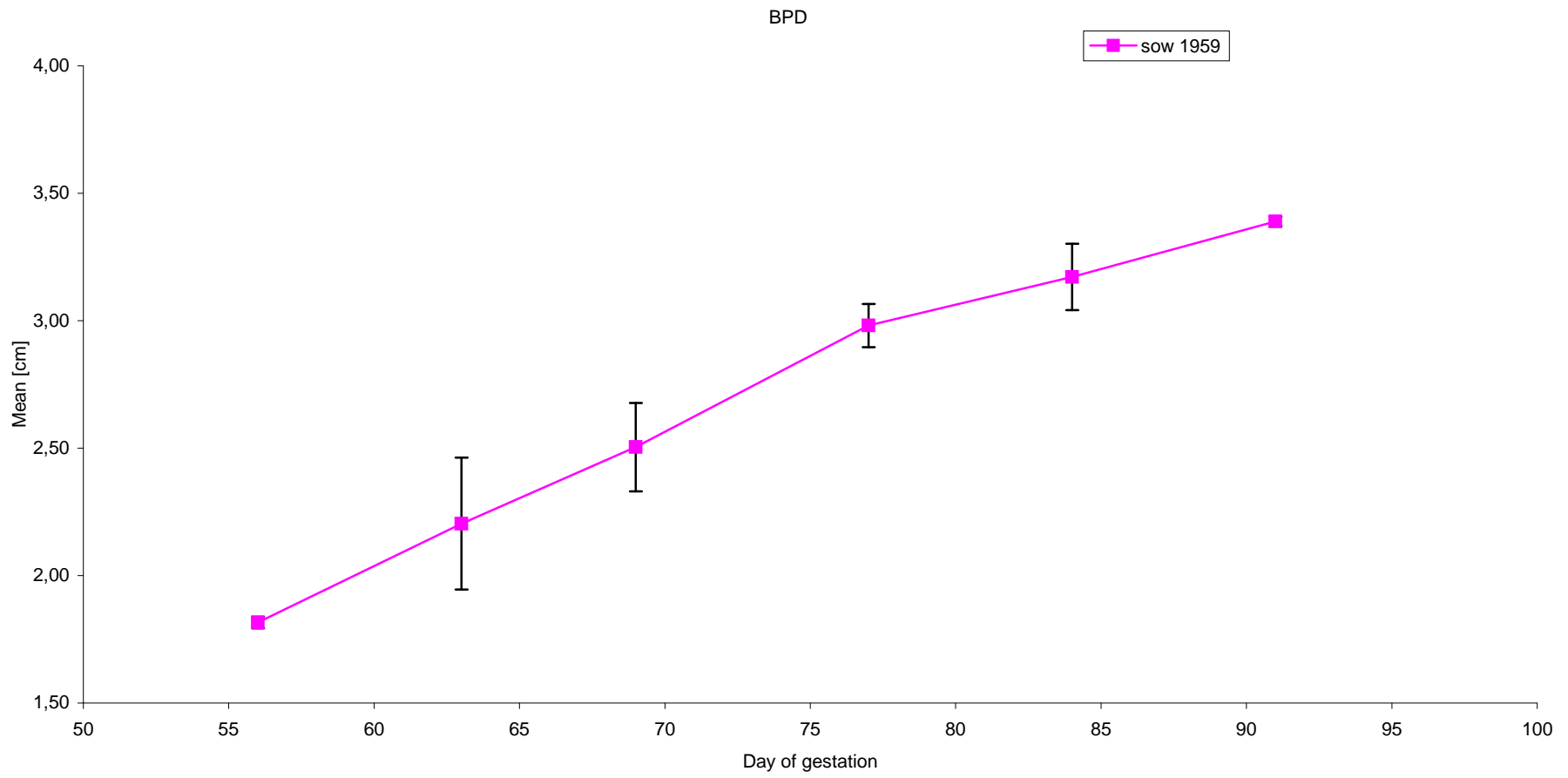


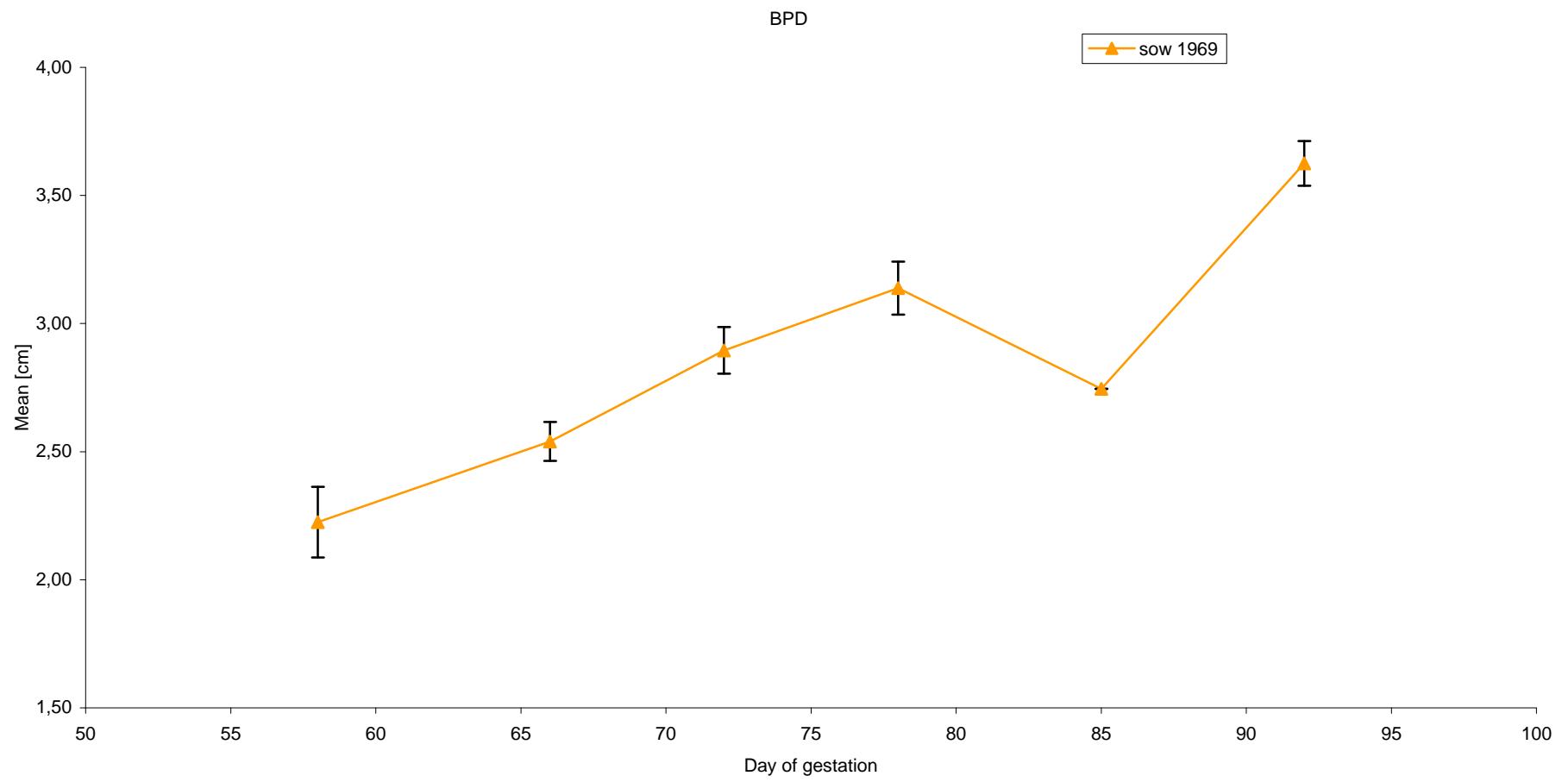


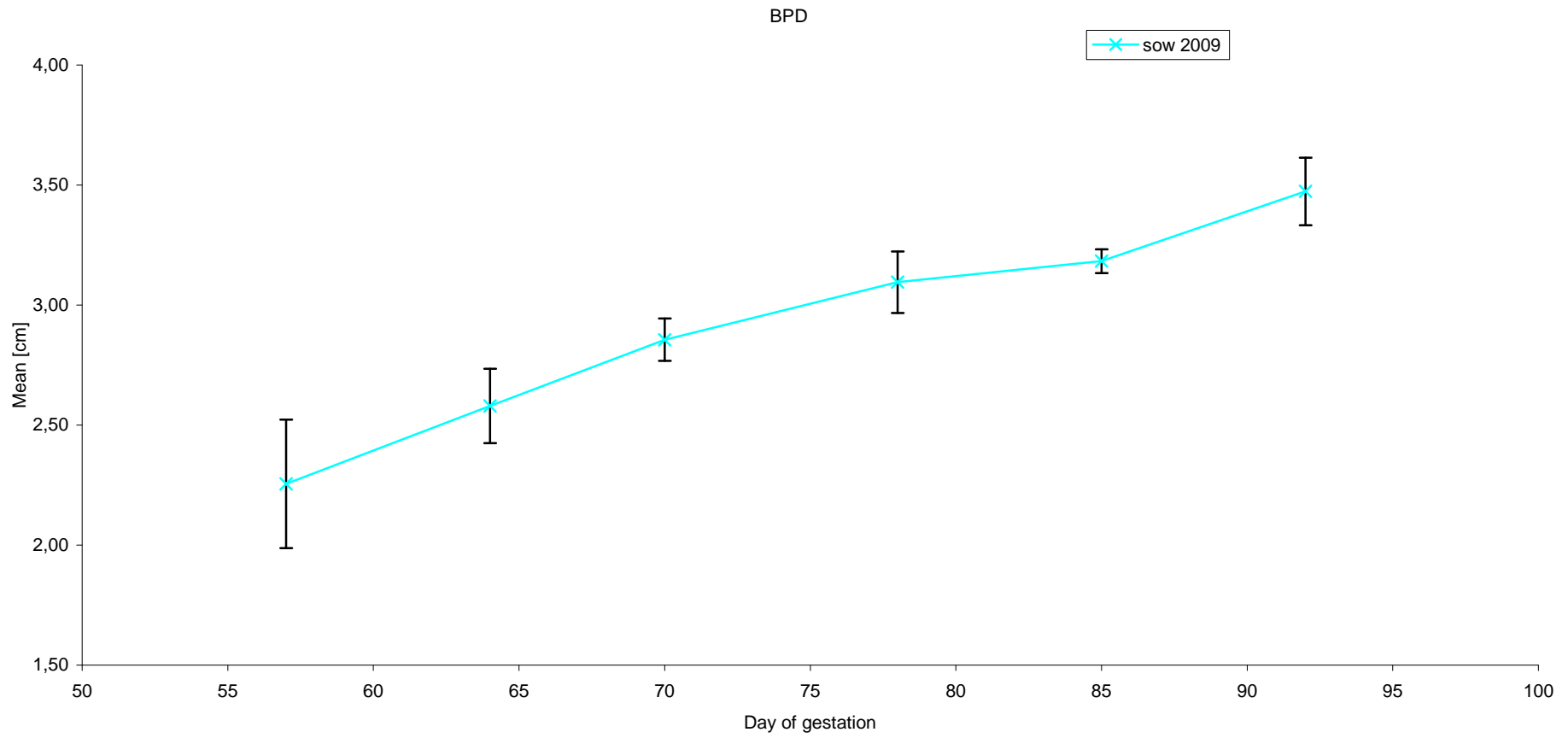
Figuur 5: Toename van de lengte van de BPD tijdens dag 50-100 van de dracht.

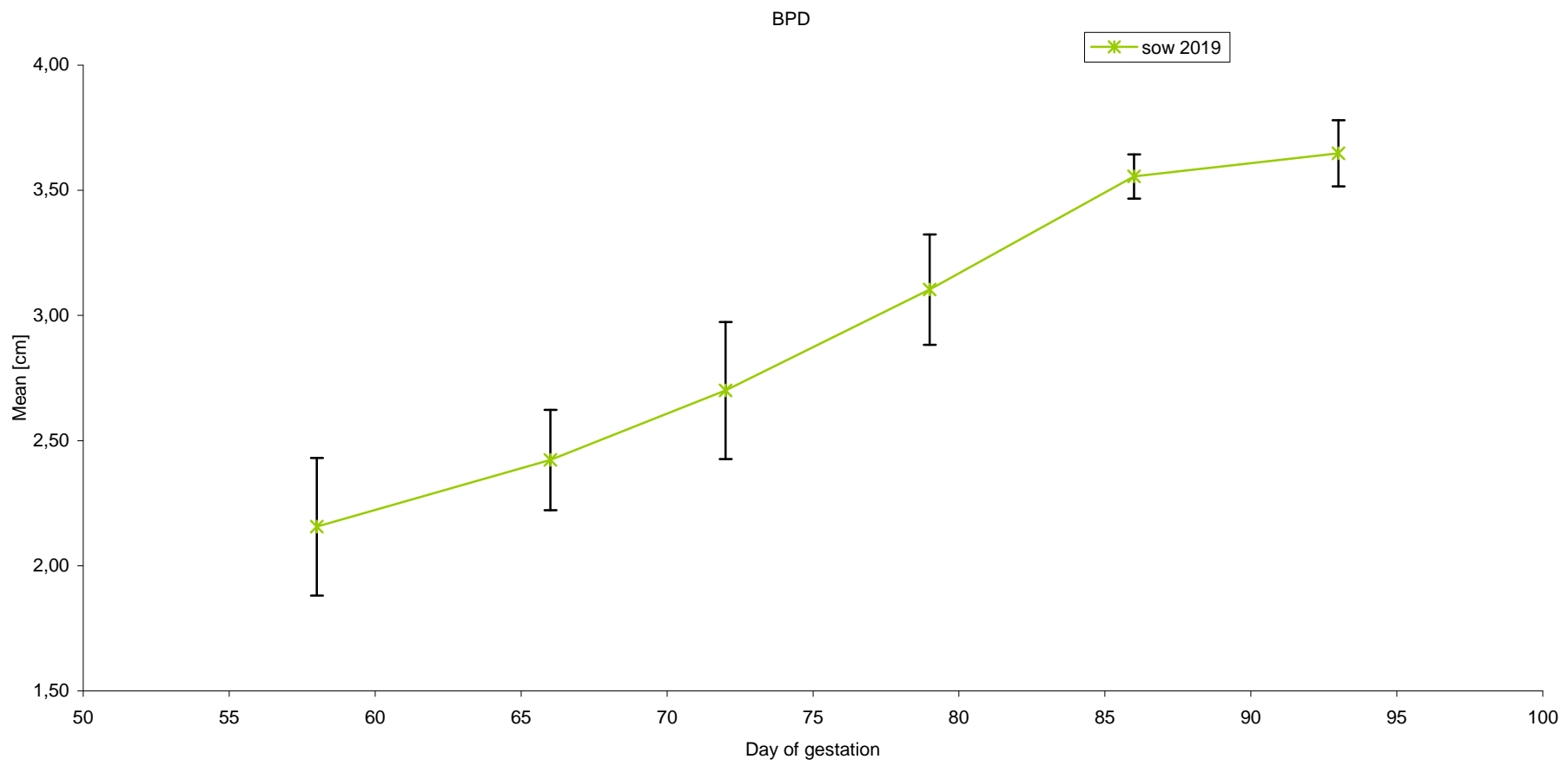




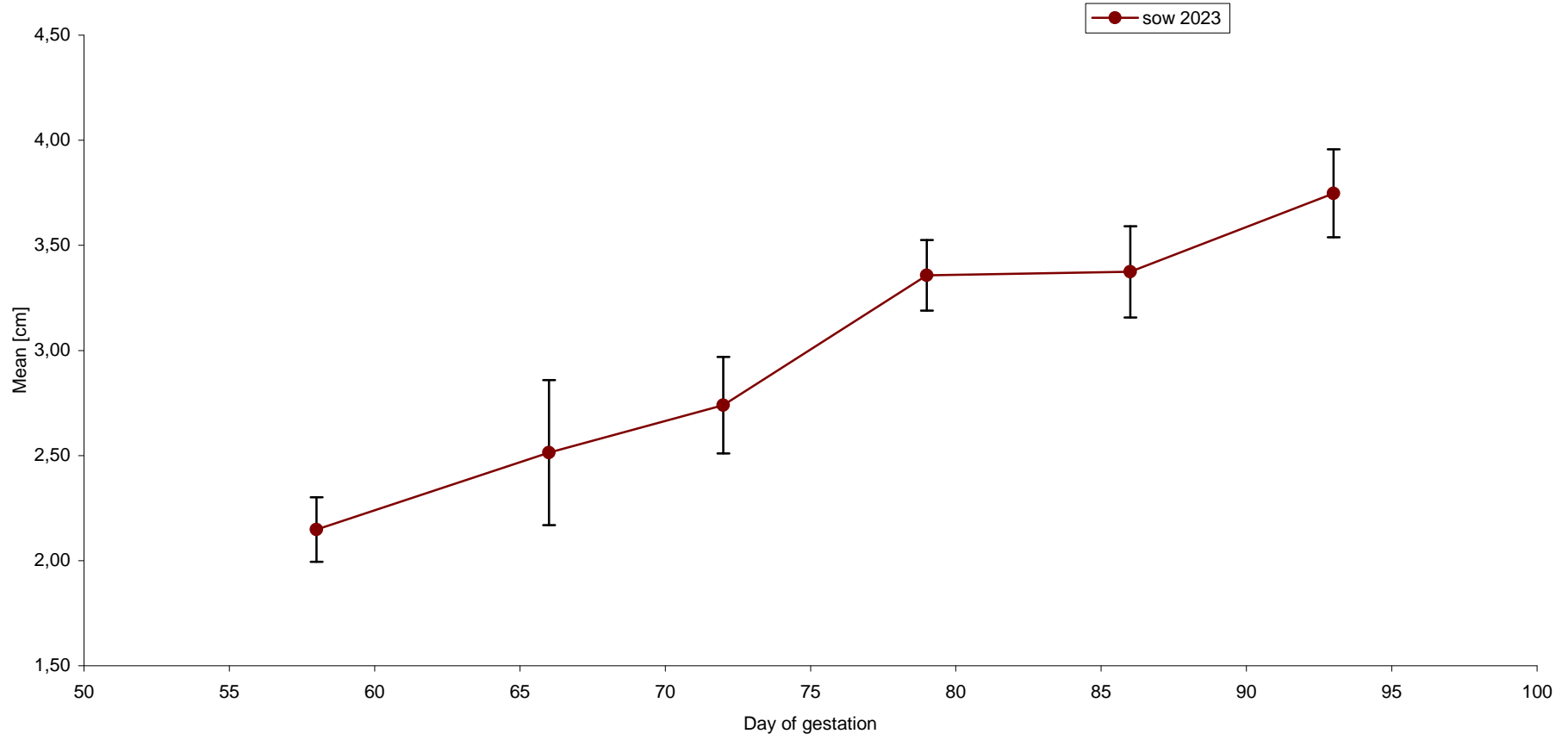


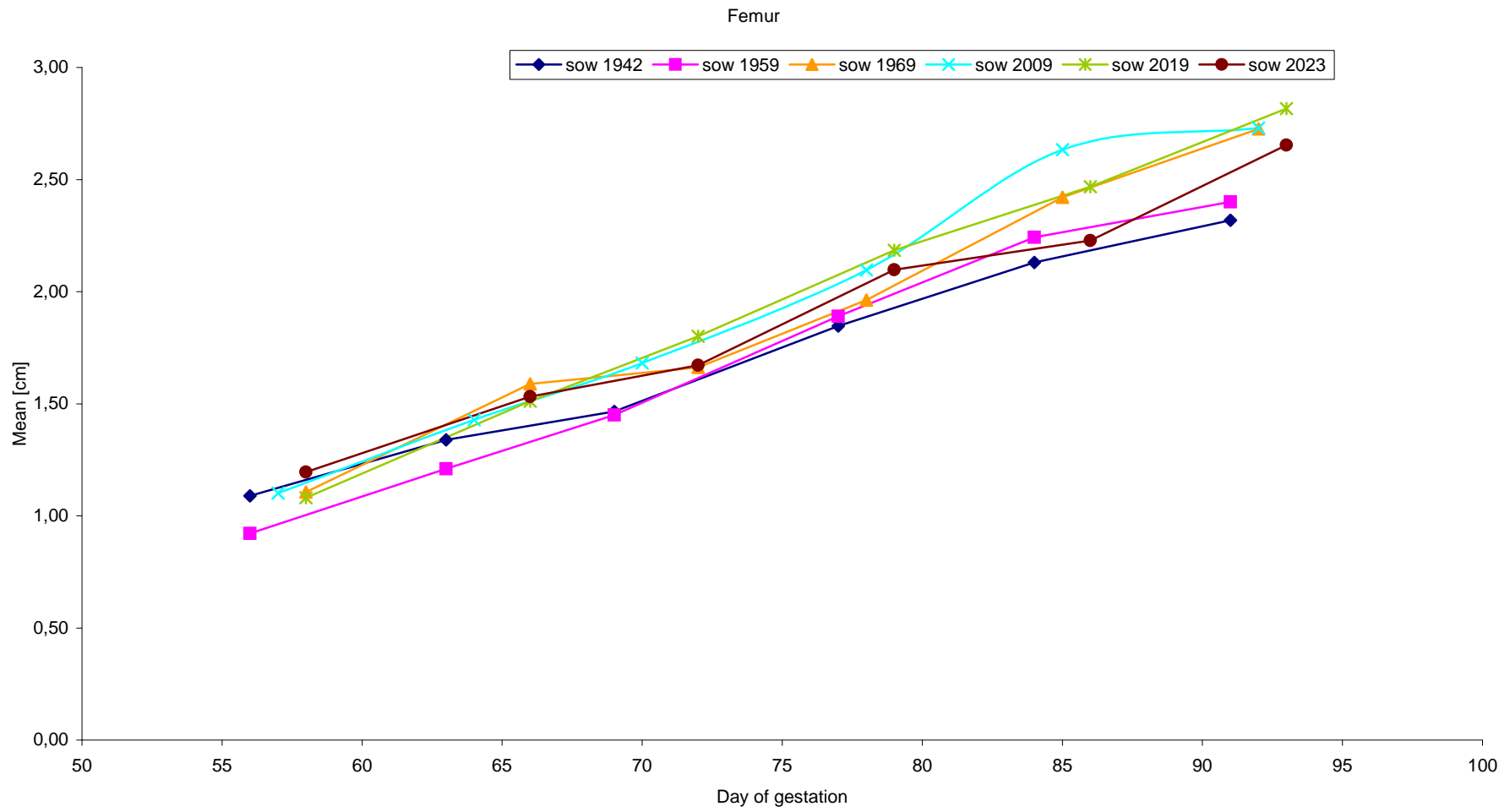


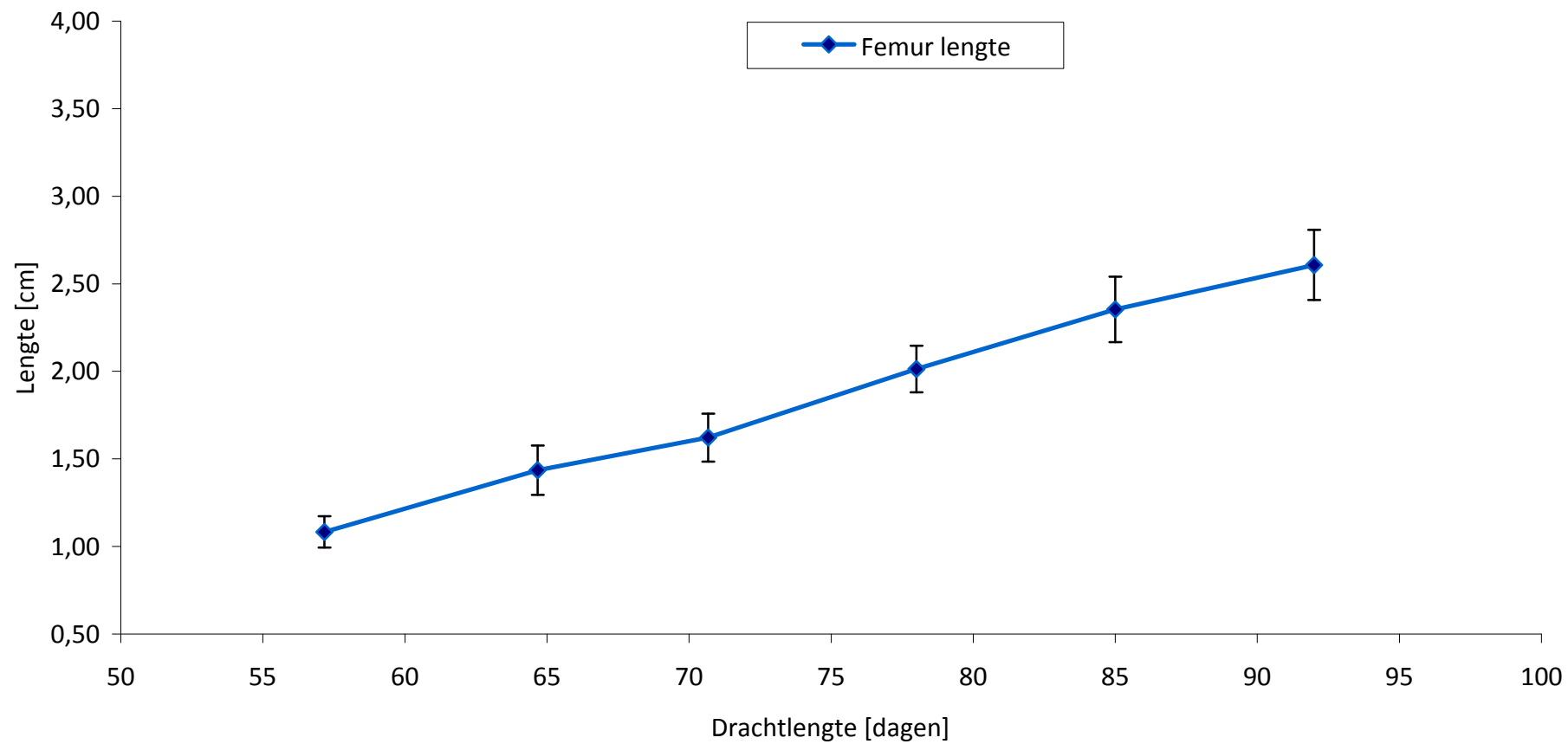




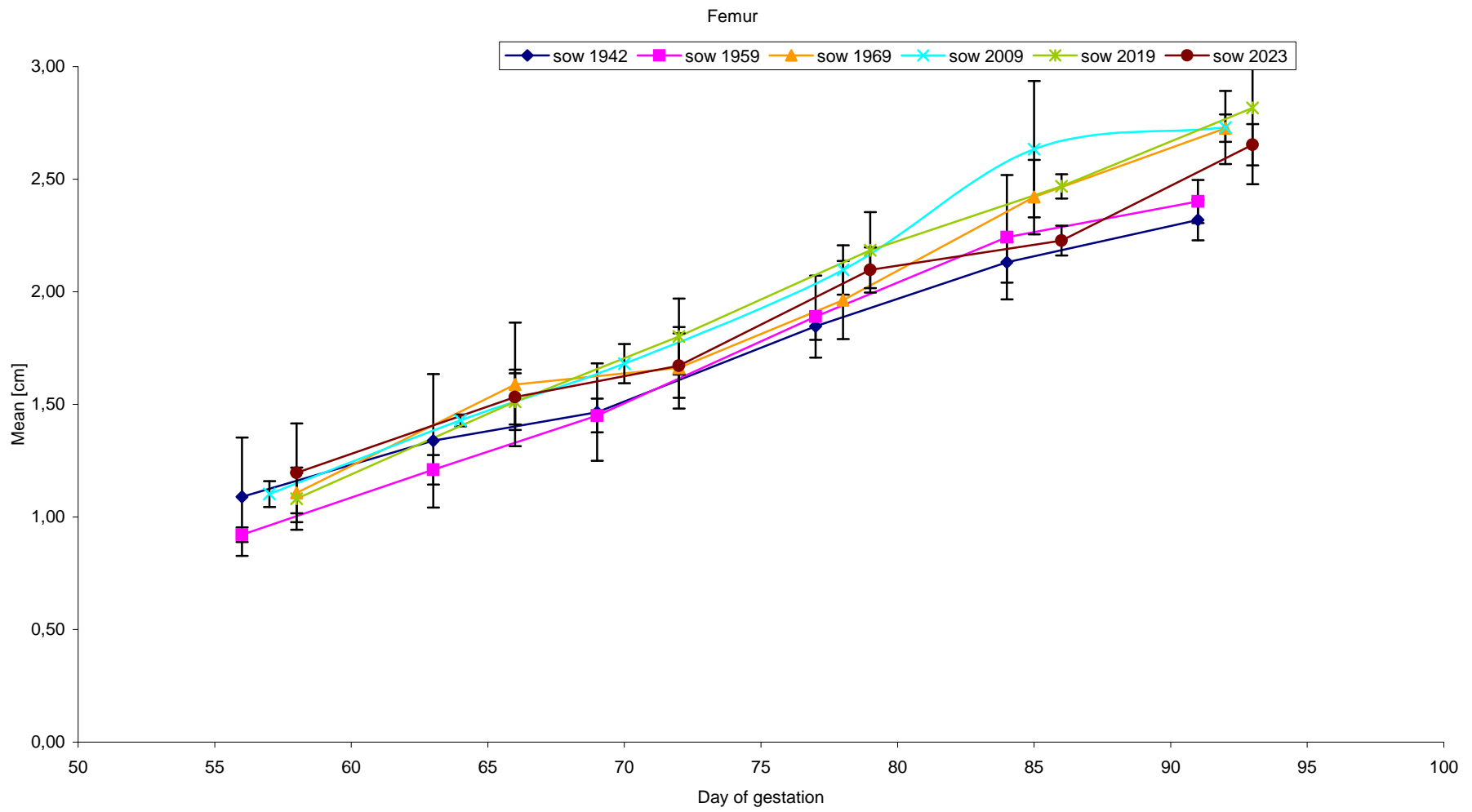
BPD

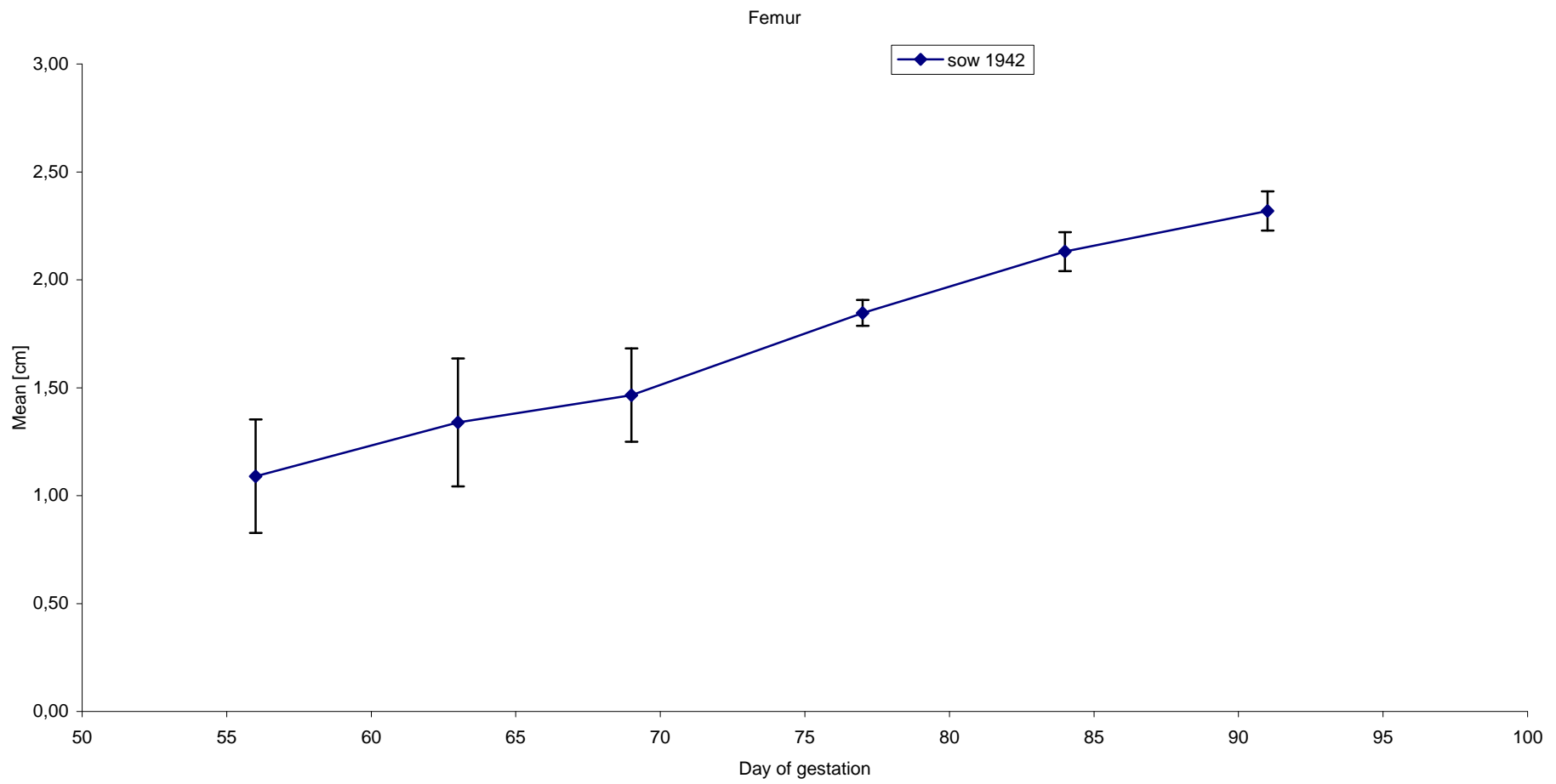


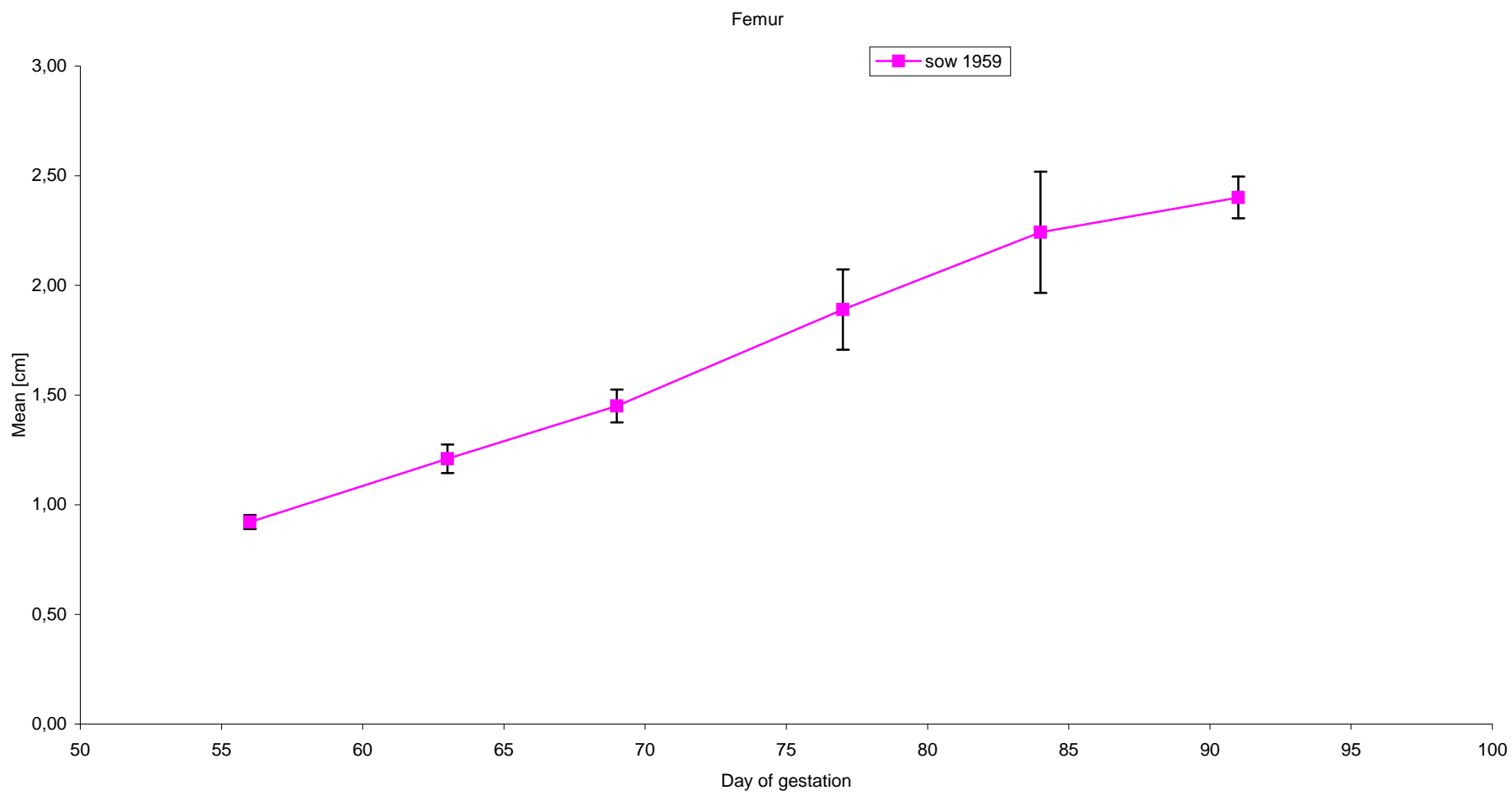


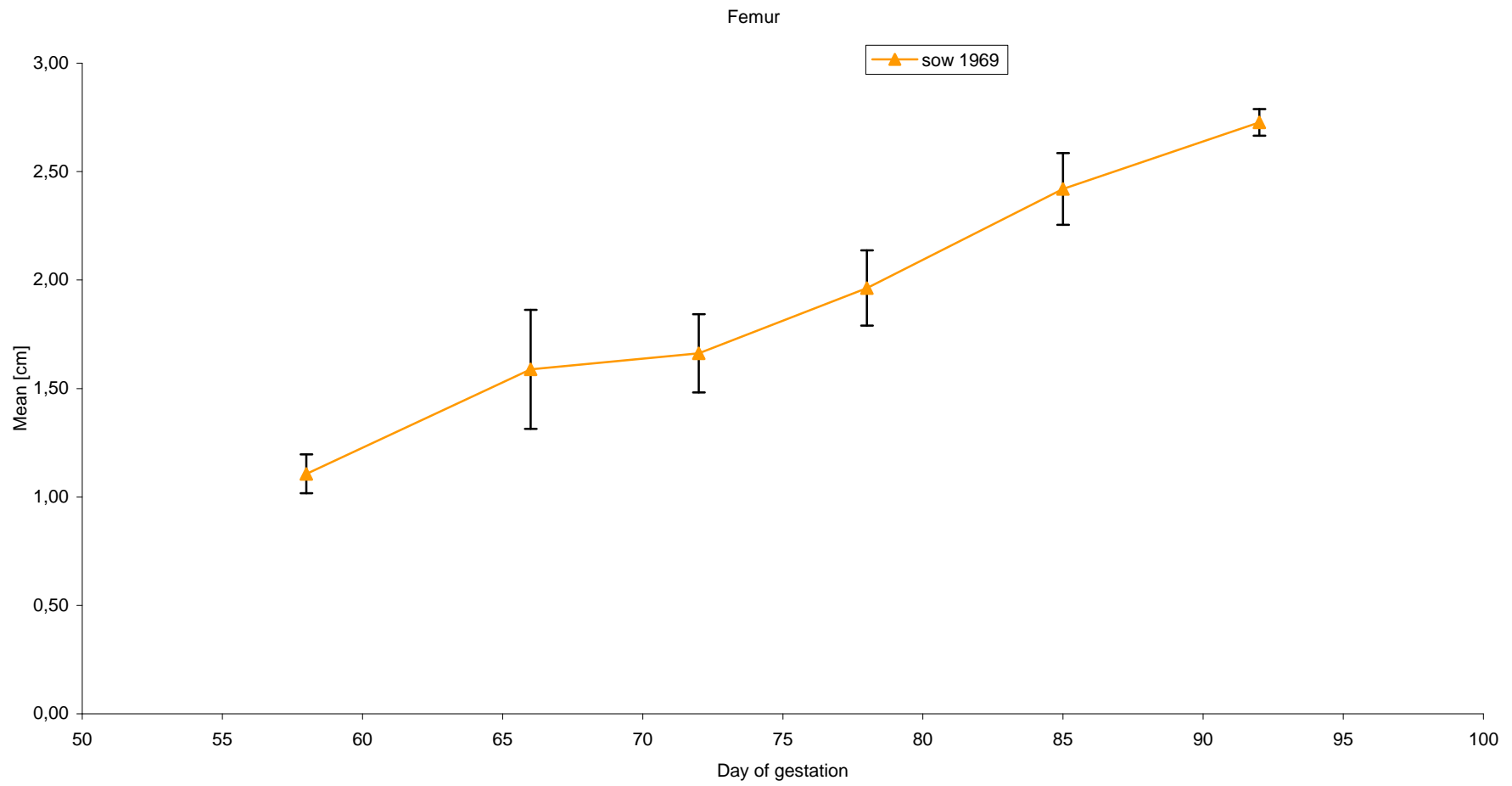


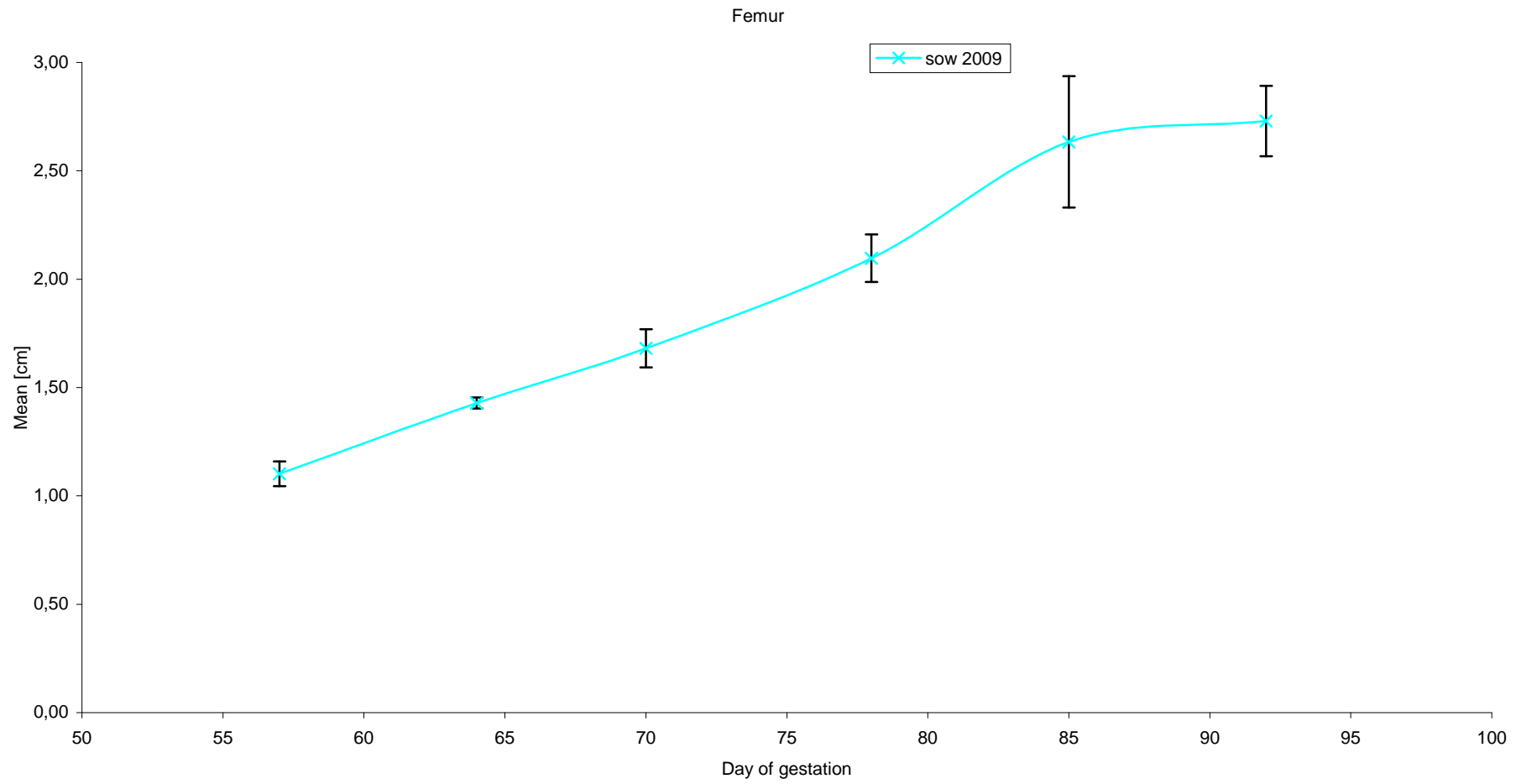
Figuur 6: Toename van de femur lengte tijdens dag 50-100 van de dracht.

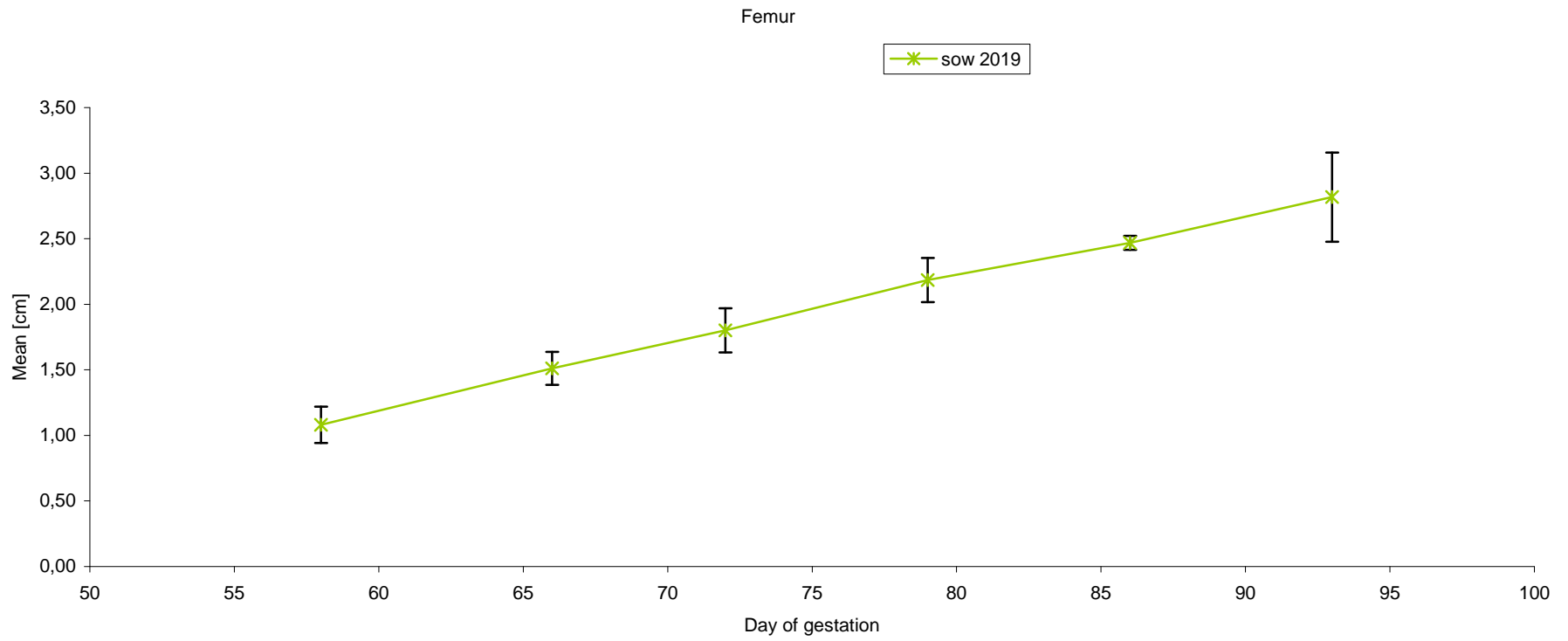


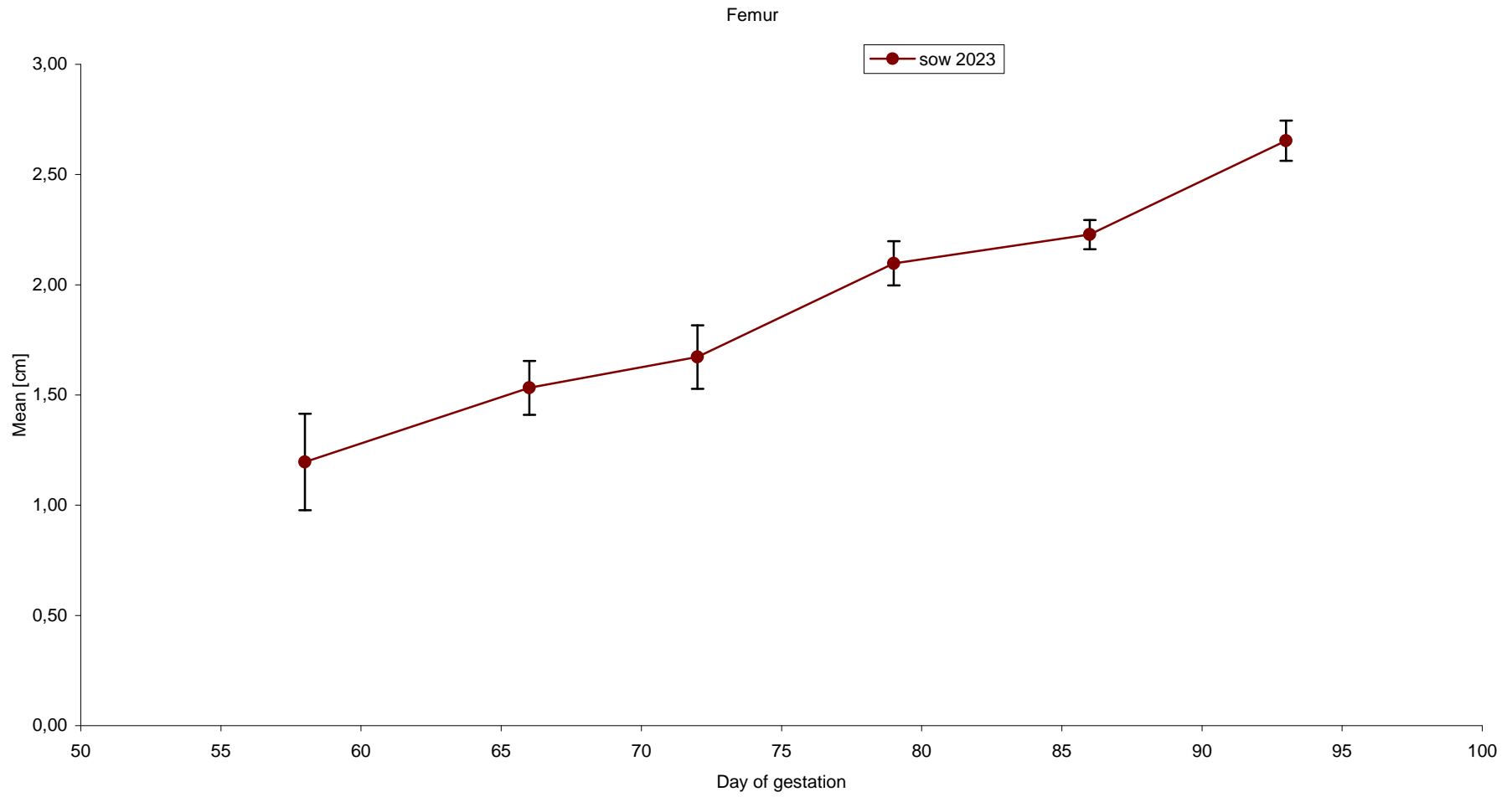


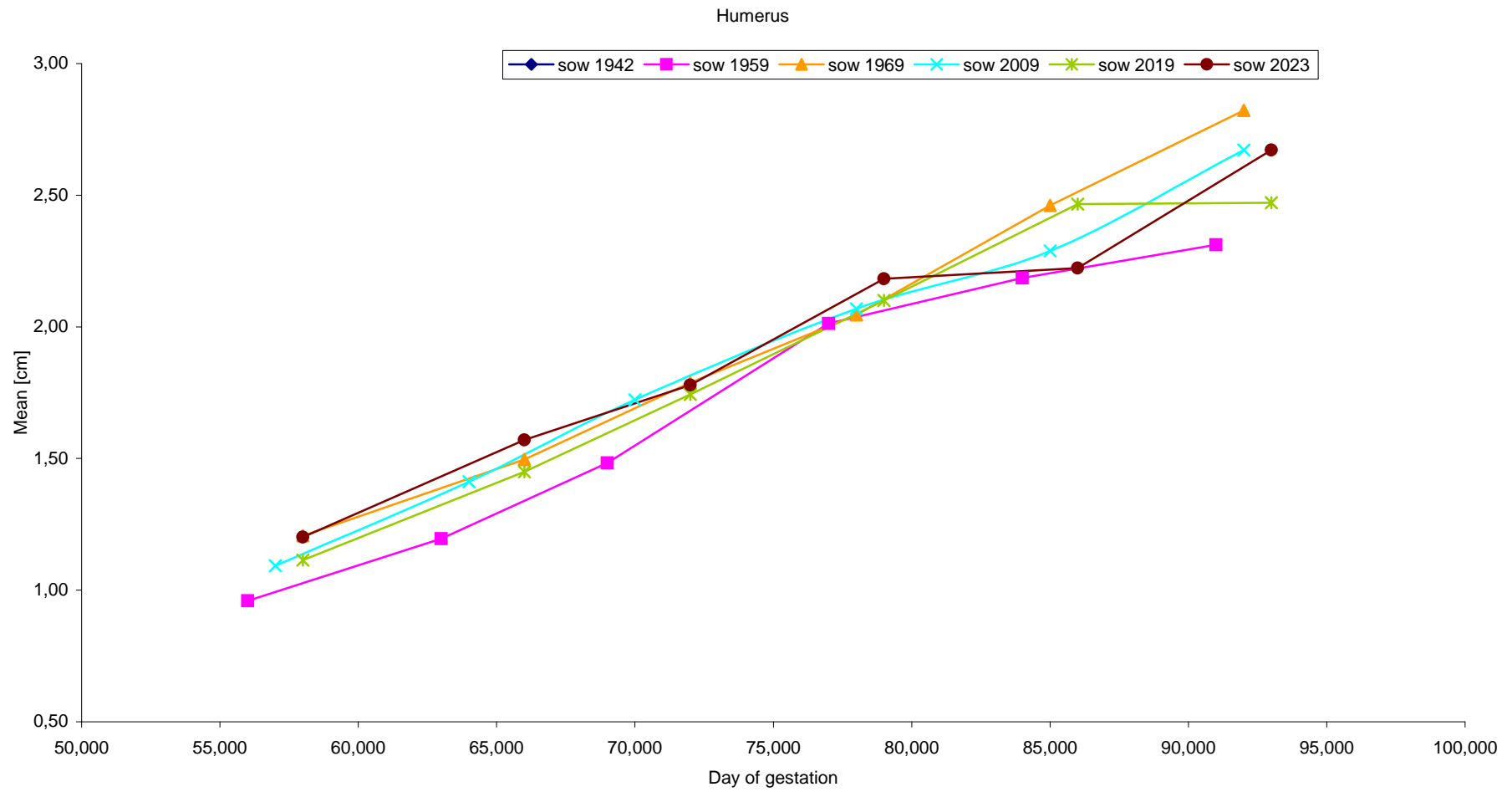


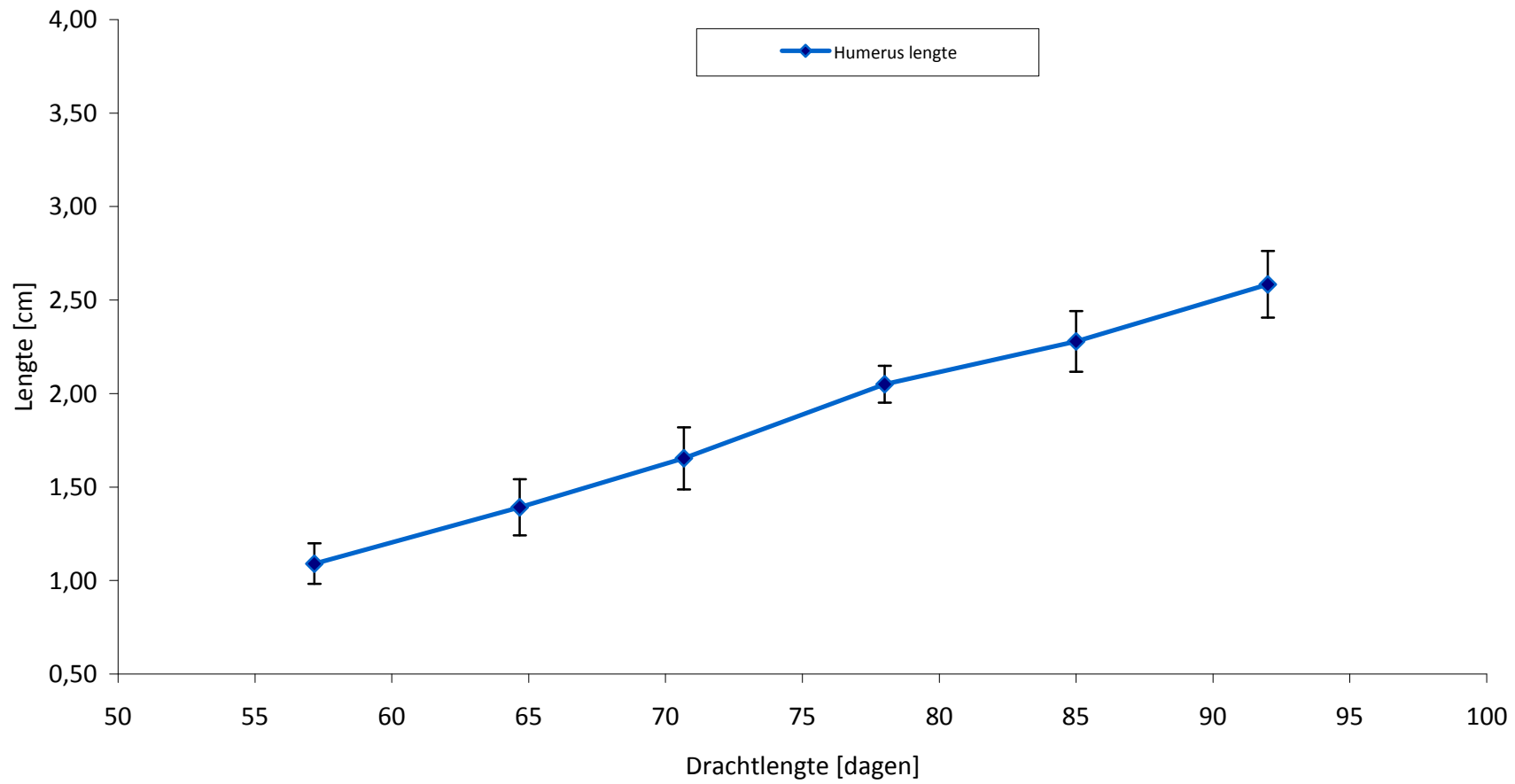




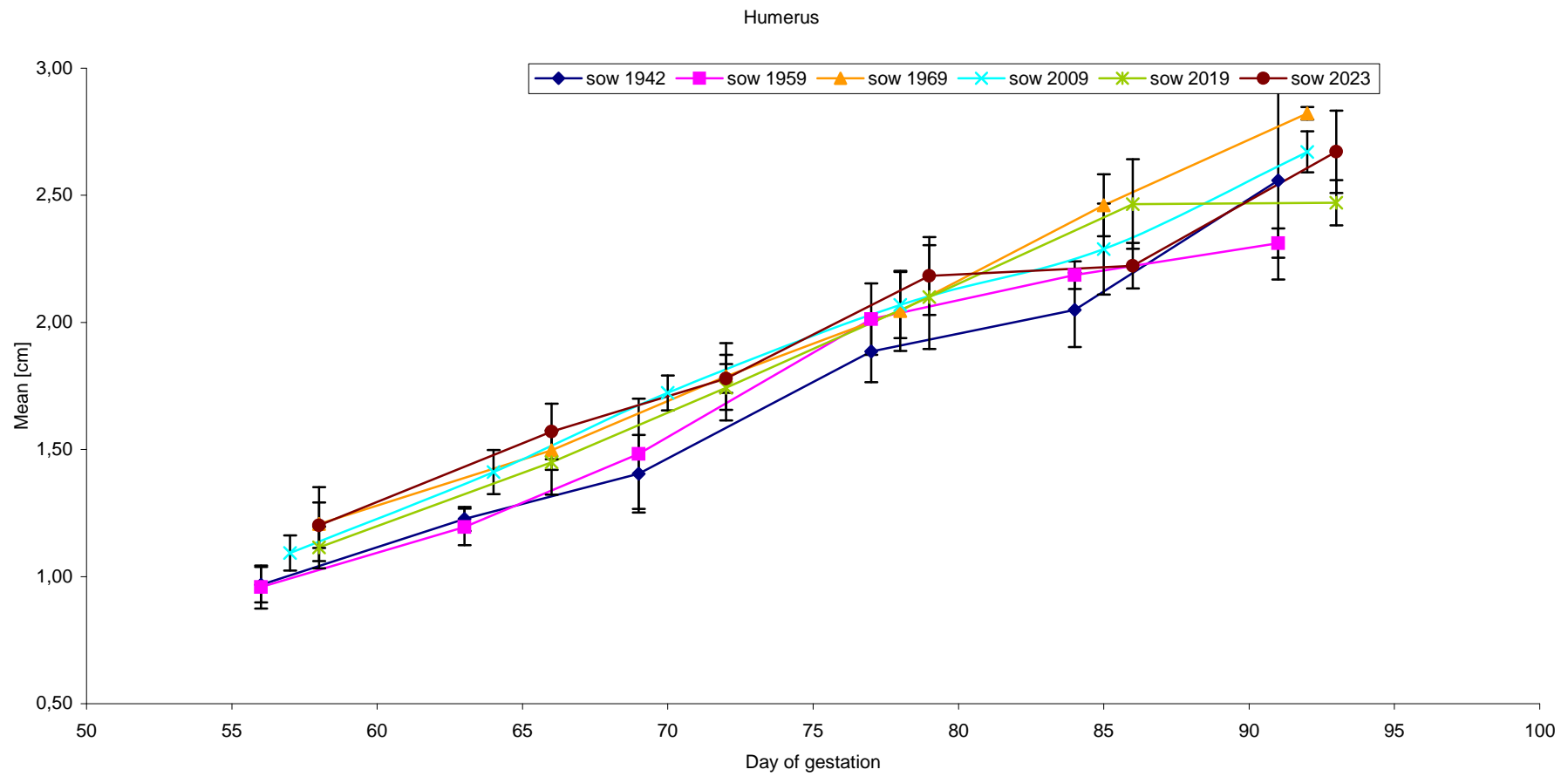


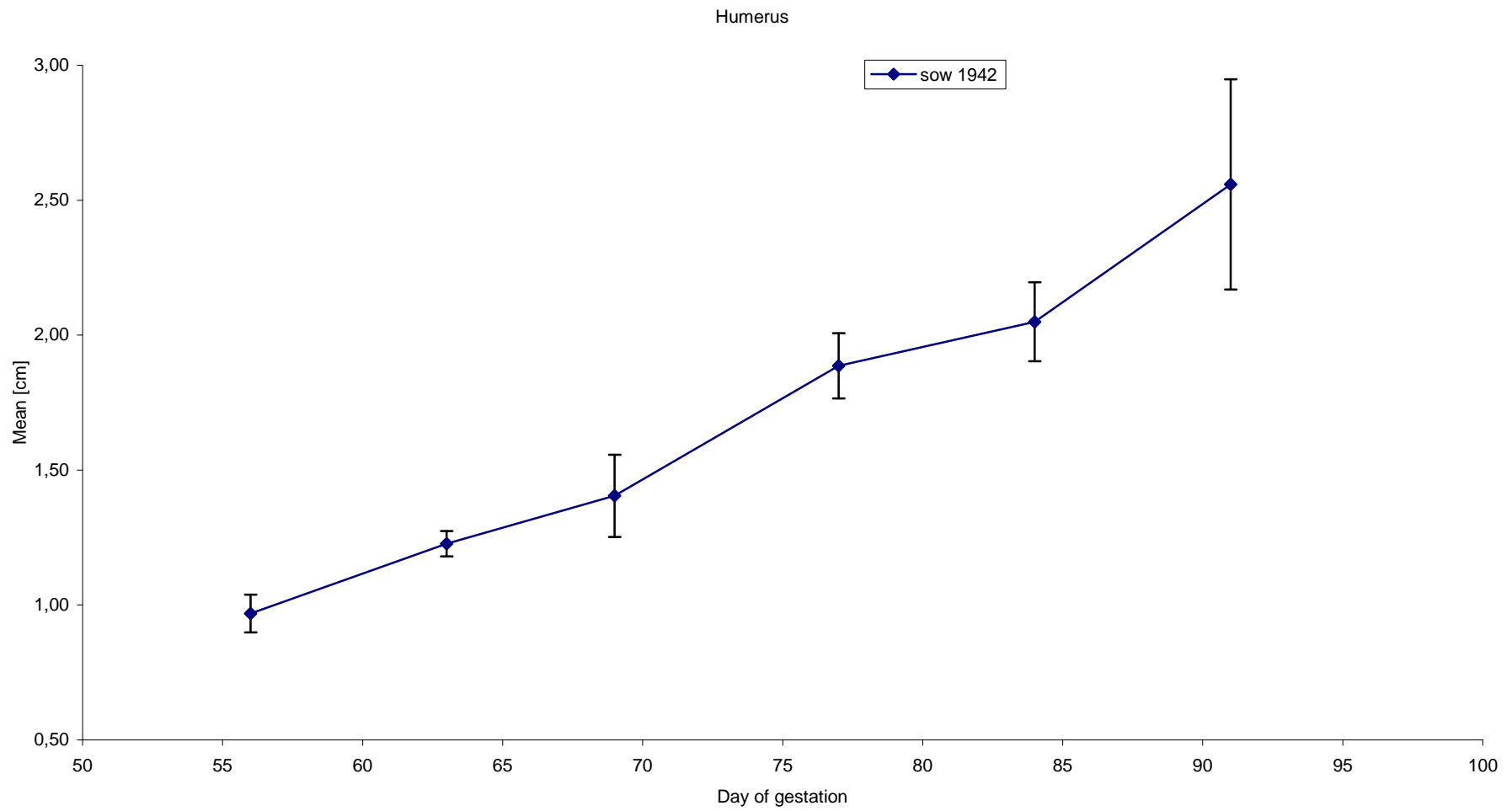


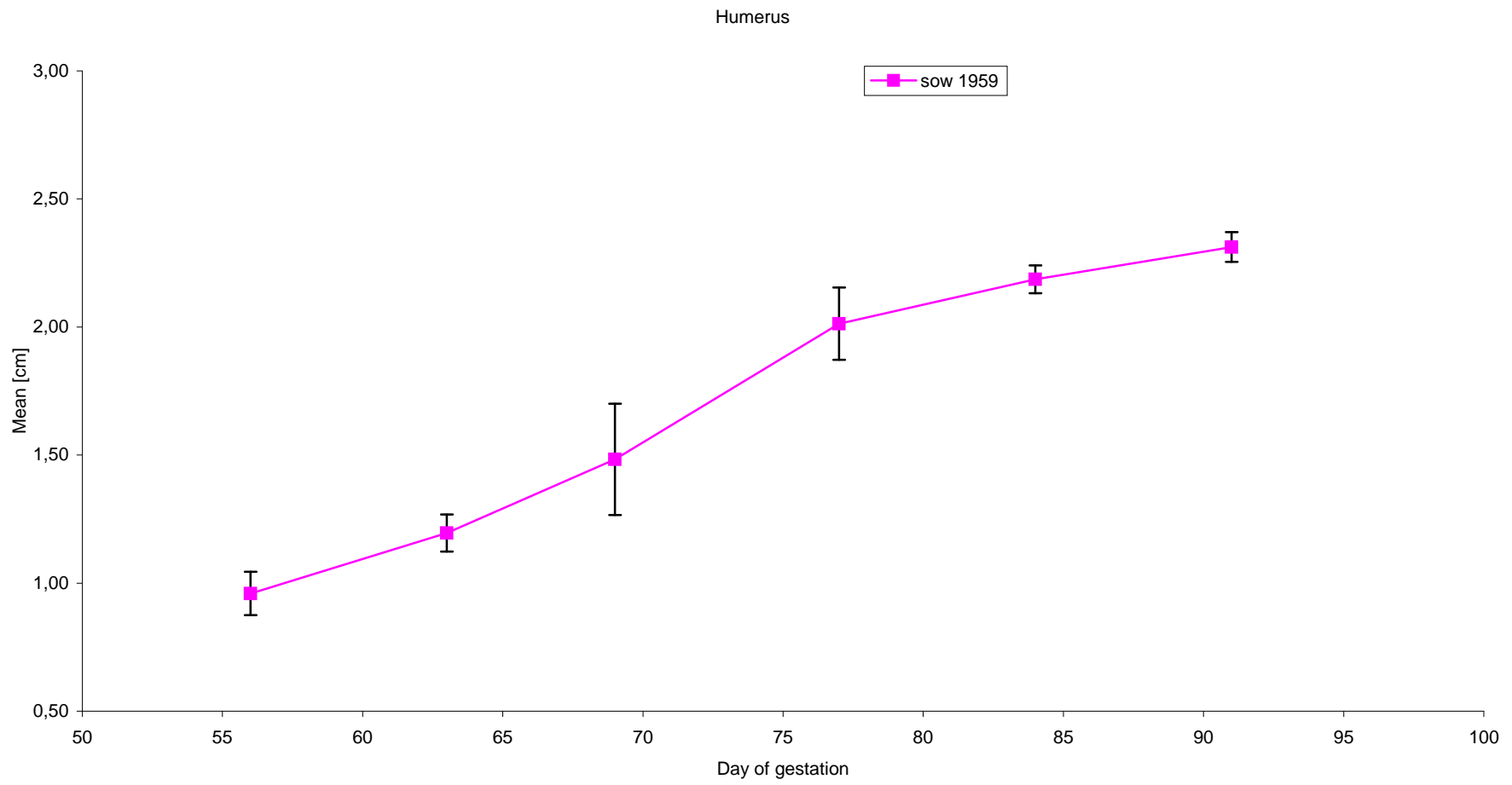




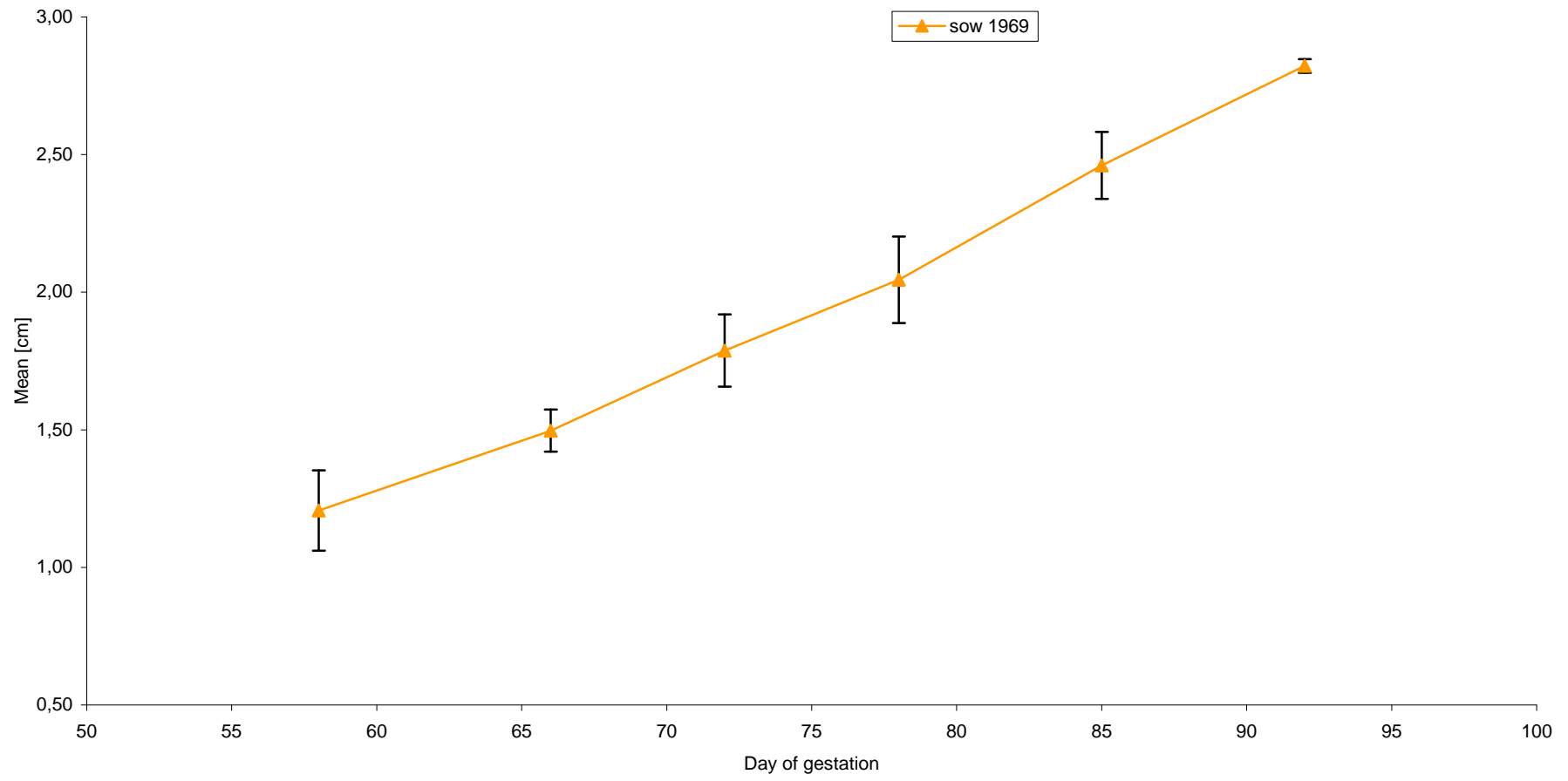
Figuur 7. Toename van de humerus lengte tijdens dag 50-100 van de dracht.

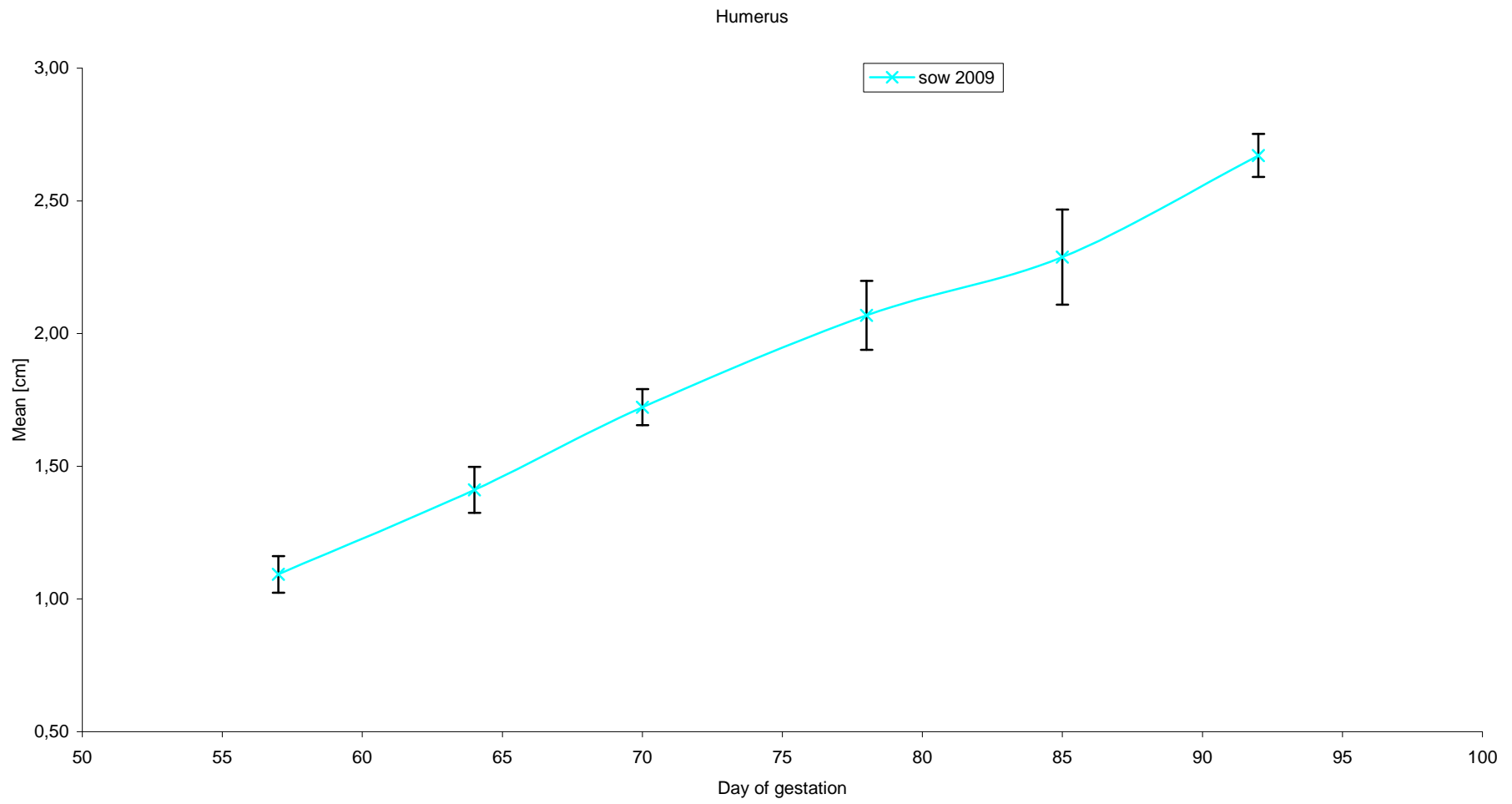




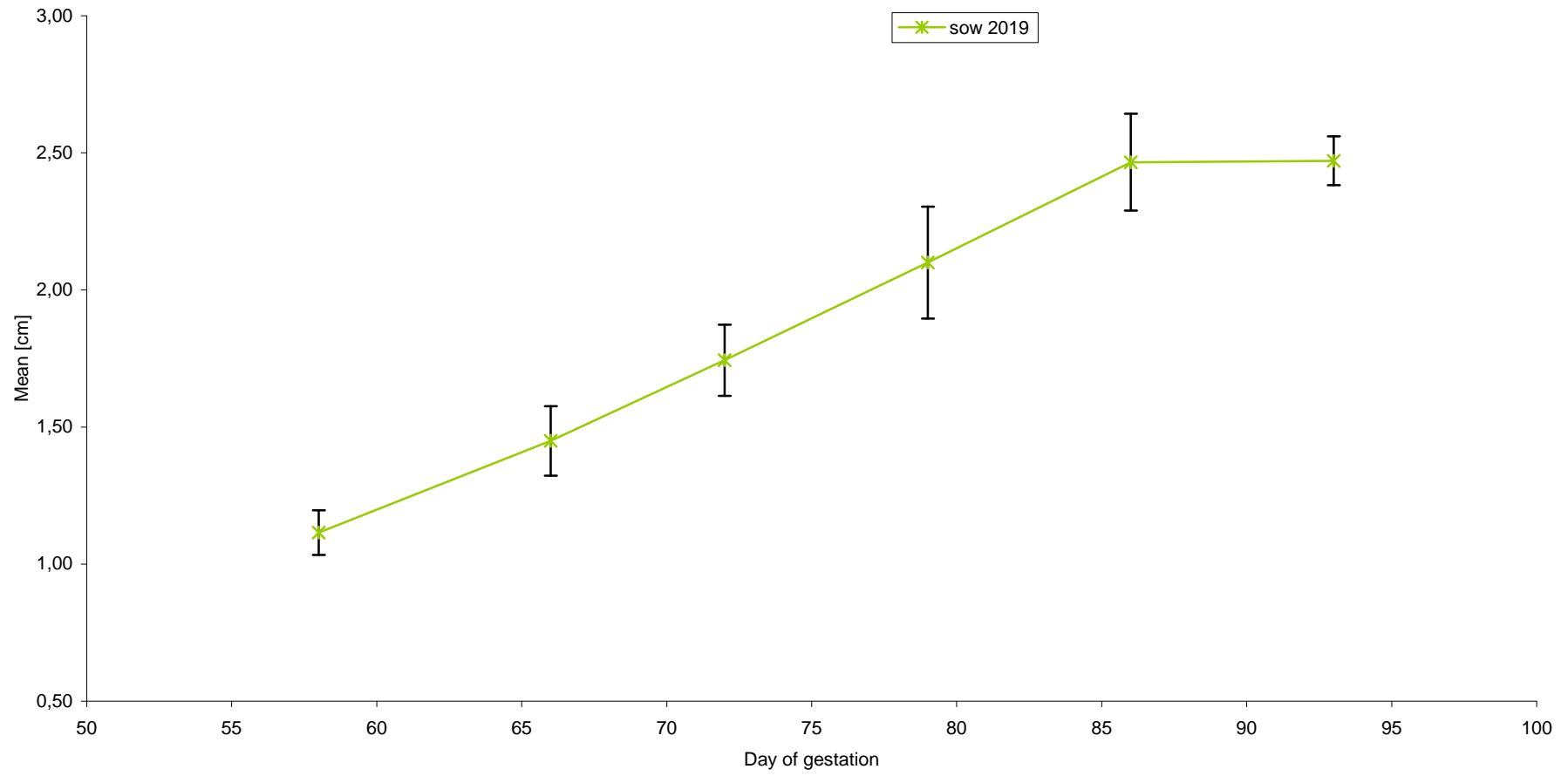


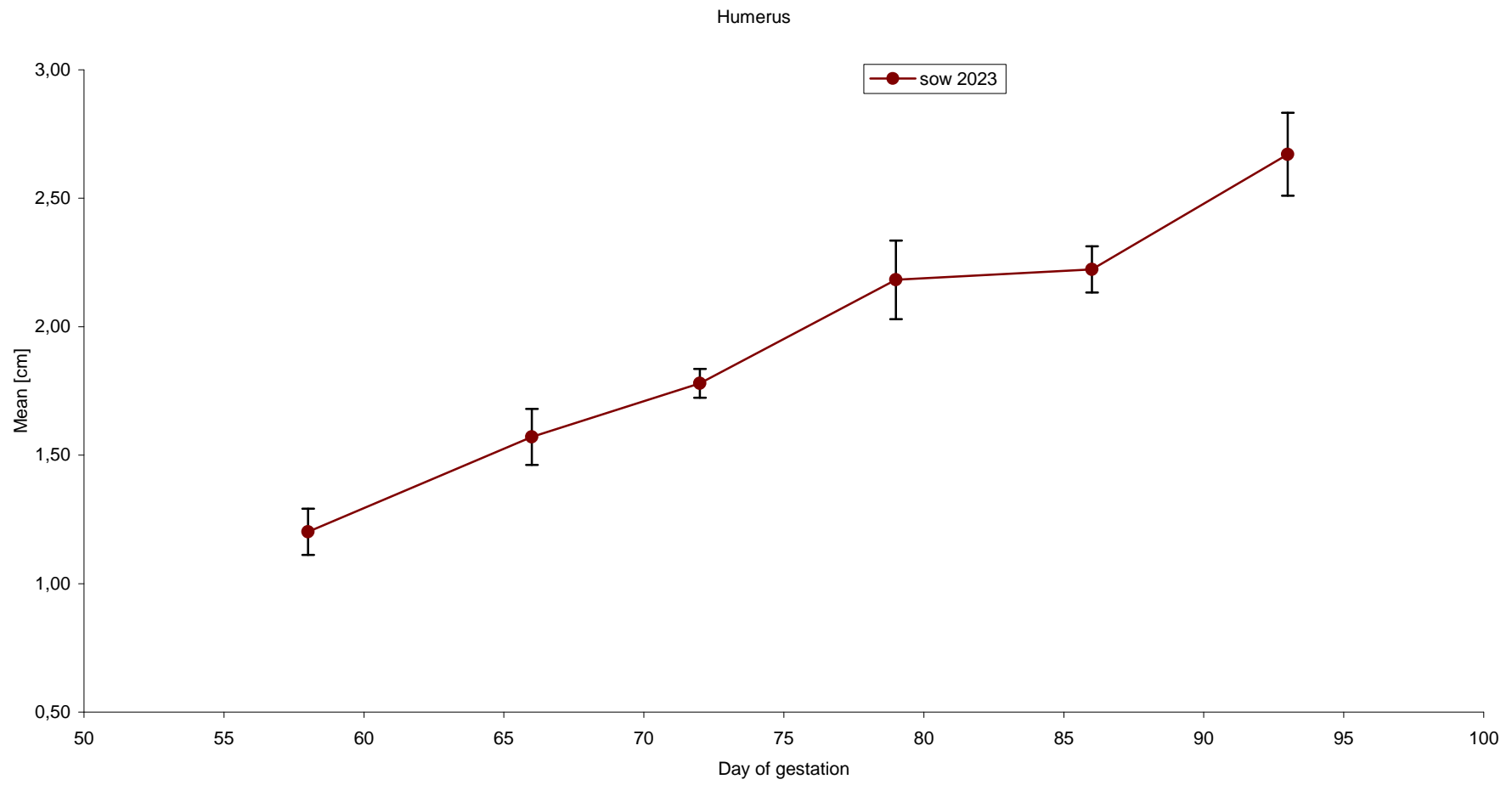
Humerus

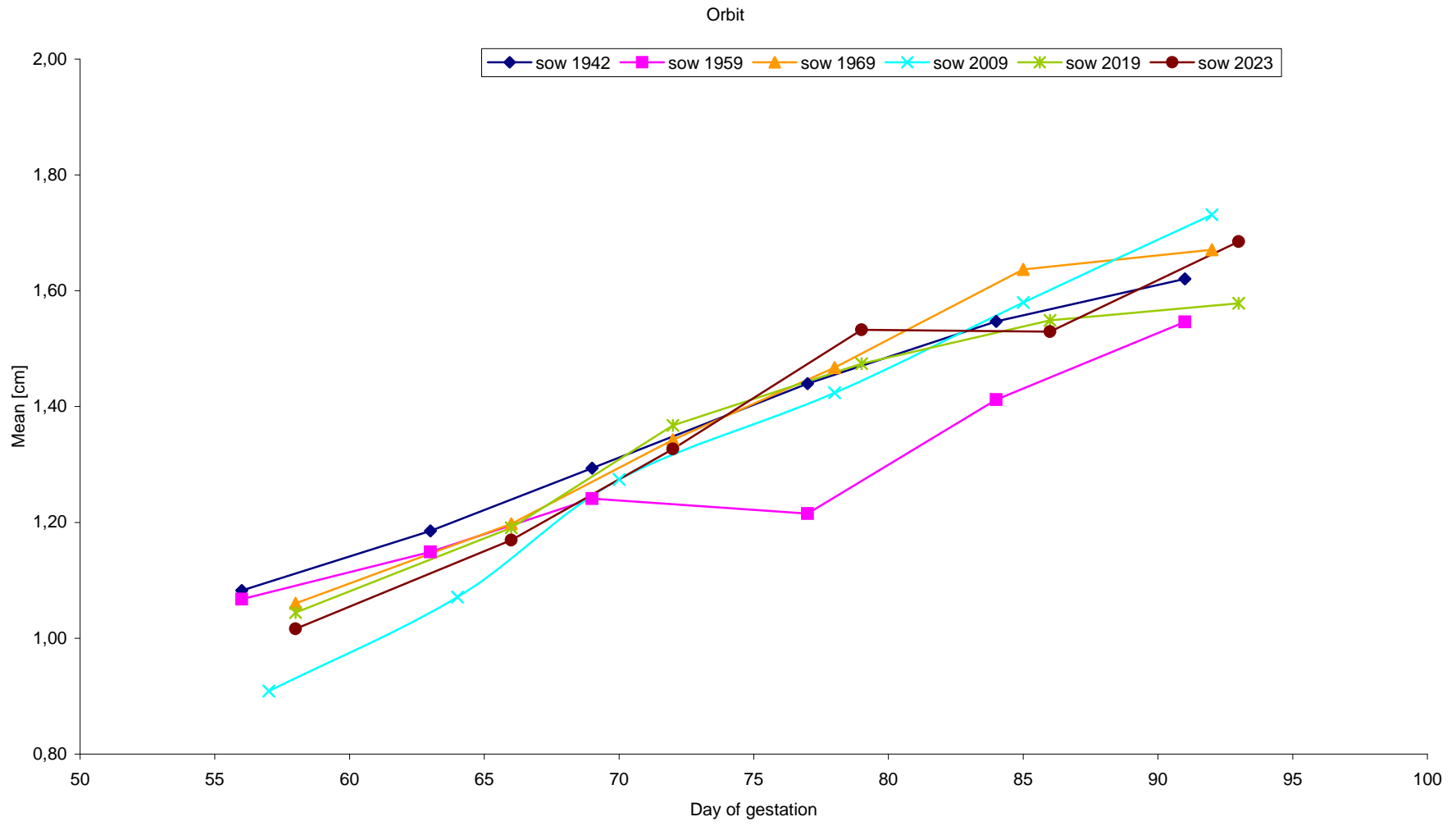


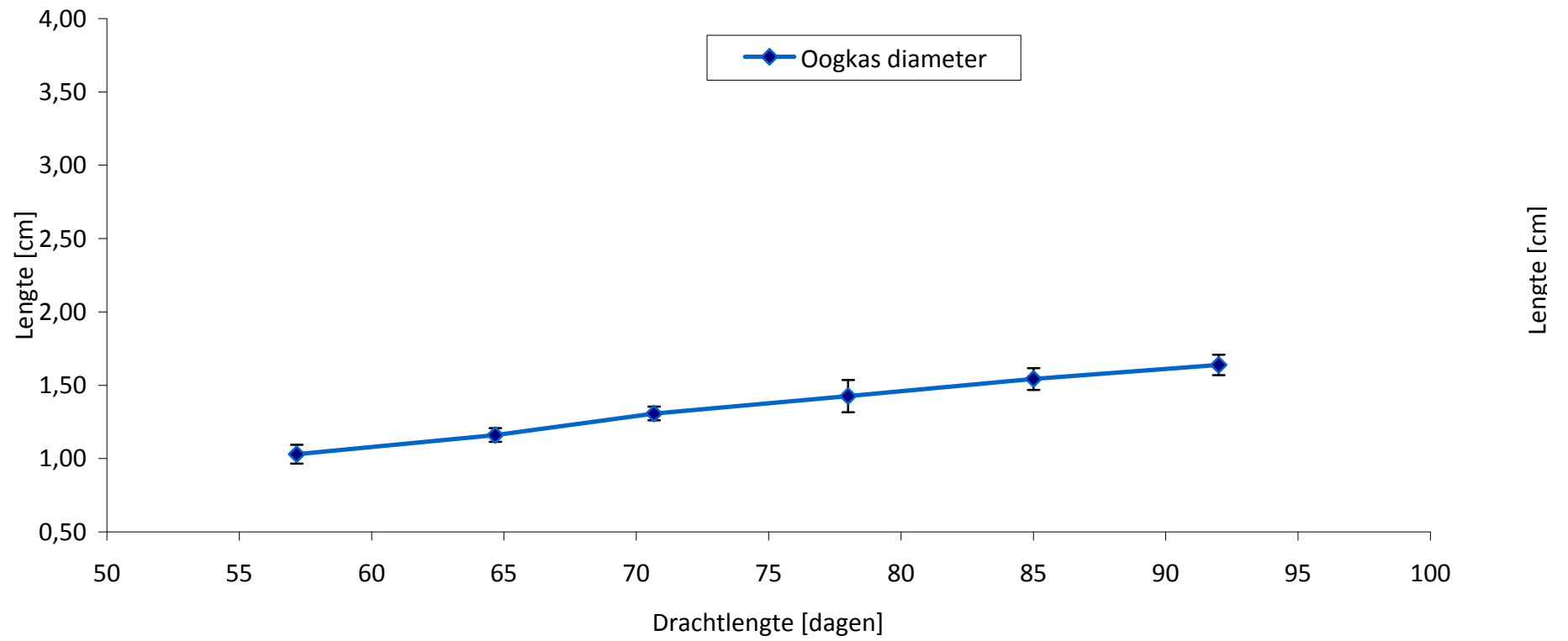


Humerus

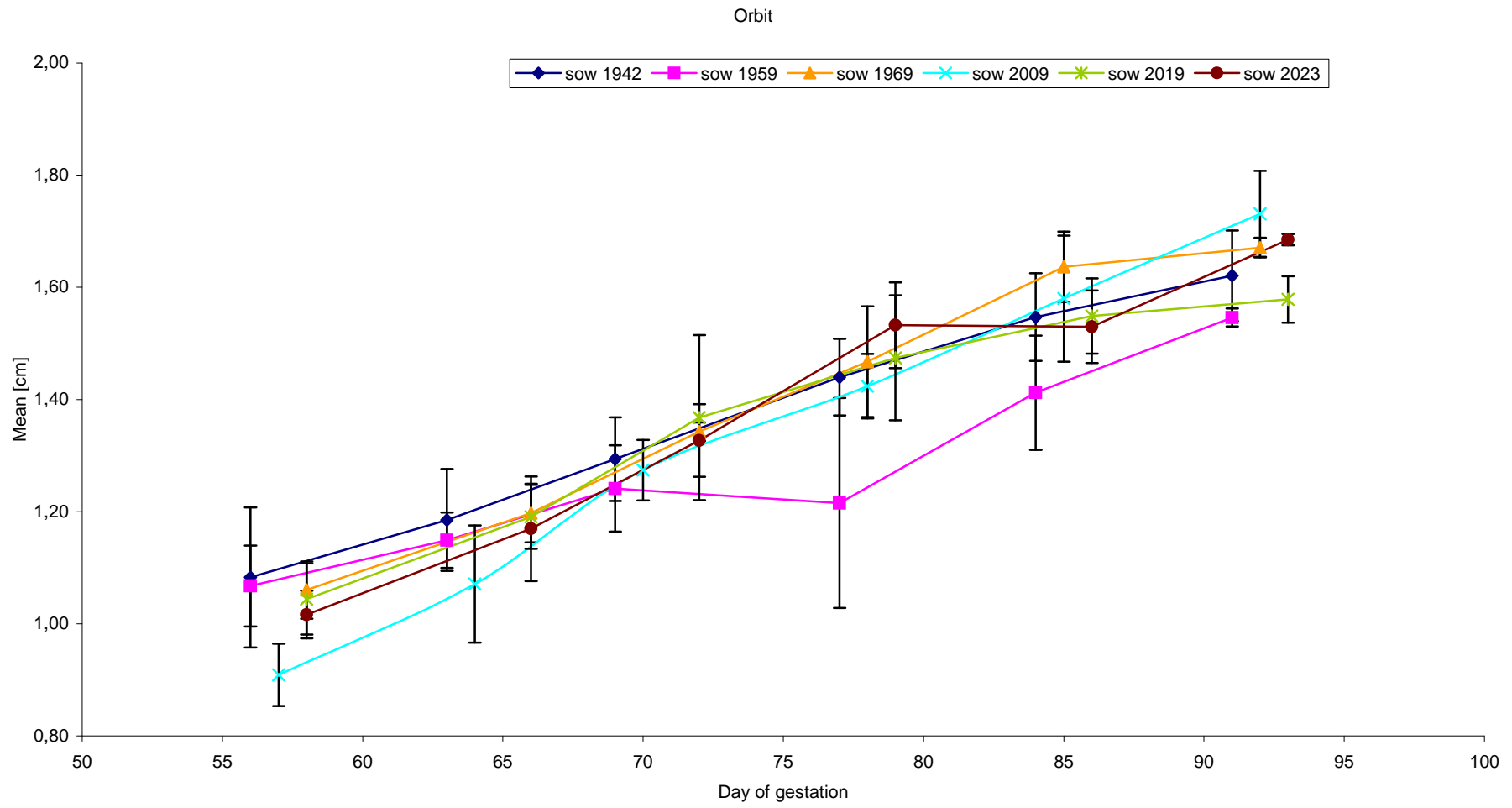


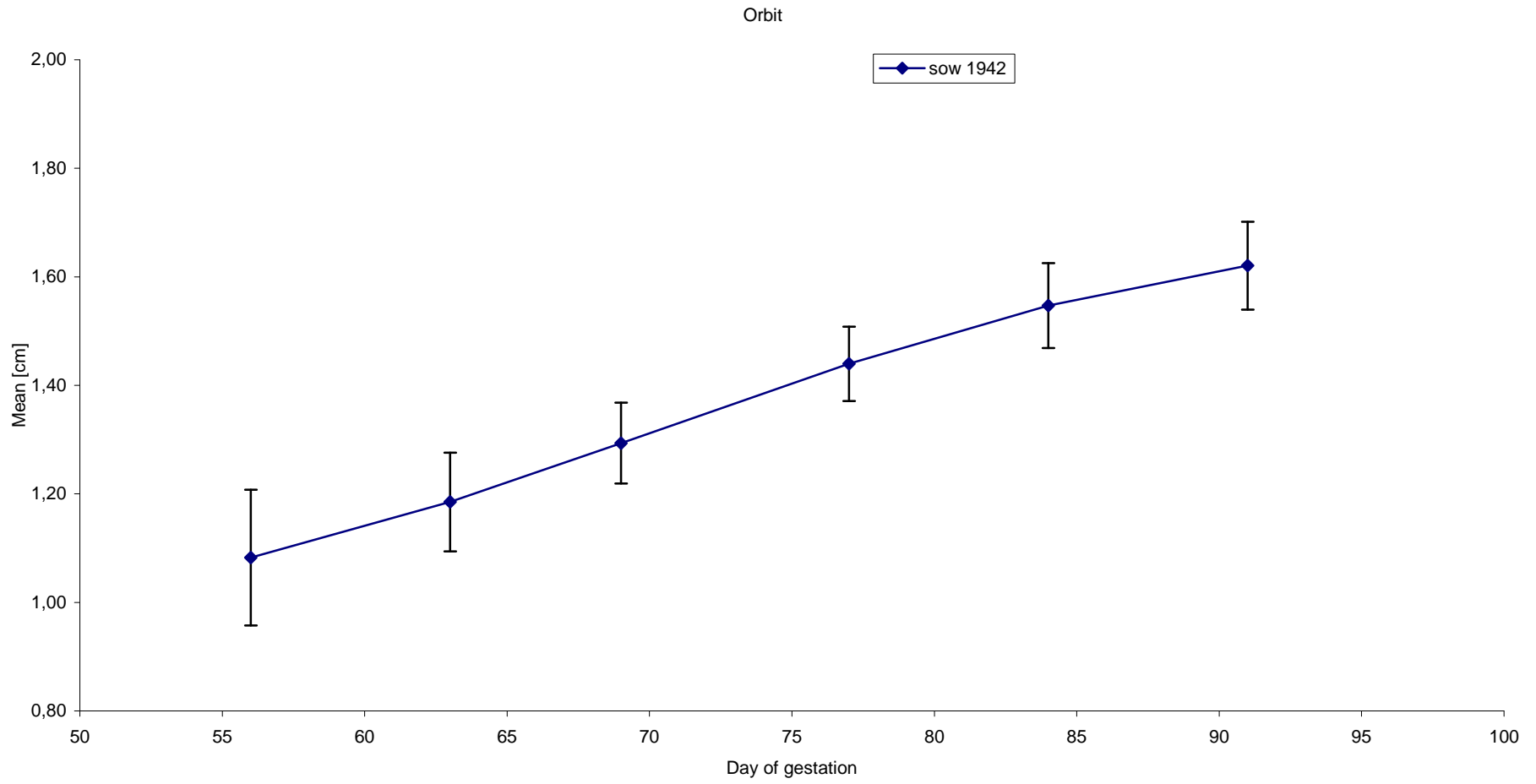


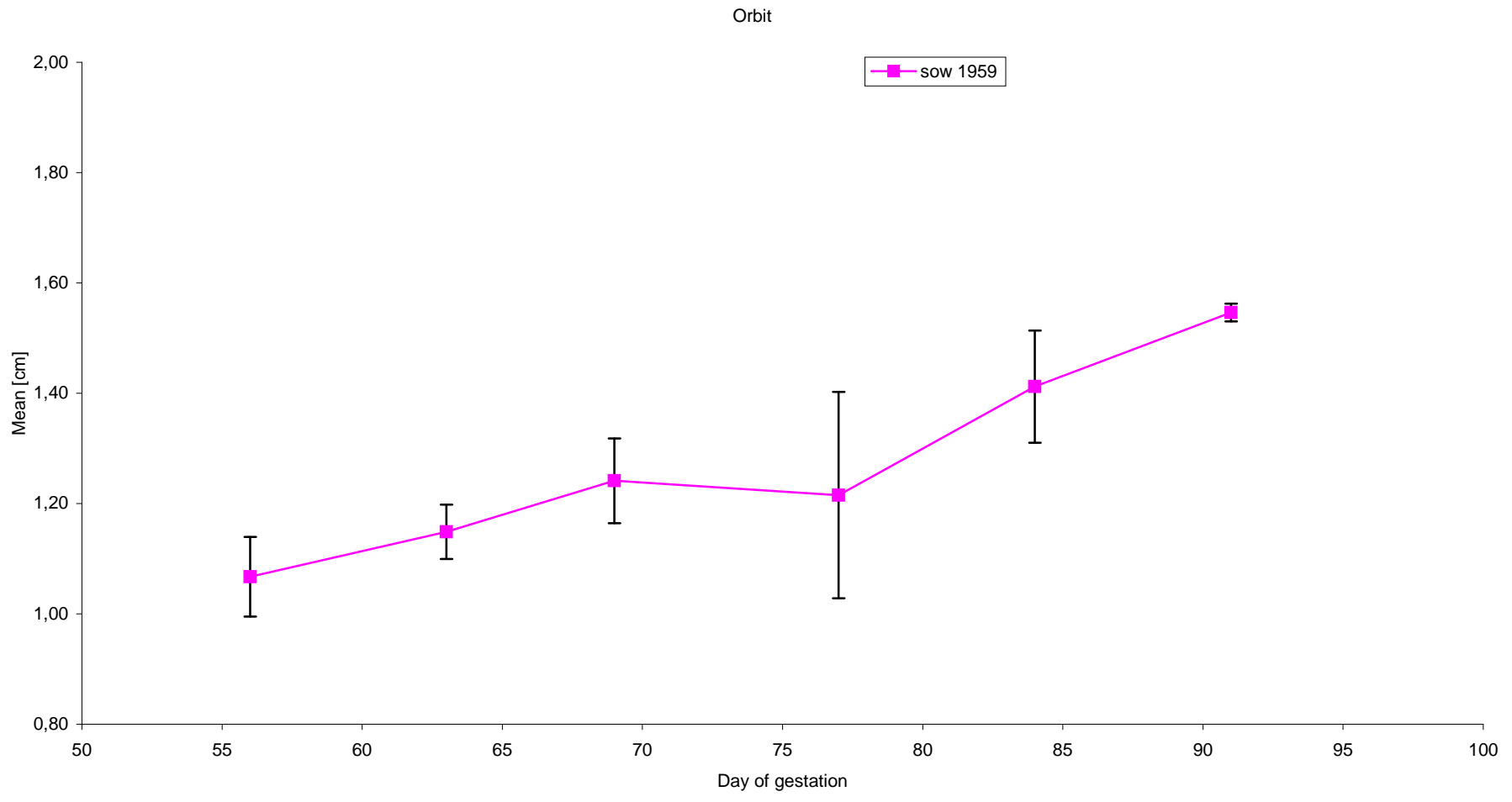


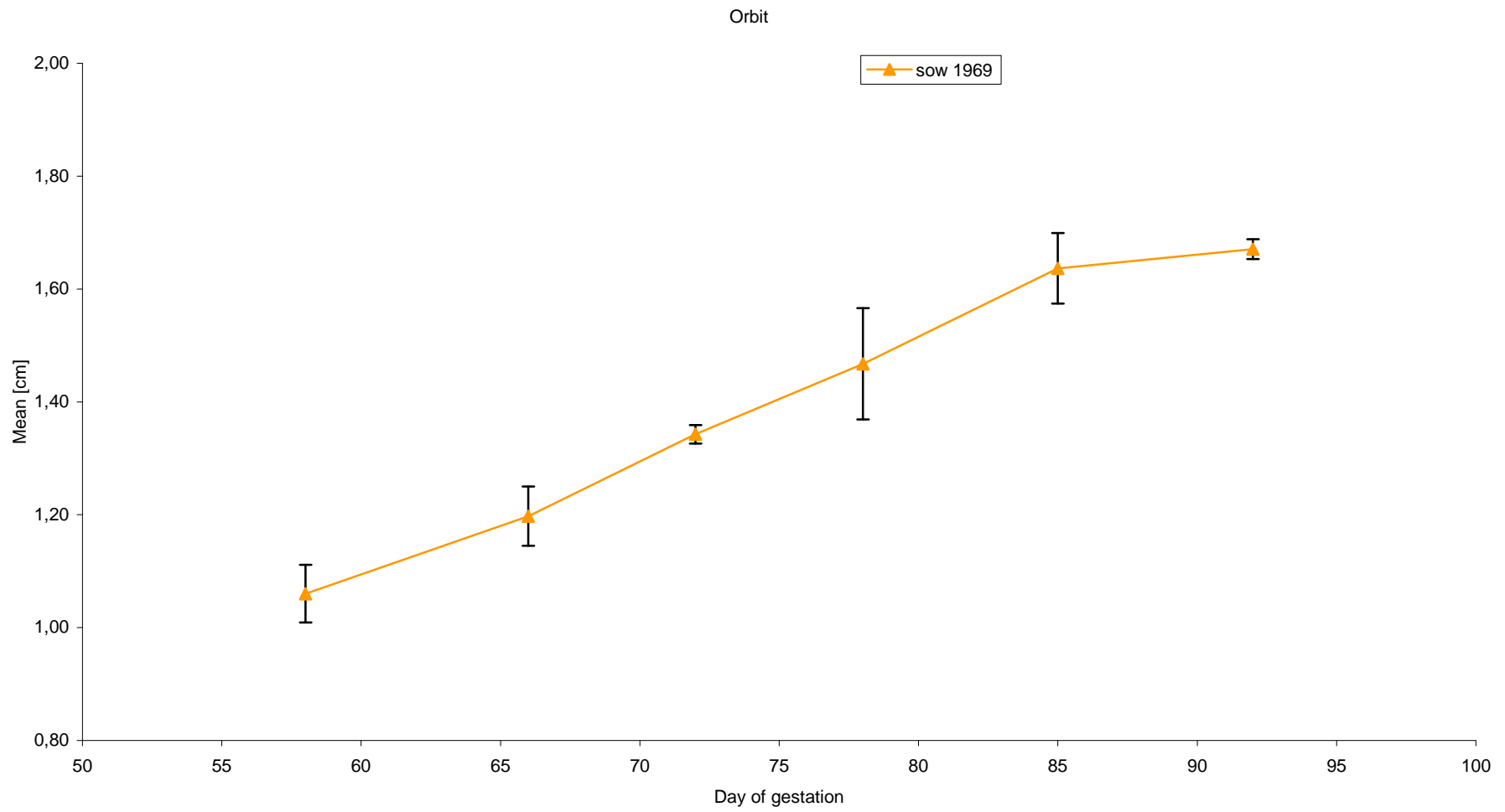


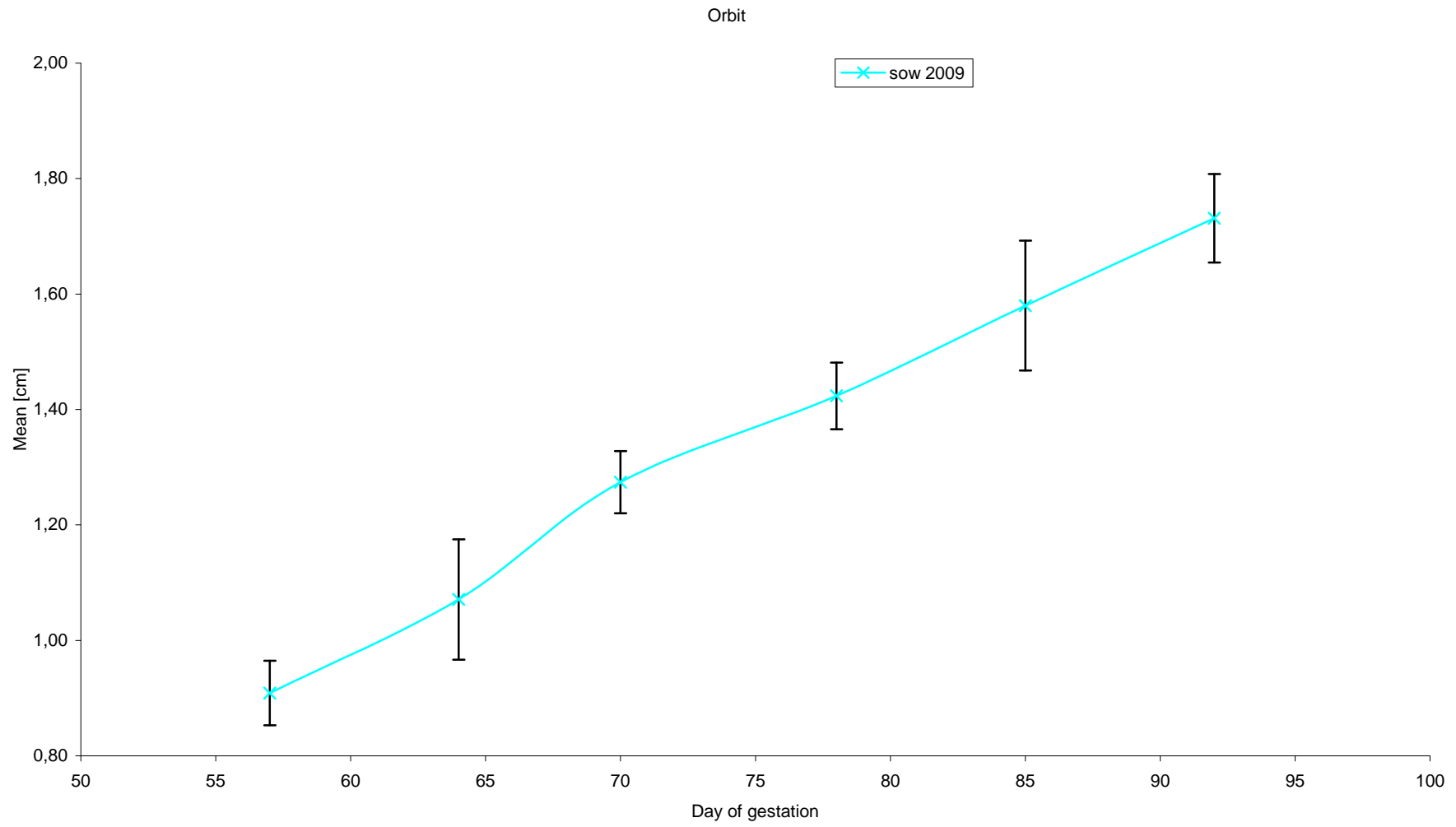
Figuur 8. Toename van de oogkas diameter tijdens dag 50-100 van de dracht.

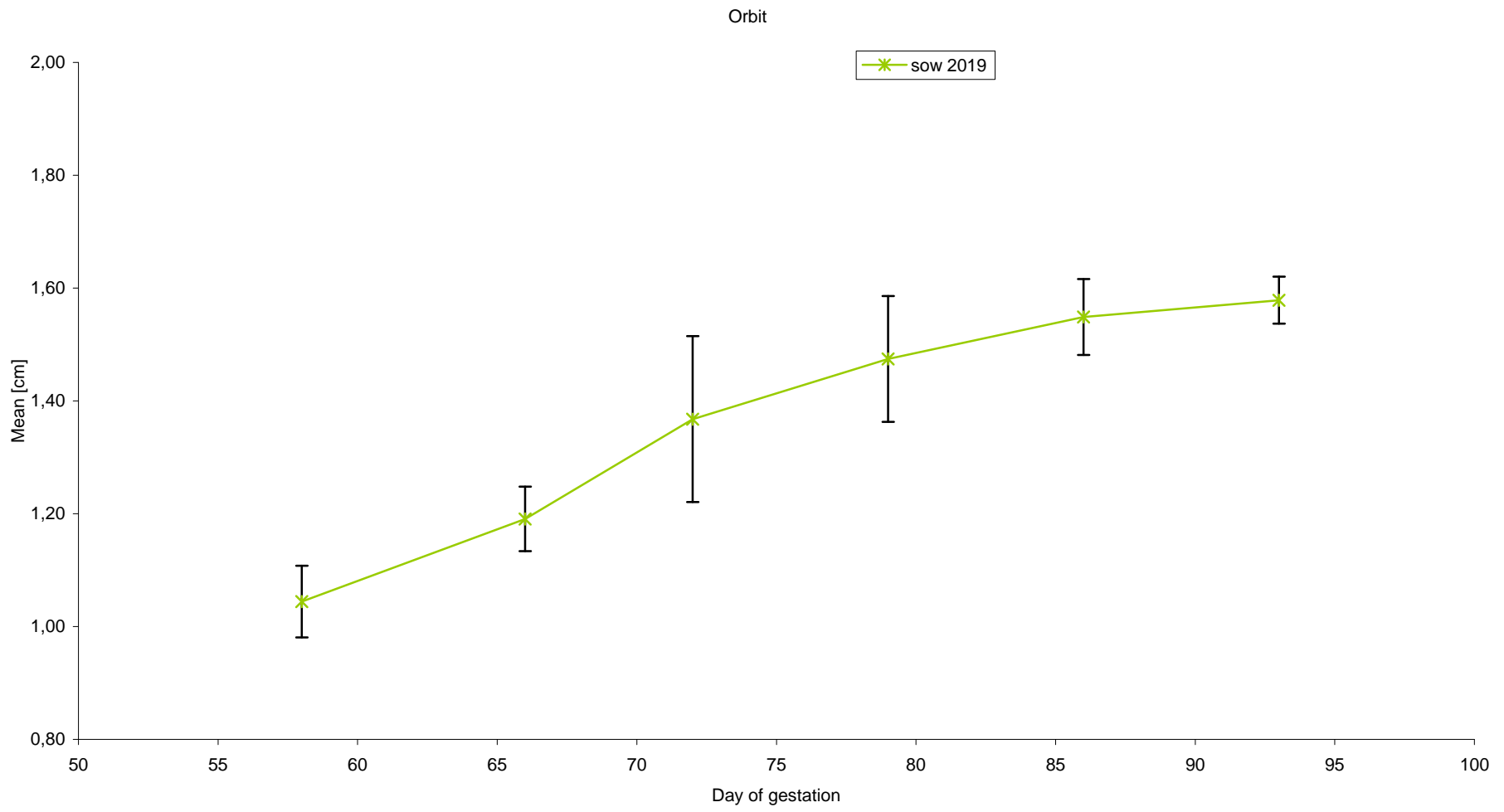


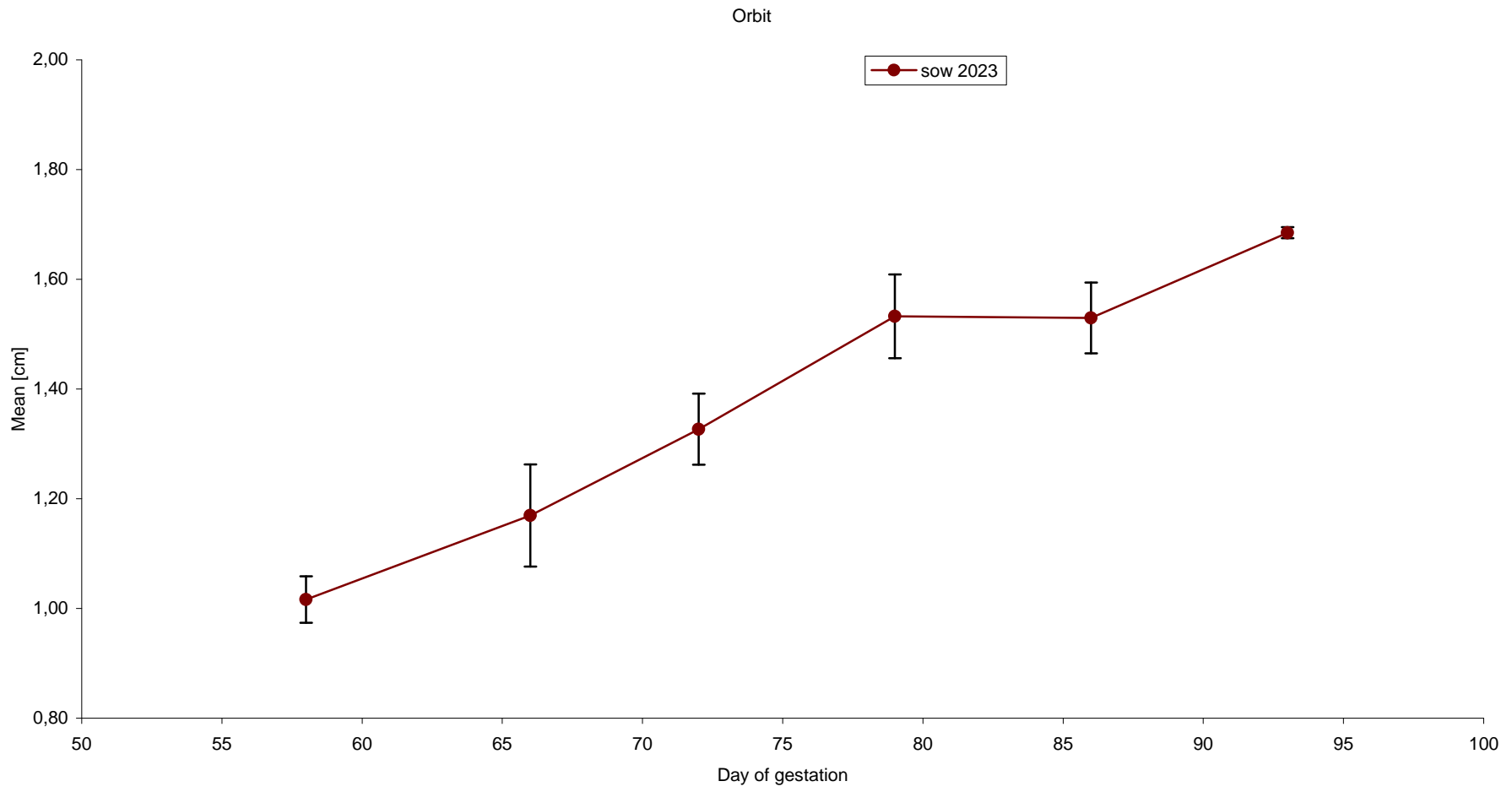




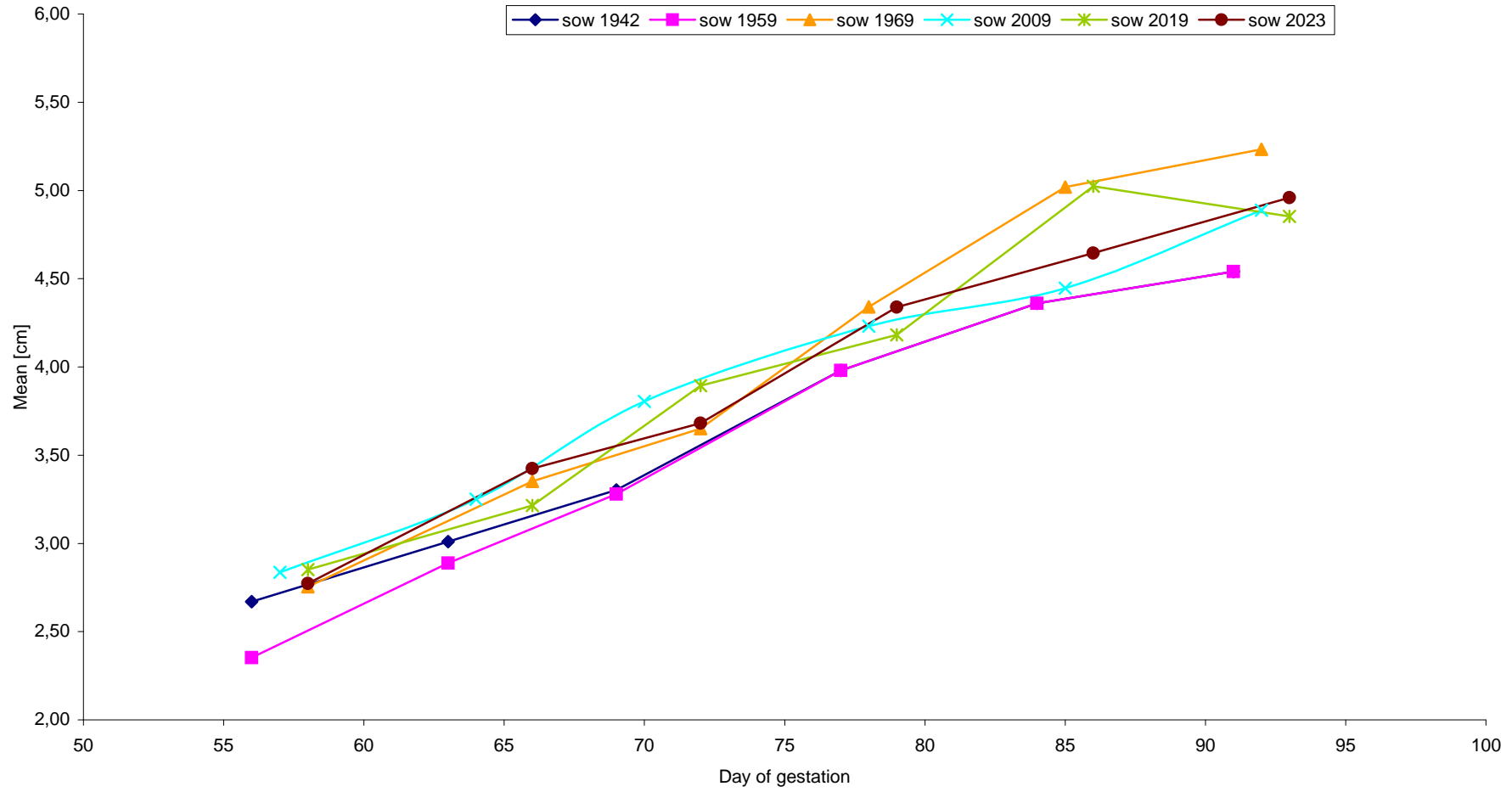


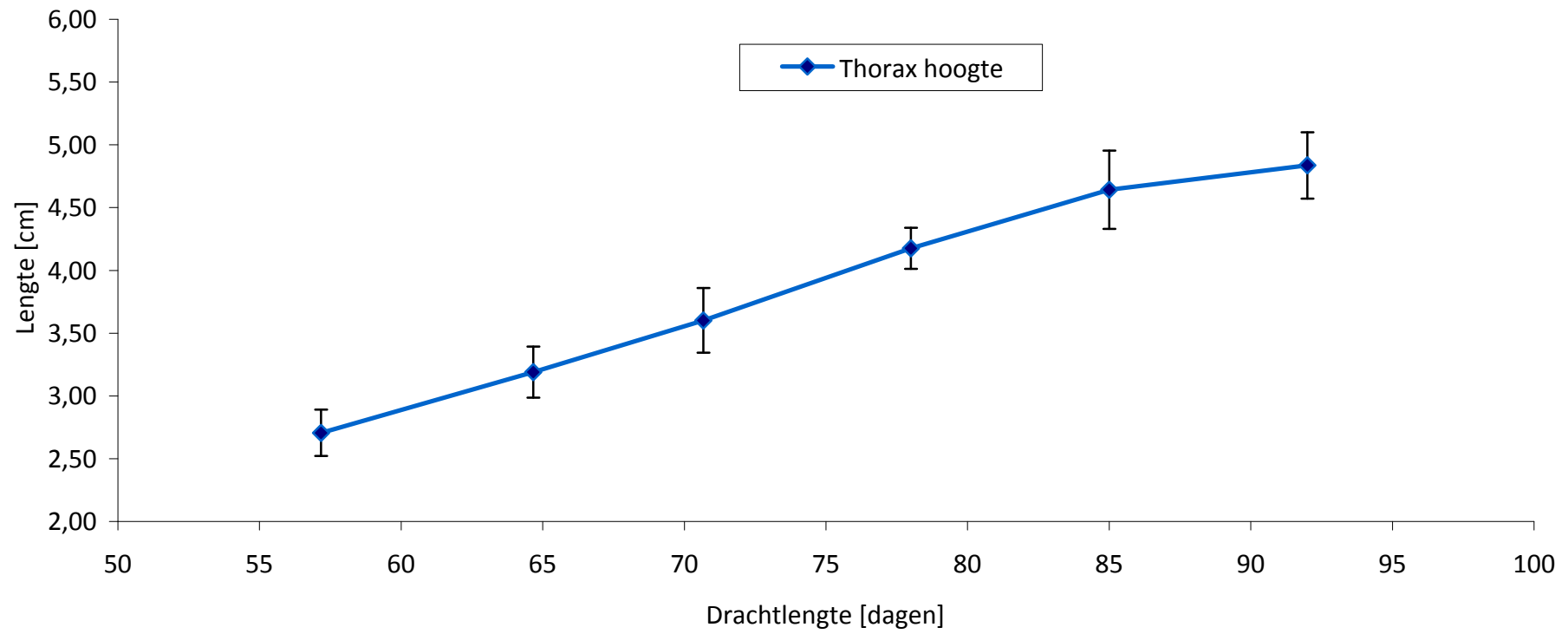




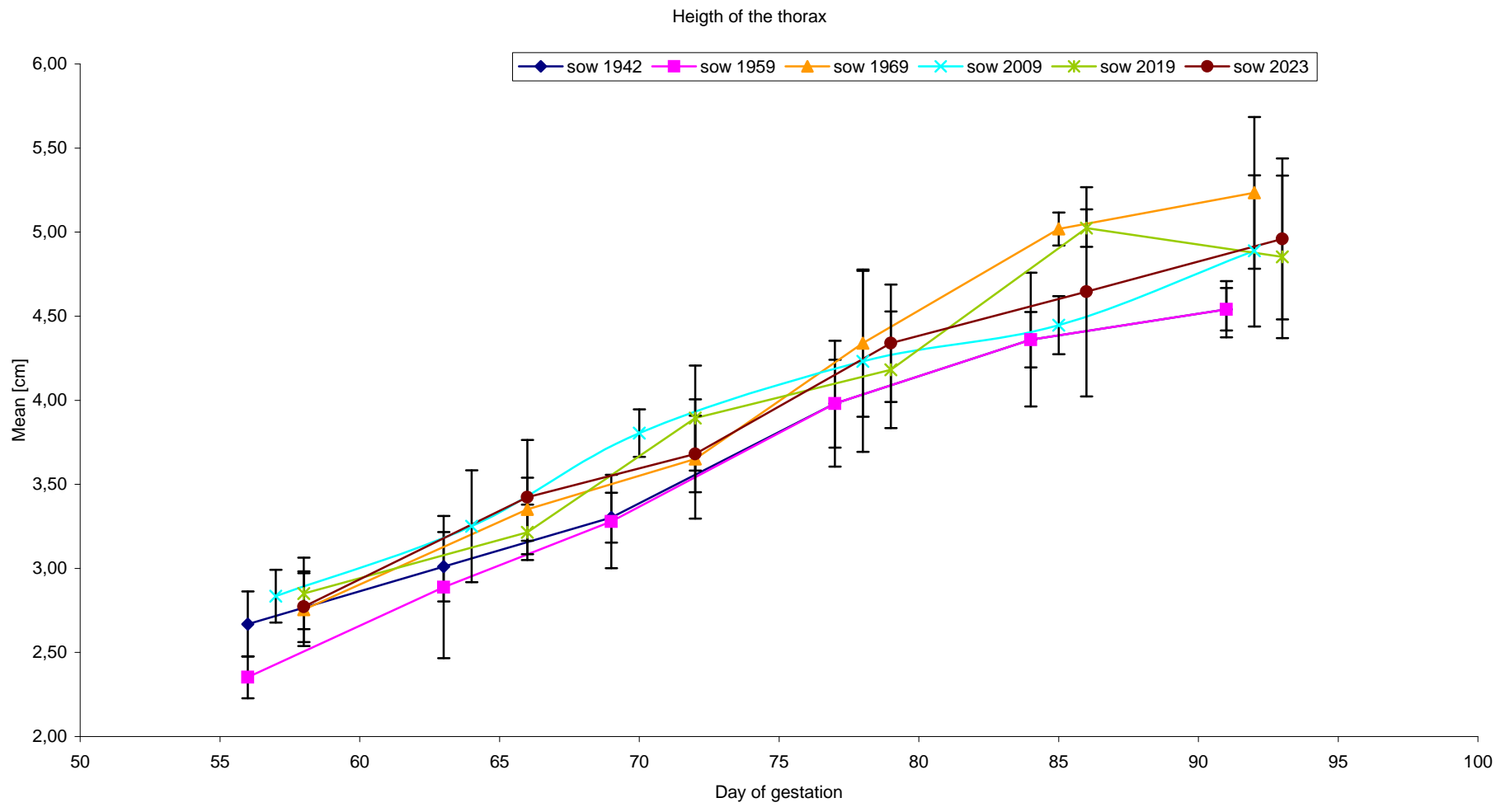


Height of the thorax

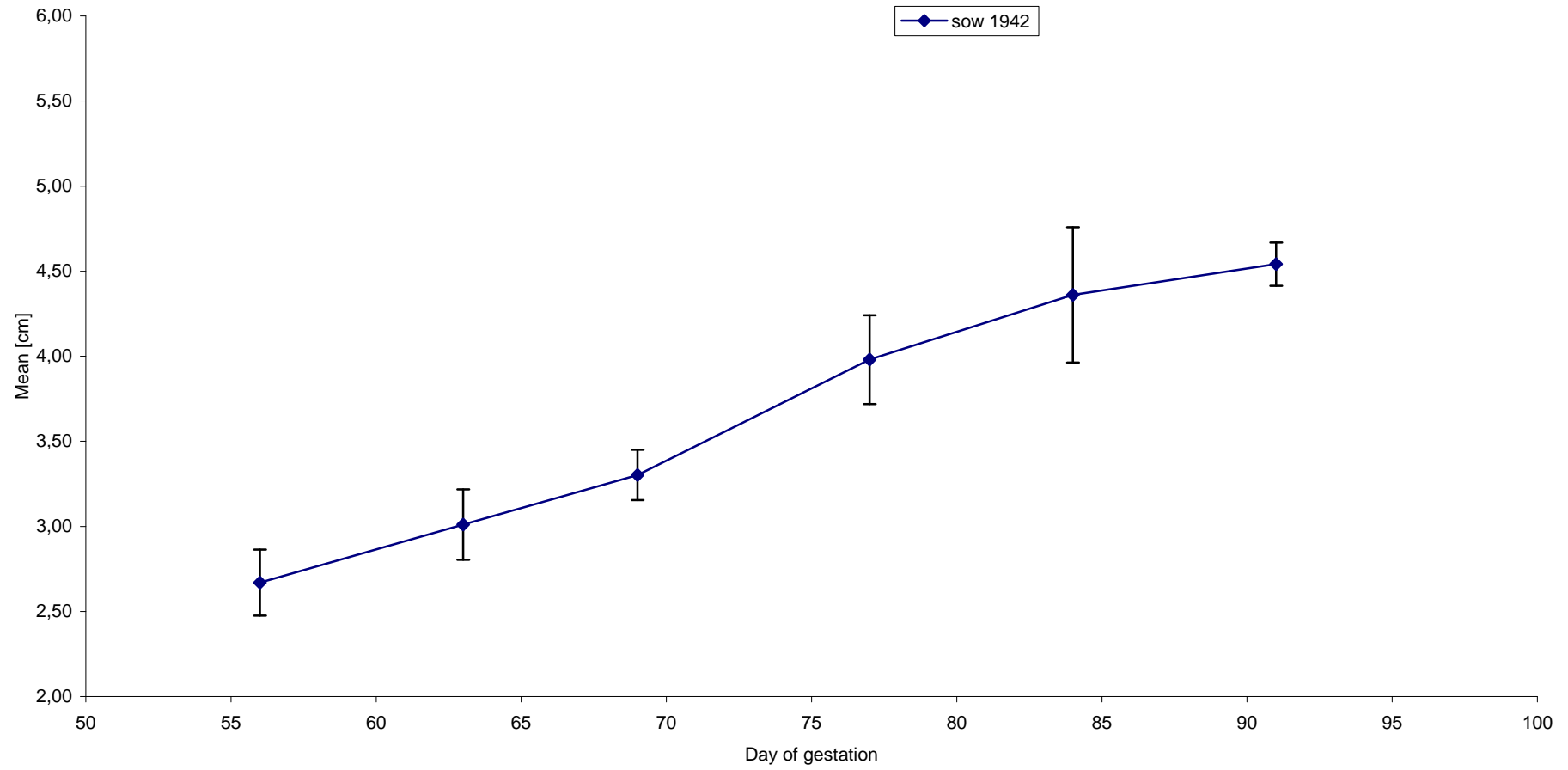




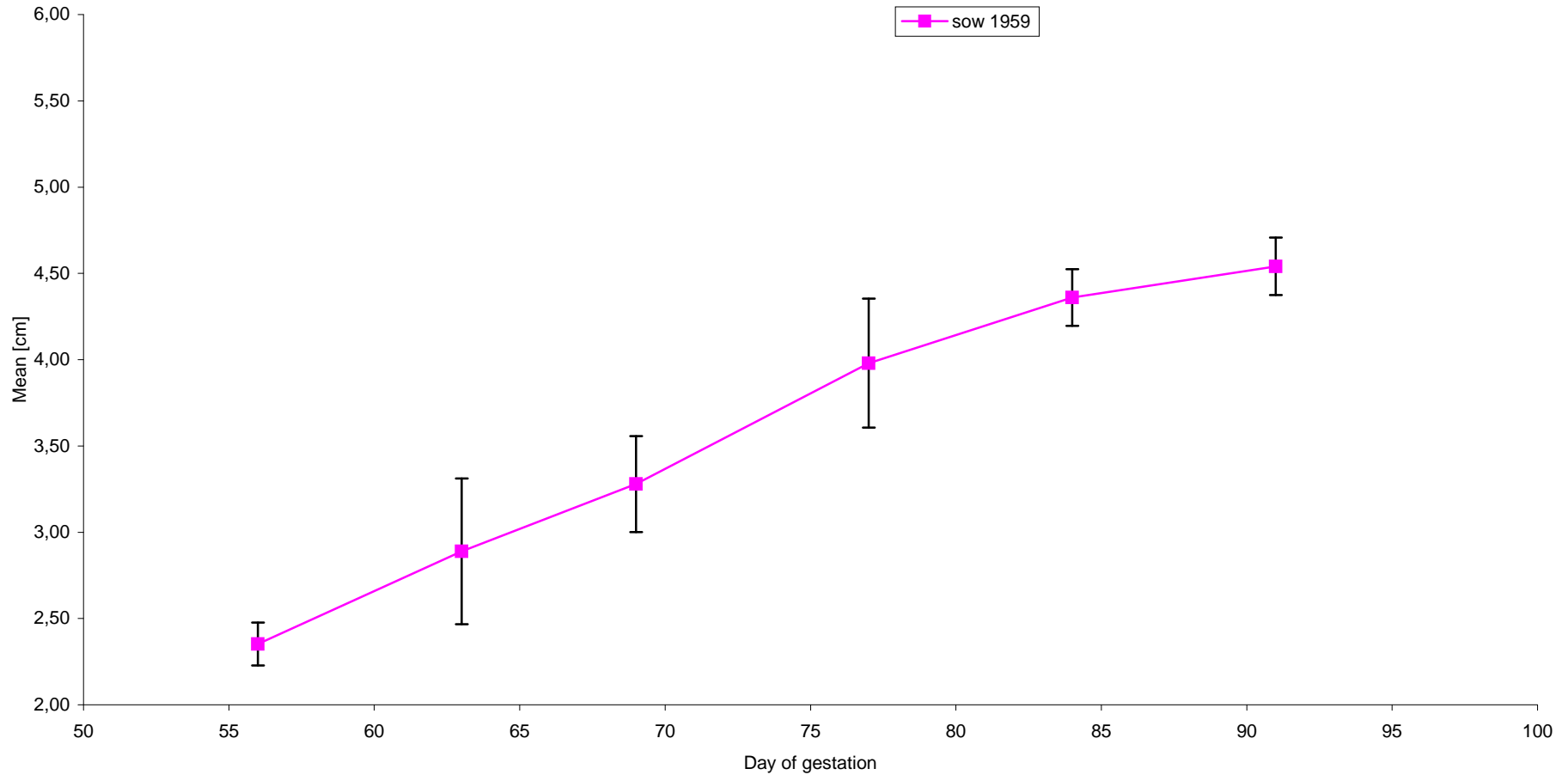
Figuur 9. Toename van de hoogte van thorax tijdens dag 50-100 van de dracht.



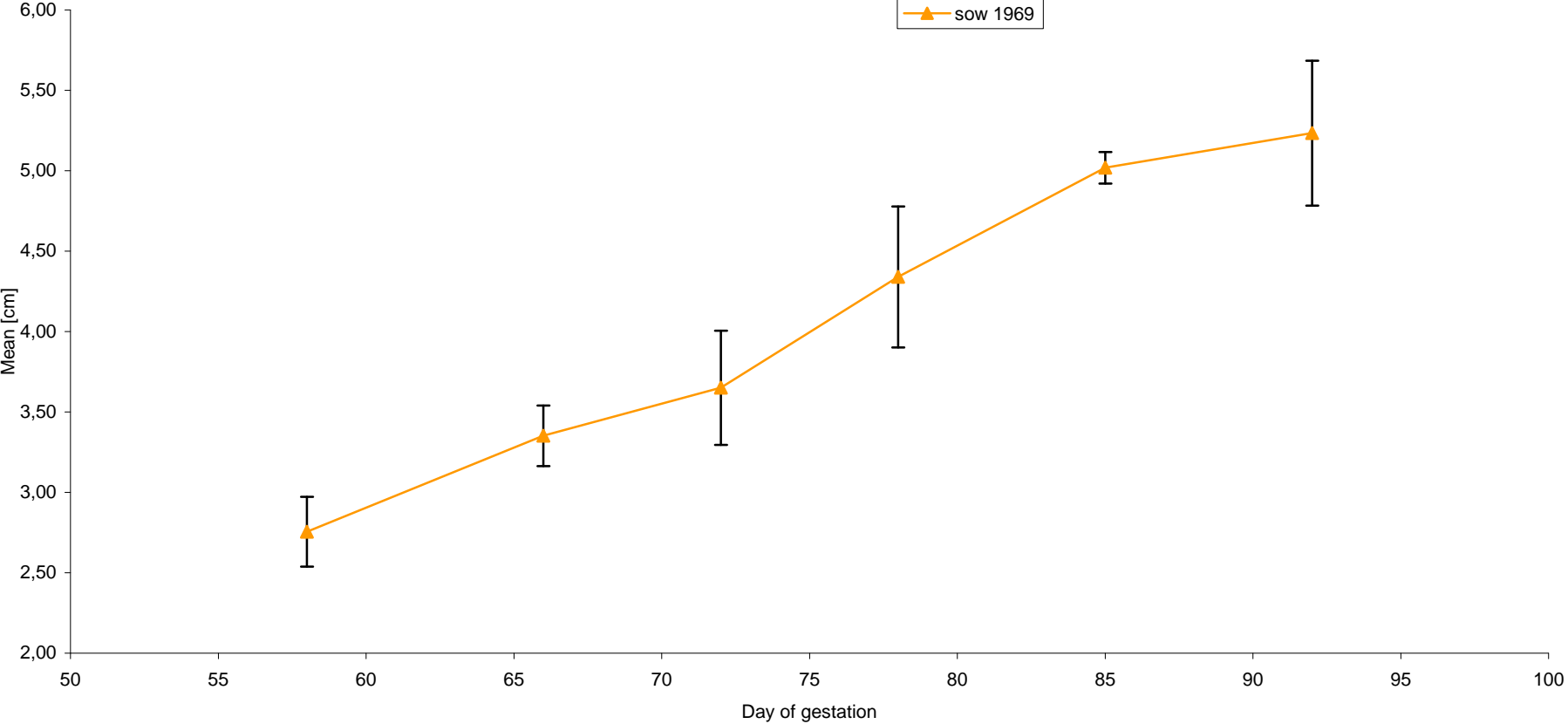
Height of the thorax



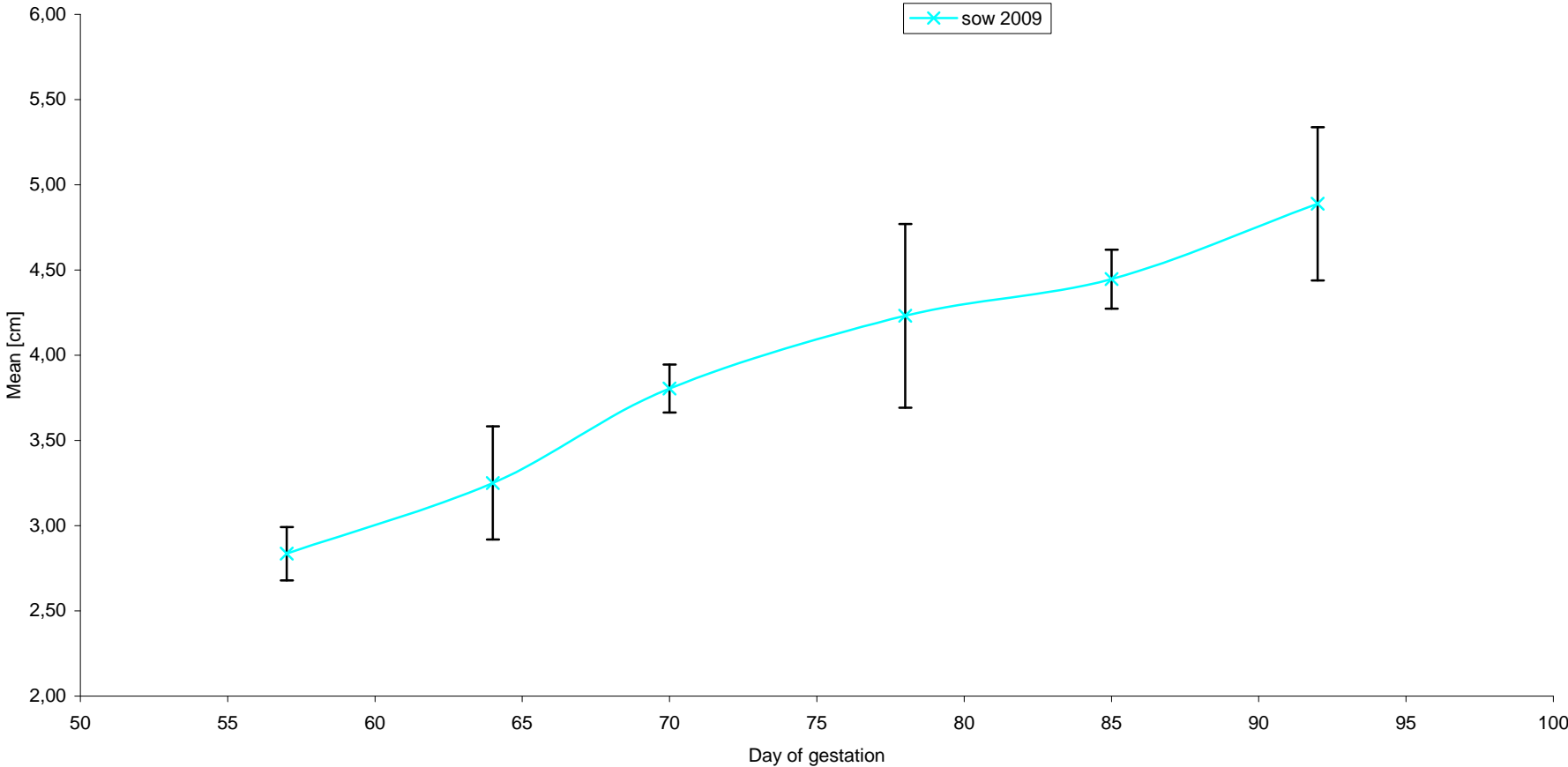
Height of the thorax



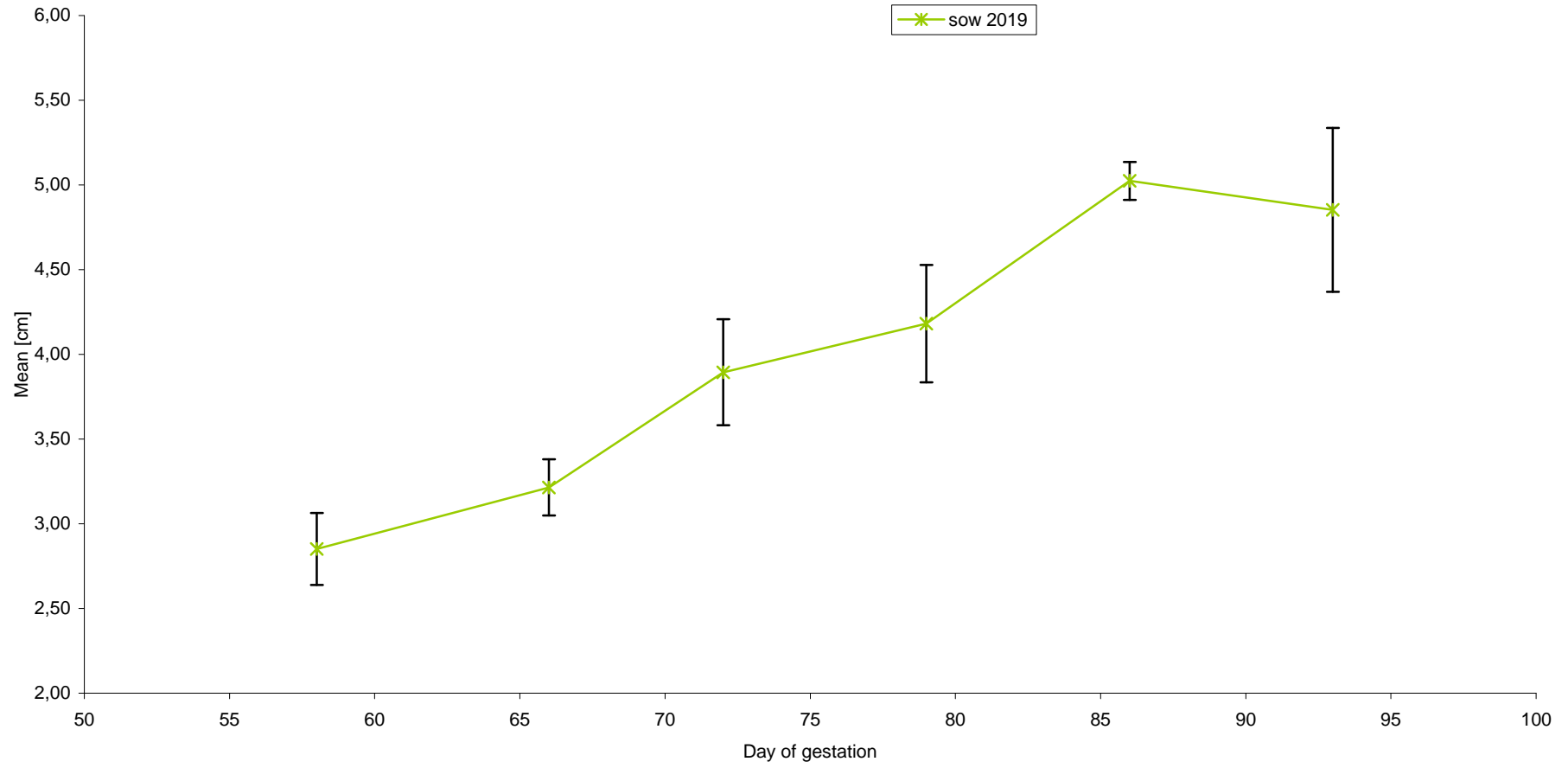
Heigth of the thorax



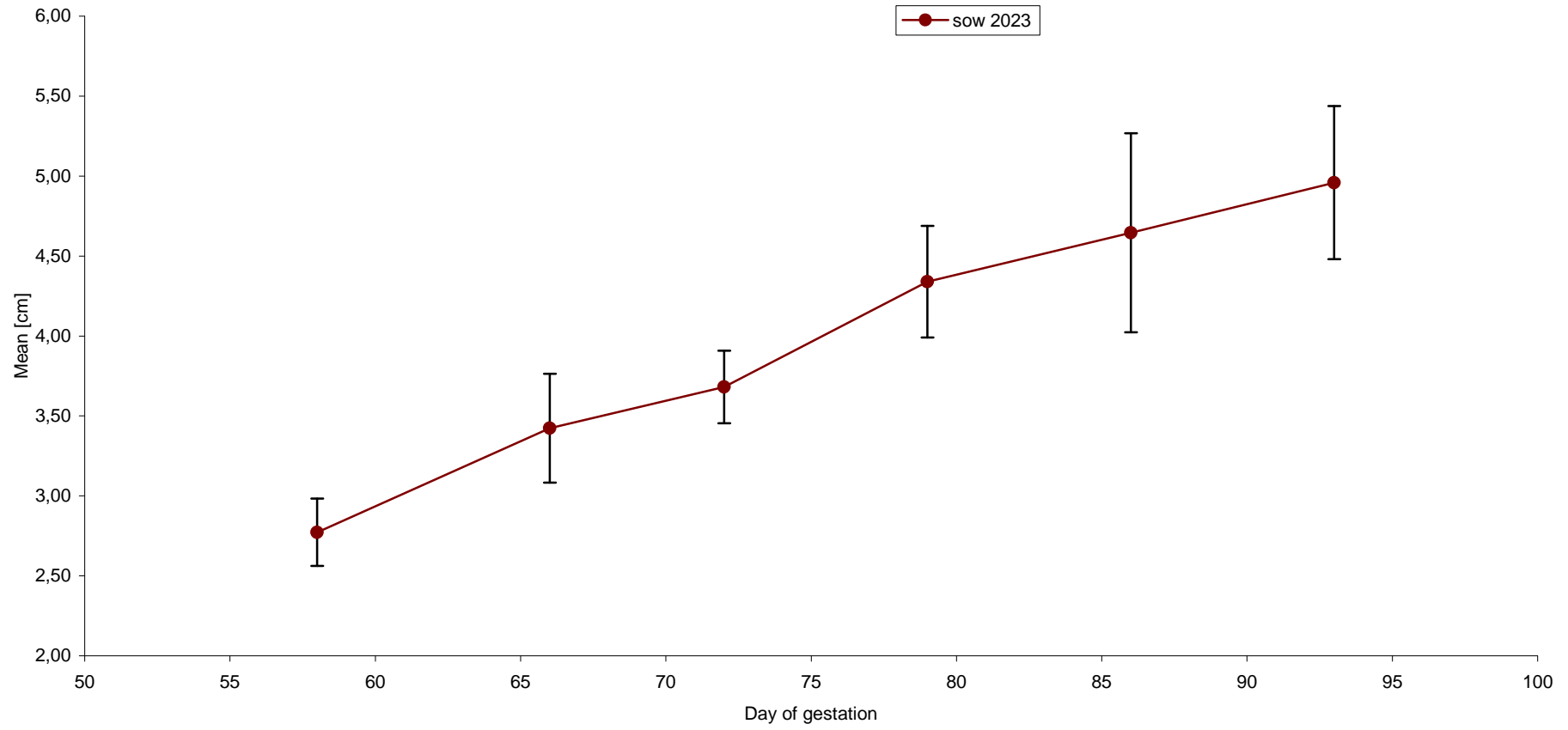
Height of the thorax

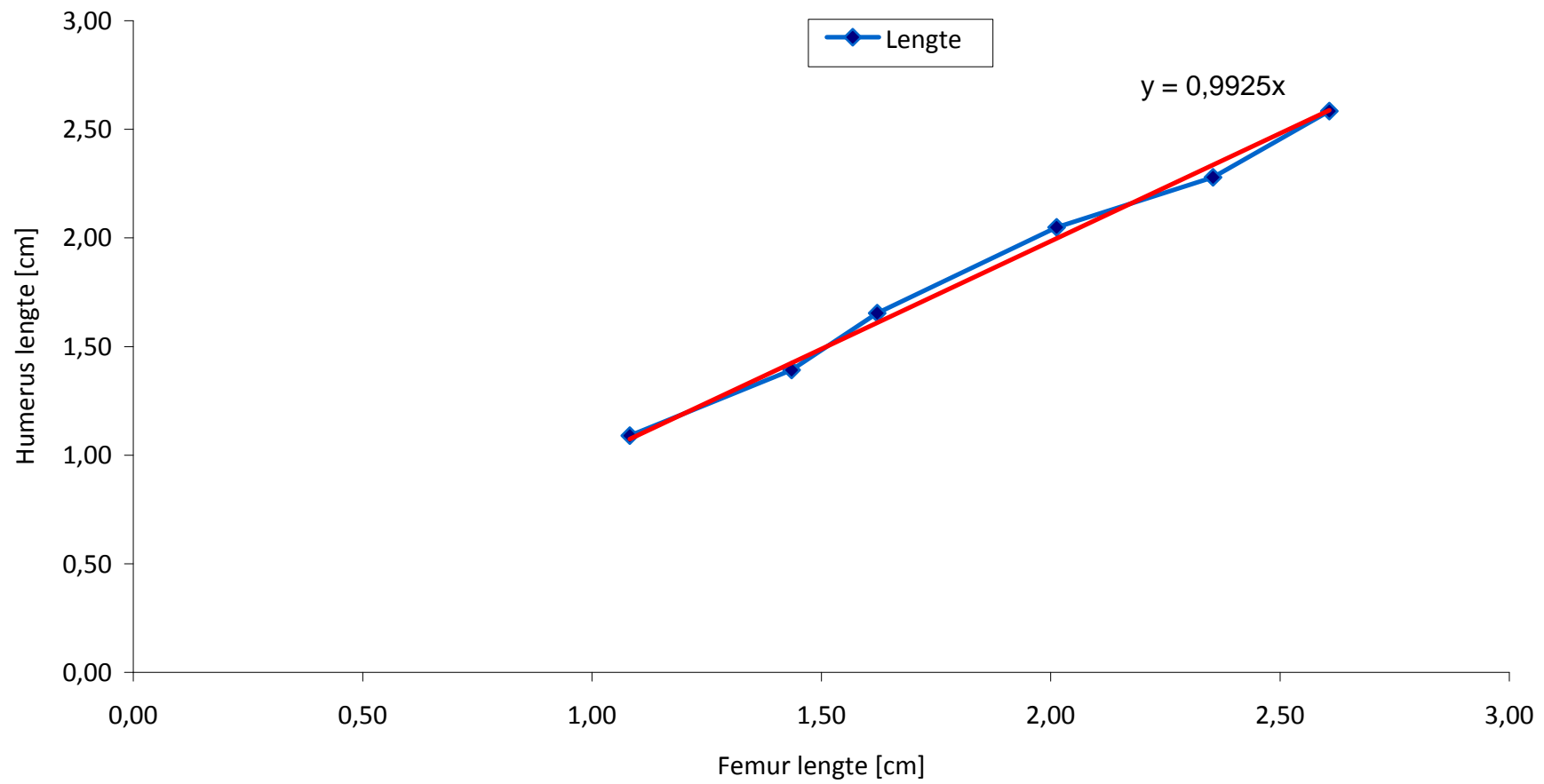


Height of the thorax



Heighth of the thorax





Figuur 10. Relatie femur lengte vs humerus lengte tijdens dag 50-100 van de dracht.

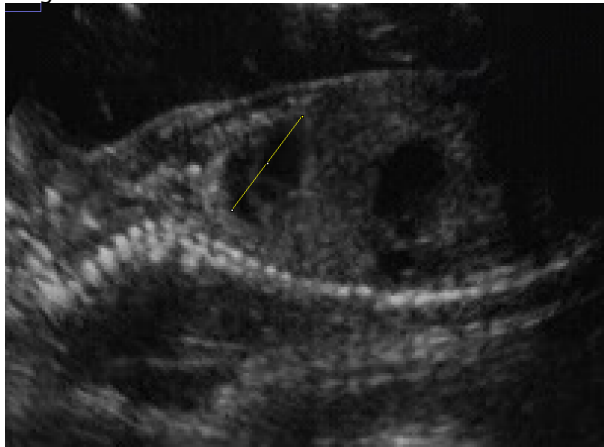
Overzicht parameters

Hart doorsnede

Dag 66



Dag 69



Dag 77



dag 84

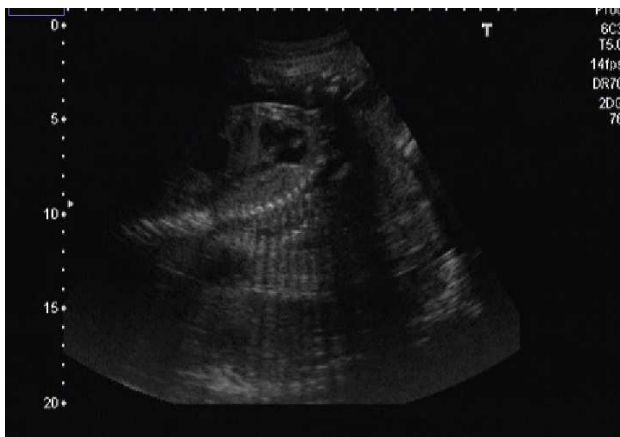
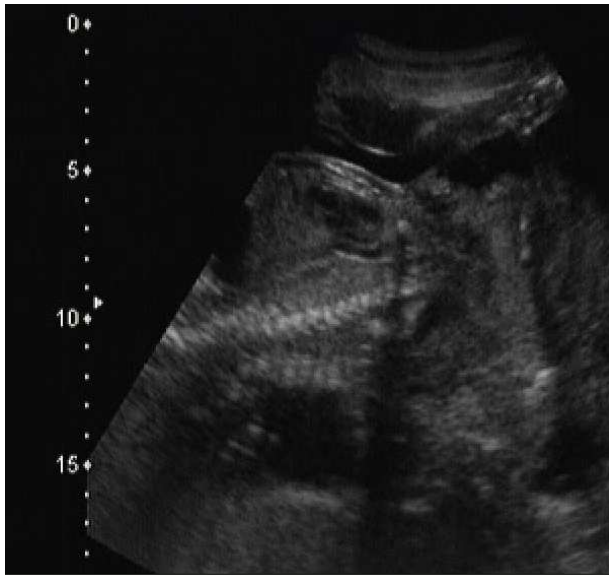


Dag 91



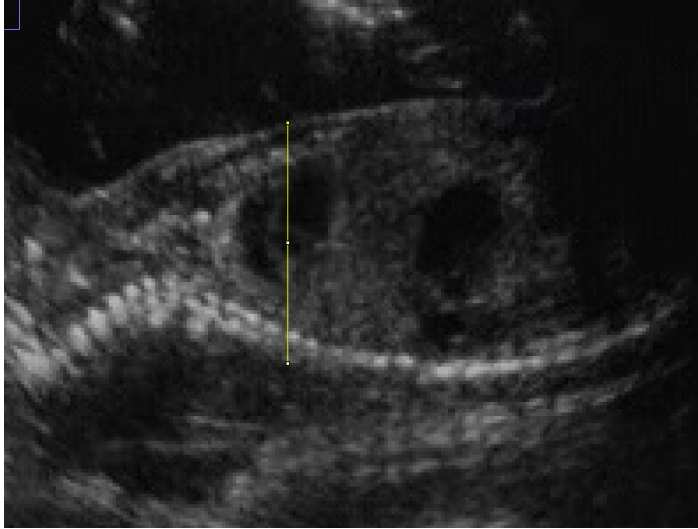
dag 93



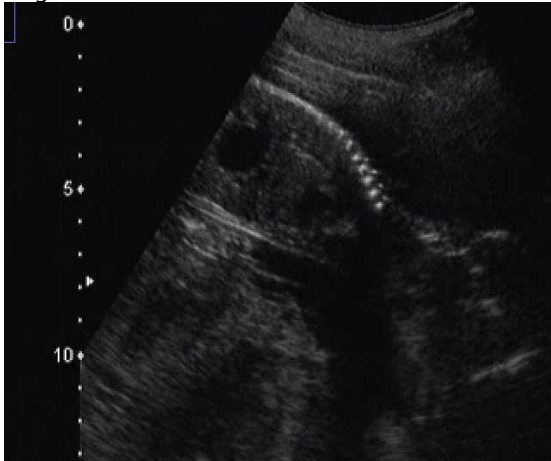


Thorax hoogte

Dag 69



dag 70

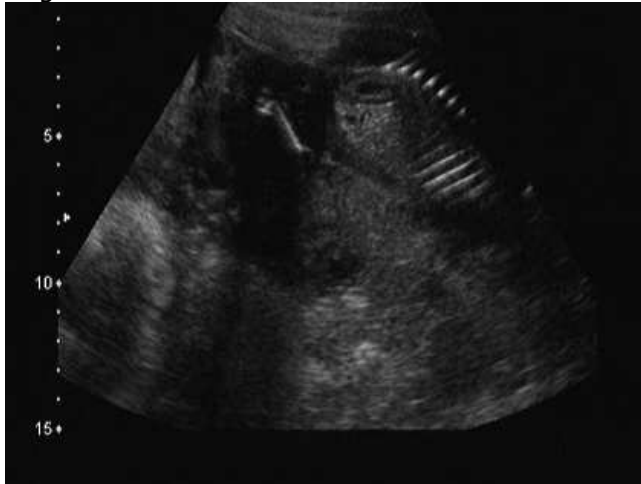


dag 91



Femur

dag 77



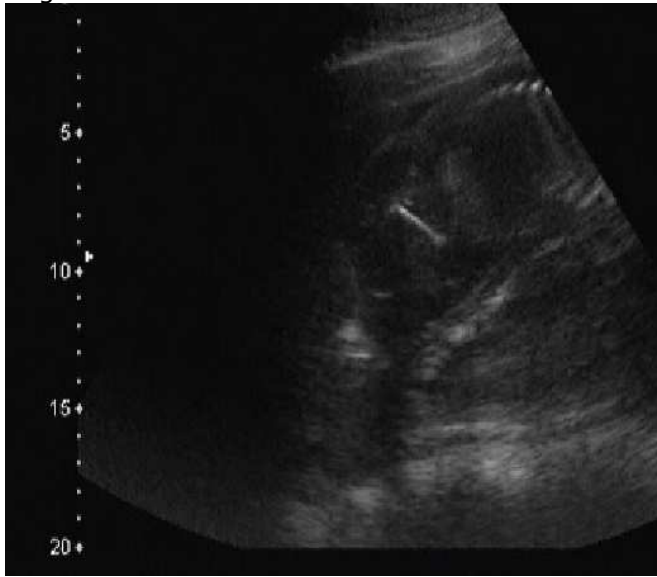
dag 84



dag 84



dag 91

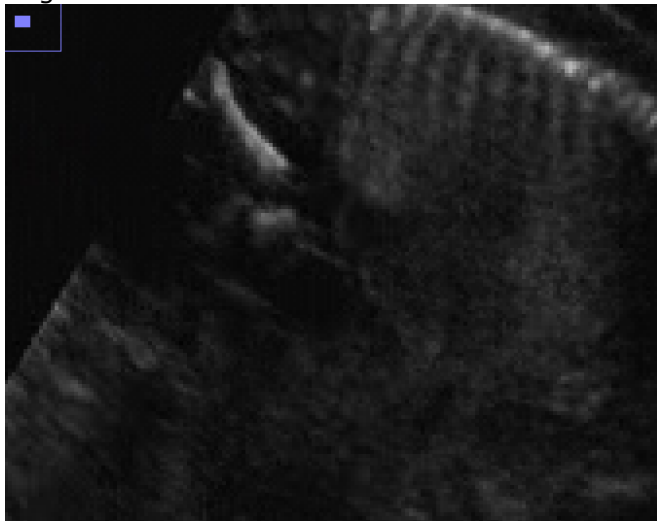


Humerus

Dag 56



dag 68



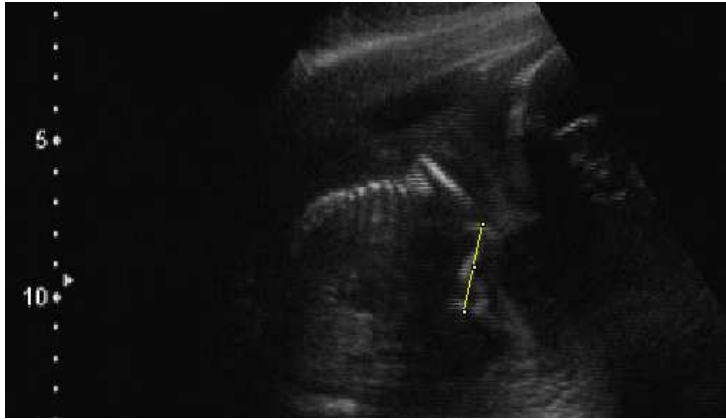
dag 70



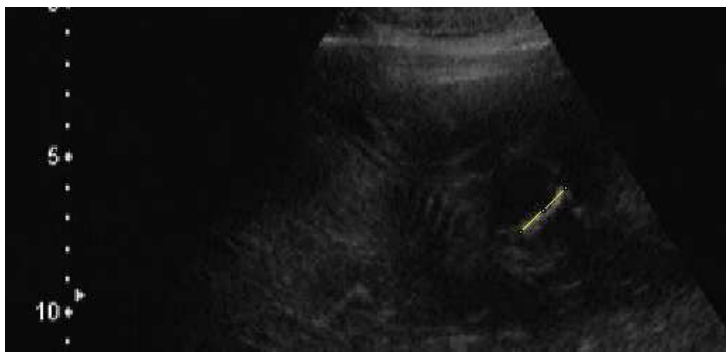


dag 84

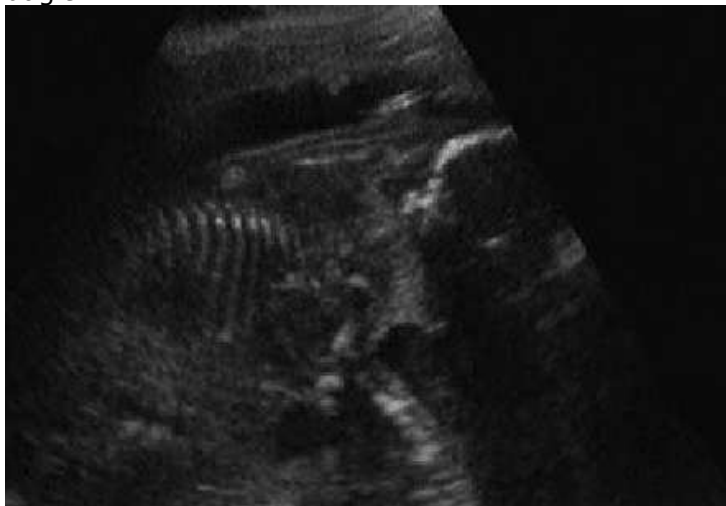




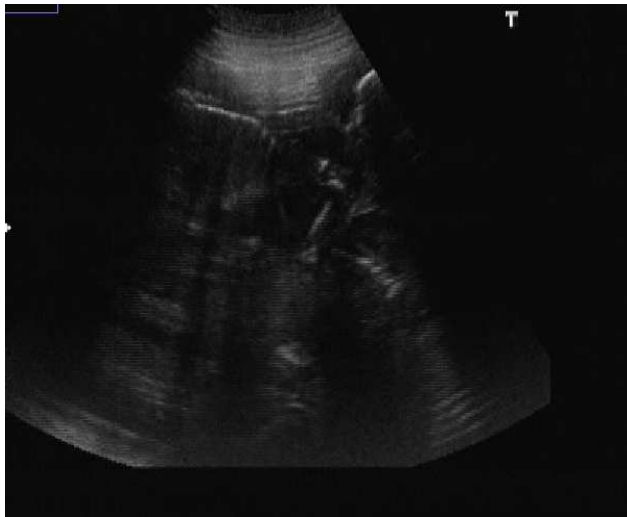
staf



dag 91







dag 93



Bpd

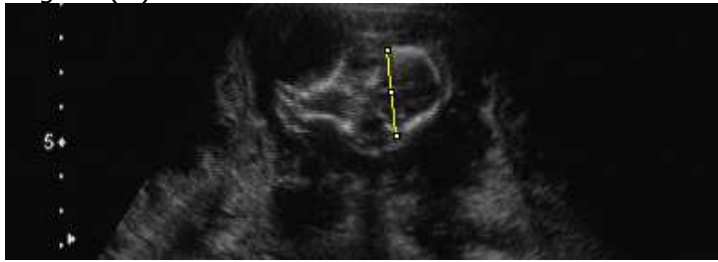
Dag 56 (D)



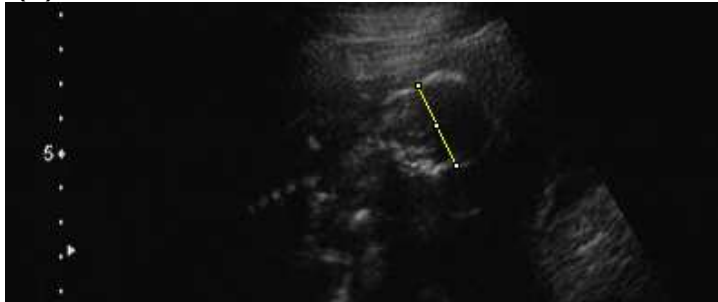
dag 58



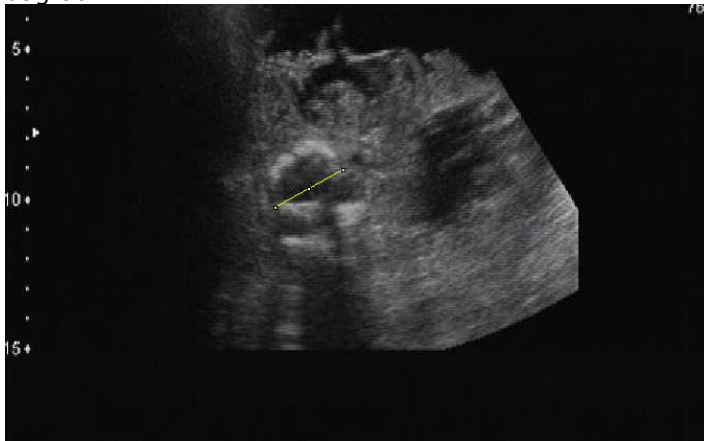
dag 63 (D)



(*)



dag 66

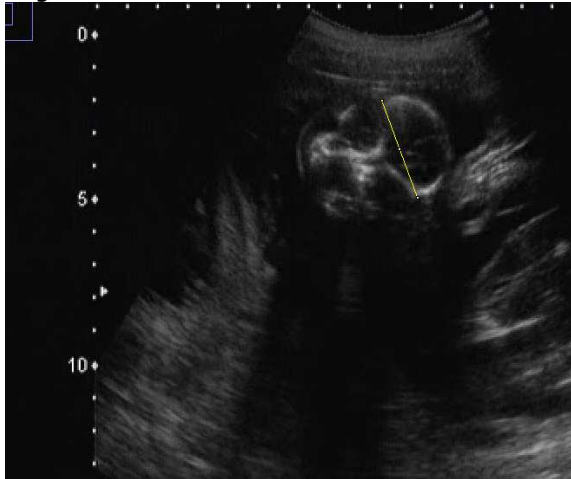




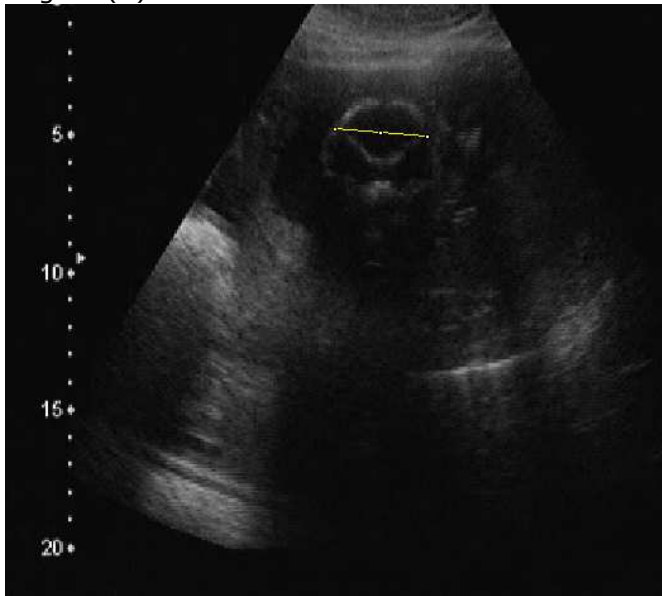
dag 68



dag 70



dag 84 (D)



dag 91

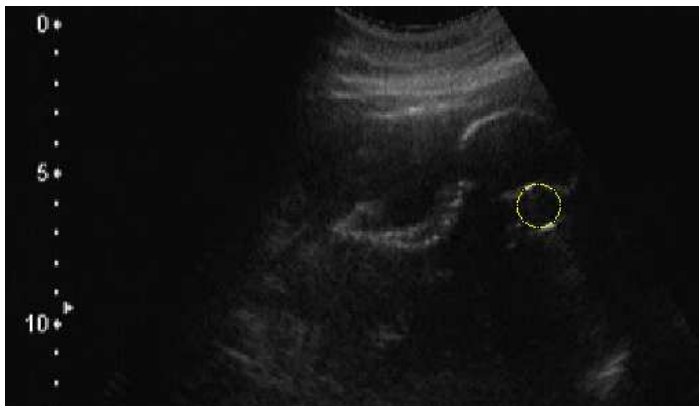


Oogkas

Dag 70



dag 84



Protocol: van echobeelden in mpg naar metingen in ImageJ vanuit image sequences - Onderzoek: parameters foetale groei in varkens; F. de Zeeuw

Stap 1: Voorbereiding

- Geef iedere meting een naam (anders dan opname 1 t/m 10), zodat je het precies terug kan vinden: bijv. zeug 1942 22-2 big 1 (evt. film 1)
- Zet bij iedere film één (of meerdere) mapje(s) met image sequence(s) zodat je die daarin op kan slaan.

Stap 2: Virtual Dub

- Download Virtual Dub: <http://home.comcast.net/~fcchandler/stable/> → virtualdub-MPEG2.zip openen
- Open Virtual Dub
- File, open video file → mpg filmpje aanklikken
- Instellingen aanpassen: audio: no audio
- File : save as image sequence
 - Schermplaatje: naam veranderen (komma niet vergeten na laatste cijfer, zodat deze niet aan het nummer van het frame vastgeplakt wordt)
 - Map selecteren waar hij in moet komen, opslaan als JPEG
 - Aanklikken later omzetten en opslaan: job control
- Job control openen: meerderen in de wacht → klik op start (gaat in 1 keer alles achter elkaar omzetten)
- Tip: zet ImageJ en Virtual Dub niet tegelijk open, i.v.m. de snelheid van het omzetten.

Stap 3: (ImageJ)

- Open ImageJ
- Openen film: klik op file, import, image sequence... klik in de serie die je wilt openen de eerste aan en dan herkent hij zelf welke daarbij horen.
- Open analyze tools: klik op ROI manager (laat deze de hele tijd open staan)
- Instellingen goed zetten:
 - set measurements: zet een vinkje voor: area (evt voor opp. Bot?), stack position, display label, Feret's diameter, Shape descriptors. 3 decimalen
 - Set scale: meet in het plaatje de afstand en de pixels op een bepaalde lijn (de schaallijn is een goede meter, dus trek bijvoorbeeld een lijn van 0 tot 5 cm) Open set scale en vul in 5 cm. Het aantal pixels is al ingevuld. De schaal wordt berekend.
 - Tip: controleer zo nu en dan of de schaal in je afbeeldingen nog hetzelfde is.
- Om te meten:
 - pak het 5^e symbooltje met lijnen tekenen en trek een lijn op de plaats waar je wilt meten.

- Oogdiameter: pak het cirkel symbool, houdt shift tegelijk dat je de cirkel tekent ingedrukt, zodat hij echt rond is en niet ovaal. Zet bij set measurements een vinkje bij Feret's diameter (al gedaan bij set measurements) zodat hij de diameter meet: dit is in de results Feret.
- Opslaan van je meting: in ROI manager: klik add en de meting komt in de lijst te staan, klik rename en zet er bijv. bpd of humerus bij, klik measure
- Kijk in results (dit bestandje heeft hij vanzelf geopend): de meting staat er in.
- Opslaan: alles van 1 varken of 1 dag in 1 excel document opslaan in een aparte map met alle resultaten. Deze kunnen op het laatst samengevoegd worden, maar als er iets misgaat kun je de rest nog behouden en ben je niet alles in 1 keer kwijt. Evt kun je tussendoor iets opslaan en later op de dag daaroverheen. Belangrijk: sla de metingen op in Excel en daarnaast moet de ROI manager ook apart opgeslagen worden!!

Stap 4:

Zet alles overzichtelijk in Excel, zodat er grafieken gemaakt kunnen worden.

Projectbeschrijving Onderzoekstage Diergeneeskunde

Studentnummer:	3260348
Naam:	Florina de Zeeuw
E-mailadres:	f.dezeeuw@students.uu.nl
Titel van onderzoek:	Echoscopisch onderzoek naar intra-uteriene groei van biggen

Onderwerp en plaats van uitvoering

Titel van onderzoek:	Echoscopisch onderzoek naar intra-uteriene groei van biggen
Geplande aanvangsdatum:	07-02-2011
Hoofdafdeling:	Landbouwhuisdieren
Onderzoeksgroep:	Samenwerking AVM en E&C
Werkplekbegeleider:	Wikke Kuller en Elise Gieling
E-mailadres en telefoonnummer begeleider:	w.i.kuller@uu.nl, 0302531820

Onderzoeksplan

1. Achtergrond
2. Doel van het onderzoek
3. Uitvoering van de stage: werkplan, protocollen, materialen en methoden
4. Tijdsplanning

Achtergrond

Praktisch gedeelte

Deze onderzoekstage maakt deel uit van een studie naar hersenontwikkeling van ongeboren biggen (onderzoekslijn Emotion and Cognition), als mogelijk toekomstig model voor hersenschade tijdens de zwangerschap van het ongeboren kind.

Het is bekend dat kinderen die tijdens de zwangerschap onvoldoende groeien ook een grotere kans hebben op hersenschade tijdens de zwangerschap. De oorzaak kan hierbij bijvoorbeeld liggen in een onvoldoende functionerende placenta. Deze kinderen worden tijdens de zwangerschap vaak extra gecontroleerd door middel van groeimetingen. Aangezien er nog weinig therapieën zijn ontwikkeld zijn er momenteel weinig opties voor behandeling. Alleen bij ernstige problemen wordt een sectio gedaan om het kind vervroegd op de wereld te brengen en verder te kunnen ondersteunen. Wenselijker zou het zijn een therapie te ontwikkelen om de werking van de placenta te verbeteren en zo het kind te beschermen tegen de gevolgen van de slechte werking, of om de schade welke in de hersenen wordt aangericht door een minder goed functionerende placenta te beperken met behulp van medicijnen (bijv. allopurinol). Humaan heeft dit onderzoek echter zo zijn ethische belemmeringen.

Het varken heeft qua fysiologie, anatomie, orgaangrootte en levensduur grote overeenkomsten met de mens. Ook is het zo dat in een toom altijd een aantal groeigeretardeerde biggen voorkomt. Om deze redenen kan het varken in de biomedische wetenschap als belangrijk diermodel dienen. Ook wanneer het gaat om humane zwangerschappen en vroege ontwikkeling van ongeboren kinderen kan dit een belangrijk model zijn.

Dit onderzoek is niet alleen van belang voor de humane wetenschap, maar ook in de diergeneeskunde is het belangrijk om de groei van de biggen tijdens de dracht te kunnen volgen. De afgelopen jaren is de grootte van de toom toegenomen en daarmee is ook de heterogeniteit van de toom vergroot. Wanneer men hier op in zou willen grijpen, bijvoorbeeld met veranderingen van voeding tijdens de dracht, is het van belang dat er al normaalwaarden bekend zijn van de normale groei tijdens de dracht.

Een eerste stap in de ontwikkeling van het varken als model voor dit soort onderzoek is dus het bepalen van normale intra-uteriene groeicurves van biggen door middel van echoscopisch onderzoek.

Theoretisch gedeelte

Omdat het belangrijk is om te ontdekken wat de impact van de Intra-Uterine Growth Retardation (IUGR) op de foetus is, zal ik mij daarmee bezig gaan houden. Het is daarbij interessant om te zien wat de verschillen zijn tussen een aantal diersoorten (bijv. varken, herkauwer) en de mens. Te bepalen parameters van groei zijn onder andere femurlengte, rompomtrek en de biparietaal diameter. Nu is het een feit dat bij het varken enige beperkingen optreden, omdat het niet altijd fysiek mogelijk is om een bepaalde parameter te meten. Het is dus van belang dat er onderzoek gedaan wordt naar betrouwbare mogelijke parameters bij het varken om de groei van biggen te kunnen volgen. Uit recent onderzoek (IUGR: morphological and behavioral description, Eric Chevaux et al., juli 2010, proceedings of the 21st IPVS Congress Vancouver Canada) is al gebleken dat via laterale en dorso-ventrale observaties van de kop snel een conclusie kan worden getrokken over immaturiteit van de big tijdens de geboorte.

Doel van het onderzoek

Praktisch gedeelte

Het doel van dit onderzoek is het monitoren van de intra-uteriene groei van biggen aan de hand van verschillende parameters. Op deze manier kunnen 'standaarden' van normaalwaardes verkregen worden van biggen-maten op verschillende tijdstippen gedurende de dracht. De verschillende parameters die gemeten zullen worden door middel van transabdominale echografie bij drachtige zeugen zijn femurlengte en biparietale diameter (BPD).

Theoretisch gedeelte

In het theoretisch gedeelte zal ik mij bezighouden met de impact van IUGR op de foetus en wat daarin de verschillen zijn tussen een aantal diersoorten (bijv. varken, herkauwer) en de mens. Hierbij is het belangrijk om te ontdekken welke parameters al gebruikt worden en welke eventueel in de toekomst ook gebruikt kunnen worden.

Uitvoering van de stage

Praktisch gedeelte: transcutane echografie

▪ *Dieren en verzorging*

Het onderzoek zal uitgevoerd worden op de Tolakker, waar op de kraamafdeling altijd zeugen met verschillende drachtlengtes aanwezig zijn. In de separatuurimte van de dragende zeugenstal is een mooie ruime scanbox aanwezig waarin het dier rustig kan liggen. Aan het einde van een scansessie zal een dier positief beloond worden met een beetje voer.

▪ *Uitvoering van het experiment*

Gedurende 6 weken zullen 4 zeugen vervolgd worden tussen 60 en 100 dagen dracht en in die zeugen zullen steeds aan 3-4 biggen metingen worden verricht. In ieder geval femurlengte en biparietaal diameter zullen worden bepaald, en verder nog nader te bepalen parameters die gevonden worden in de literatuur van andere diersoorten. Een zeer geavanceerd humaan echoapparaat is gereserveerd voor dit onderzoek.

- *Data analyse*

De metingen zullen worden gerelateerd aan de drachtlengte en zo een groeicurve vormen, inclusief de curves voor het 5^e en 95^e percentiel.

Theoretisch gedeelte: literatuuronderzoek

Gedurende deze drie maanden van onderzoek zal ik mij bezig houden met de impact van IUGR op de foetus en wat daarin de verschillen zijn tussen een aantal diersoorten (bijv. varken, herkauwer) en de mens. Hierbij is het belangrijk om te ontdekken welke parameters al gebruikt worden en welke eventueel in de toekomst ook gebruikt kunnen worden bij het varken. Om de vragen te kunnen beantwoorden zal ik wetenschappelijke artikelen gebruiken, waarvoor ik onder anderen gebruik zal maken van Vetportal, Pubmed en Refworks.

Tijdsplanning

Het praktische onderzoek zal door meerdere studenten uitgevoerd worden over het hele jaar 2011. Zelf zal ik beginnen op 7 februari 2011 en drie maanden later op 7 maart 2011 hoop ik mijn onderzoeksgedeelte afgerond te hebben.

Praktisch gedeelte

Iedere week zullen er drie dagdelen metingen gedaan worden naar de groei van de biggen met behulp van transcutane echografie. Deze dagdelen zullen iedere week hetzelfde zijn, dus bijvoorbeeld iedere week op dinsdag-, woensdag- en donderdagochtend. Deze momenten zullen moeten worden bepaald in overleg met de studenten met wie samengewerkt gaat worden.

Theoretisch gedeelte

Aan het literatuuronderzoek kan gewerkt worden op de tijden dat er geen praktische metingen worden verricht. Dit komt dus neer op twee hele dagen van ongeveer 8 uur en 3 halve dagen van ongeveer 4 uur.

Biggen zeug 2009 – dag 4 na geboorte



Biggen zeug 2009 – dag 4 na geboorte



Biggen zeug 1959 – 4 dagen na geboorte



Biggen zeug 1942 – 4 dagen na geboorte



Biggen zeug 2023 – 4 dagen na geboorte



Biggen zeug 1969 – 4 dagen na geboorte

