

Estudo de ovários fetais equinos: uma abordagem histológica¹

Gabriela D. de Moraes², Bruna da R. Curcio³, Carlos E. Nogueira³, Fernanda M. Pazinato⁴, Ilusca S. Finger⁴, Alessandra C. Silva⁴, Antônio S. Varela Junior⁵ e Carine Dahl Corcini^{6*}

ABSTRACT.- Moraes G.D., Curcio B. da R., Nogueira C.E., Pazinato F.M., Finger I.S., Silva A.C., Varela Jr. A.S. & Corcini C.D. 2016. [Study of fetal equine ovary: an histological approach.] Estudo de ovários fetais equinos: uma abordagem histológica. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 36(11):1116-1120. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande, Avenida Itália, km 8, Bairro Carreiros, Rio Grande, RS 96203-900, Brazil. E-mail: corcinicd@gmail.com

The study of embryological development of reproductive organs is an important tool for understanding the particularities of the equine species. Also it is important for increasing knowledge about the development of antral follicles that can be used for *in vitro* production of embryos. This study aimed to describe the morphological changes of fetal equine ovaries occurring during gestational development. It was used equine fetuses from a slaughterhouse. After slaughter, it was performed the measurement of cefalococcígea distance to calculate the gestational age (days of pregnancy - DP). Afterwards, the ovaries were grossly evaluated, removed and fixed. Then, they were histologically assessed by hematoxylin-eosin and PAS techniques. It was used 19 fetuses aged 50 to 269 days of gestation, distributed in 9 groups divided according to DP. In the grossly evaluation, it was observed differences between the volume of the ovaries according to gestational age, being observed bigger/larger ovarian volume between 210 days to 269 DP. During the histological evaluation, it was observed a simple cuboidal epithelium and a distinction between the cortical and medullary layers in fetal ovaries from 50-89 DP. The main characteristics identified were: the morphological distinction between the cortical and medullary layers in equine fetal ovaries; the ovigerous cords emerged in the interval between 150 and 179 DP; the cortex initiated as a thin layer with an increased amount of connective tissue rich in blood vessels by the 210 DP, structural uniformity acquired in the medular region by the 150 DP, showing similar cells in size and blood vessels of larger caliber. From this stage, the cells in this region had decreased in size and dense connective tissue bundles, which made this zone partially divided.

INDEX TERMS: Fetal equine ovary, reproduction, ovigerous cords, ovarian fetal development, histological characterization

¹ Recebido em 18 de novembro de 2015.

Aceito para publicação em 12 de maio de 2016.

² Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Av. Itália Km 8, Bairro Carreiros, Rio Grande, RS 96203-900, Brasil.

³ Departamento de Clínicas Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), Av. Eliseu Maciel s/n, Capão do Leão, RS 96160-000, Brasil.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFPeL, Av. Eliseu Maciel s/n, Capão do Leão, RS 96160-000, Brasil.

⁵ Instituto de Ciências Biológicas, FURG, Av. Itália Km 8, Bairro Carreiros, Rio Grande, RS 96203-900, Brasil.

⁶ Departamento de Patologia Animal, Faculdade de Veterinária, UFPeL, Av. Eliseu Macie s/n, Capão do Leão, RS 96160-000, Brasil. *Autor para correspondência: corcinicd@gmail.com

RESUMO.- O estudo do desenvolvimento embriológico de órgãos reprodutivos representa uma ferramenta importante para a compreensão das particularidades da espécie equina, assim como ampliar os conhecimentos sobre o desenvolvimento de folículos antrais que podem ser utilizados para produção *in vitro* de embriões. O presente trabalho teve como objetivo descrever as alterações morfológicas de ovários fetais equinos ocorrentes durante o desenvolvimento gestacional. Foram utilizados fetos equinos provenientes de abatedouro. Imediatamente após o abate foi realizada medição da distância cefalococcígea para o cálculo da idade gestacional em dias (dias de gestação - DG) e dissecação dos fetos para a retirada e fixação dos ovários. Foram realizadas avaliações macroscópicas e histológicas

pelos métodos de Hematoxilina-eosina e PAS. Foram utilizados 19 fetos com idade de 50-269 dias de gestação, distribuídos em 9 grupos de DG. Na avaliação macroscópica foi observada diferença entre o volume dos ovários de acordo com a idade gestacional, sendo observado maior volume ovariano entre os dias 210 a 269 de desenvolvimento gestacional. Na avaliação histológica foi observado epitélio de revestimento cúbico e distinção entre as camadas cortical e medular nos ovários fetais a partir de 50-89 DG. As principais características identificadas foram a distinção morfológica entre as camadas cortical e medular nos ovários fetais equinos: os cordões ovíferos surgiram no intervalo de 150-179 DG; o córtex iniciada como uma camada delgada e por volta do 210º dia de gestação apresentou espessamento pelo aumento da quantidade de tecido conjuntivo rico em vasos sanguíneos, o qual se manteve até os estágios finais da gestação; a região medular adquiriu uniformidade estrutural por volta do 150º dia, mostrando células similares em tamanho e vasos sanguíneos de calibre maior. A partir desta etapa, as células medulares diminuíram em tamanho e feixes de tecido conjuntivo denso tornaram esta zona parcialmente dividida.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Ovário fetal equino, reprodução, cordões ovíferos, desenvolvimento fetal ovariano, caracterização histológica

INTRODUÇÃO

Os principais estudos relacionados ao desenvolvimento ovariano fetal de éguas foram realizados no século 19. No ano de 1955, foram descritas alterações estruturais dos ovários de equinos, os quais apresentaram aumento de peso e volume até o período de 240 dias de gestação e logo a seguir uma diminuição desses parâmetros, sendo esta característica peculiar à espécie. Além disso, foi verificado que a diferenciação da glândula sexual ocorreu em torno do 30º dia (Sakai 1955). Posteriormente foi definido um considerável aumento do tamanho gonadal entre o quarto e o décimo mês de gestação (González-Ángulo et al. 1971).

As particularidades encontradas durante o desenvolvimento fetal do ovário equino são: fossa ovariana, tecido cortical presente na porção central do parênquima, abundante estroma fibroso e a ocorrência de tecido adrenocortical ectópico (McEntee 1993).

O estudo do desenvolvimento embriológico de órgãos reprodutivos representa uma grande ferramenta para a compreensão de mecanismos envolvidos na perpetuação das espécies bem como de anomalias, tanto das gônadas quanto de outras estruturas do sistema reprodutor. Assim como conhecimento sobre o desenvolvimento de folículos antrais que podem ser utilizados para produção *in vitro* de embriões equinos. Nos últimos 10 anos, a reprodução assistida em equinos tem apresentado evolução marcante, contudo até o momento as taxas de maturação oocitária são baixas e os protocolos de fertilização *in vitro* não foram padronizados (Hinrichs 2010, Smits et al. 2012). Desta forma os conhecimentos do desenvolvimento gonadal e oocitário são fundamentais para o incremento do potencial reprodutivo de equinos domésticos, com na conservação de equíde-

os ameaçados de extinção (Smits et al. 2012). Até o presente momento somente um estudo foi conduzido em equinos sob clima tropical (Naves et al. 2008), o qual ressaltou o surgimento e quantificação das ovogônias e folículos.

Em virtude da escassez de informações sobre o assunto e dada a importância do entendimento do desenvolvimento ovariano fetal desta espécie, este trabalho teve como objetivo descrever as alterações morfológicas ocorrentes desde os estágios iniciais de desenvolvimento fetal até o terço final da gestação em equinos mestiços mantidos sob clima tropical

MATERIAL E MÉTODOS

Os fetos utilizados para a realização deste estudo foram provenientes de um abatedouro especializado em equinos, localizado no município de São Gabriel/RS, localizado a 315 km da Universidade Federal de Pelotas. Após a coleta foram realizadas medições em centímetros da distância cefalococcígea (CR), espaço intercostal, perímetro torácico (na região das cruzes) e dos diâmetros de órbita, crânio e tórax (na região da segunda costela). A determinação da idade gestacional em dias (dias de gestação - DG) foi realizada de acordo com a descrição de Naves et al. (2008), pela utilização da fórmula de regressão $DG = 22,623 + 4,2528 CR - 0,0124 CR^2$ ($r^2 = 0,98$).

Imediatamente após o abate, ainda no local, foi realizada dissecação da cavidade abdominal e a retirada dos ovários (direito e esquerdo) dos fetos. Na avaliação macroscópica foram realizadas medições de ambos os ovários de cada feto colhido. Realizaram-se as medidas de comprimento, largura e altura para estabelecimento do volume individual de cada ovário. Após, foram realizados cortes transversais nos ovários, sendo separados dois fragmentos do terço médio de cada gônada para fixação por 24h em paraformaldeído tamponado a 4% e posterior armazenamento em álcool 70% (v/v) a temperatura ambiente (20-25°C) até o processamento. A região da fossa de ovulação não foi considerada para avaliação.

As amostras foram desidratadas em série de concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol, e incluídas em paraplaxtra (Sigma 1838) no Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Os blocos foram seccionados em séries de 5 µm de espessura em micrótomoto motorizado LEICA RM2255, a cada 15 cortes três foram rotineiramente corados com hematoxilina de Mayer e eosina (HE); e três cortes para realização da coloração ácido periódico-Schiff (PAS) com objetivo de identificar a presença de membrana basal. Depois da coloração, as lâminas foram montadas e analisadas em microscopia de luz. Os cortes histológicos foram analisados em microscópio de luz Olympus BX51 e as imagens foram capturadas pela câmera DP72. Assim, foram avaliadas 20 lâminas por ovário. Sendo selecionados aleatoriamente 10 campos/lamina para cada ovário/animal. As lâminas foram analisadas nos aumentos de 40x, 100x, 400x e 1000x. Nas seções, além do epitélio de revestimento e componentes do estroma ovariano, foi verificada a possível presença de ovogônias, células pré-granulocíticas, cordões ovíferos e células intersticiais.

A análise da espessura da cortical foi mensurada através da distância perpendicular ao limite cortico-medular e o exterior do órgão. A mensuração do número de cordões ovíferos foi avaliada na área de 1 mm². Estas análises foram executadas para todos os animais sendo os resultados agrupados em três terços (1º terço 60-120 DG; 2º terço 120-210 DG e 3º terço 210-300 DG). As fotomicrografias feitas no microscópio de luz Olympus BX51 e as imagens capturadas pela câmera DP72, sendo realizada a padronização de pixels para micras através de lâmina micrometrada e após foram avaliadas no software Image J®.

Para comparação das diferenças do volume dos ovários em re-

lação aos grupos de idade gestacional foi realizada análise estatística através do programa Statistics® 10.0. Foi realizada análise de variância (AOV-AOCV), com comparação entre médias pelo teste LSD. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS

Foram utilizados 18 fetos com idade de 50 a 269 dias de gestação, as medidas CR realizadas e idade (DG) estão descritos no Quadro 1.

Na avaliação macroscópica não foi observada diferença entre o volume dos ovários dos diferentes lados, sendo observada média geral de 45,96cm³ no lado direito e 44,99cm³ no lado esquerdo. Quando realizou-se a comparação do volume ovariano médio de acordo com a idade gestacional, foi observada diferença entre os grupos de idade (Fig.1). Sendo observado maior volume ovariano entre os dias 210 a 269 de desenvolvimento gestacional.

A superfície do ovário apresentou-se revestida por uma camada de células epiteliais cúbicas, frouxamente arranjadas e sem membrana basal discernível.

Nas amostras entre 50 e 89 dias de gestação (CR= 6,6-16,0cm) eram visualizadas ovogônias isoladas. Foi identificada a divisão de camadas no interior do ovário fetal, onde foi observado um córtex externo contendo células germinativas no interior dos cordões ovígeros e uma medula interna composta de células intersticiais. Essas células intersticiais apresentavam tamanhos variados e eram ricas em gotículas de material lipídico.

Os fetos de 120-149 dias de gestação (CR=24,5-33,0cm) apresentavam ovogônias organizadas em pequenos grupos

Quadro 1. Distância cefalococcígea (CR) e idade gestacional (DG) dos fetos equinos avaliados

Medida CR (cm)	Número fetos (n)	Idade (dias de gestação - DG)
6,6 - 16,0	3	50-89
16,1 - 24,4	2	90-119
24,5 - 33,0	1	120-149
33,1 - 42,0	3	150-179
42,1 - 51,9	2	180-209
52,0 - 62,5	1	210-239
62,6 - 74,1	3	240-269
74,2 - 87,5	3	270-299

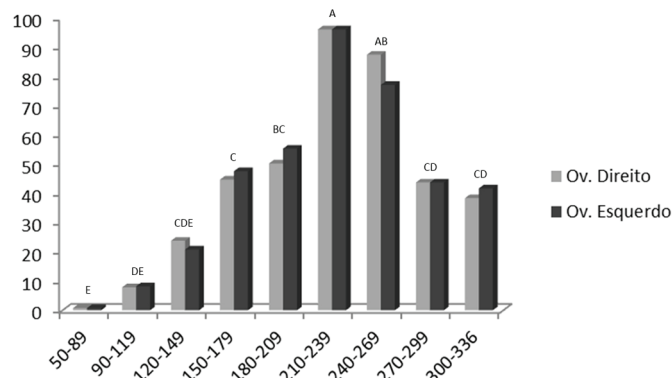


Fig.1. Média de volume ovariano (cm³, eixo y) de fetos provenientes de abatedouro, distribuídos de acordo com os grupos de idade gestacional (dias); letras diferentes nas colunas representam diferença entre os grupos ($p < 0,001$).

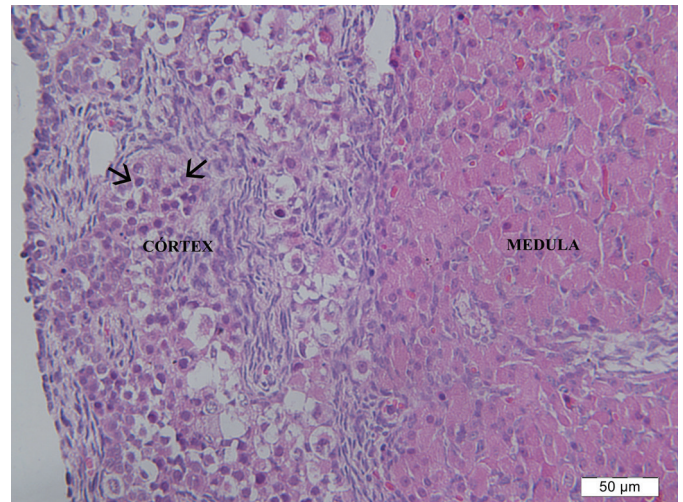


Fig.2. Secção mostrando a distinção entre as camadas cortical e medular do ovário. No córtex é possível observar alguns grupos de ovogônias (setas) e na região medular as células intersticiais. HE, obj.20x.

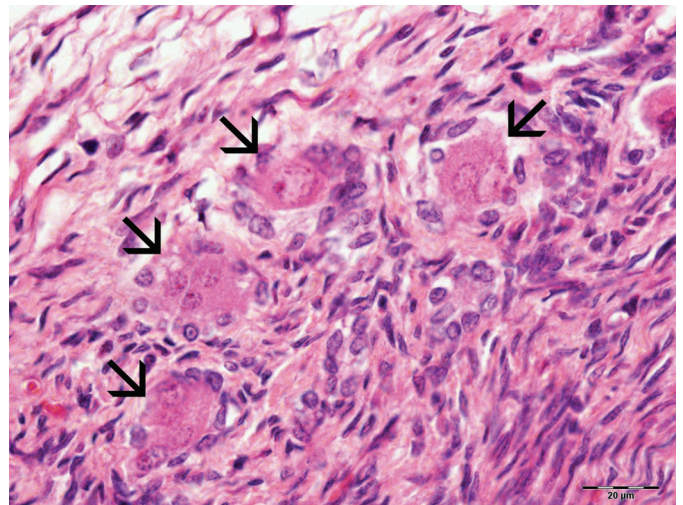


Fig.3. Detalhe da região cortical mostrando um grupo de ovogônias e suas células pré-granulocíticas. HE, obj.40x.

na região cortical e grande quantidade de células intersticiais na medula, evidenciando a distinção entre as duas regiões (Fig.2). Algumas ovogônias foram observadas bem próximas à superfície ovariana. A presença de células mesenquimais também foi registrada estabelecendo íntimo contato através de suas finas extensões citoplasmáticas, assim como as células foliculares, precursoras das células da camada granulosa. Células foliculares, também denominadas pré-granulocíticas encontravam-se associadas às ovogônias na região do córtex ovariano. Apresentavam forma cúbica, com núcleos únicos e esféricos bem delimitados e basófilos (Fig.3). Foram observados alguns fibroblastos, sobretudo no córtex, onde se dispunham principalmente em torno dos agrupamentos formados por células foliculares e ovogônias, caracterizando os cordões ovígeros (Fig.4). Aos 120 dias de gestação uma cápsula de tecido conjuntivo localizada na interface córtex-medula era nitidamente identificável e em algumas secções foi possível visualizar alguns

septos que partiam desta região em direção ao tecido cortical. A existência de pequenos vasos sanguíneos, sobretudo capilares, foi evidenciada em todo ovário. Na região medular também foram observadas arteríolas e vênulas.

Nos ovários fetais de 150 a 179 dias de gestação (CR=33,1-42,0cm) não foi observada modificação morfológica aparente nos cortes histológicos. Neste mesmo período, os cortes histológicos corados com a técnica PAS evidenciaram os cordões ovígeros (Fig.5). A visualização desta membrana basal (espessamento) não foi registrada nas lâminas de ovários fetais com 120-149 dias de gestação.

Nos ovários de 270-299 DG (CR=74,2-87,5) as células que constituíam a região medular possuíam formato irregular, apresentando citoplasma fortemente acidófilo contendo gotículas de característica lipídica, núcleo esférico, nucléolo evidente e cromatina esparsa (Fig.6).

Ao longo do desenvolvimento fetal, pôde-se observar que a medula ovariana adquiriu aspecto uniforme, com grande capilarização e particularmente no terço final apresentando vasos arteriais e venosos de pequeno e médio calibre.

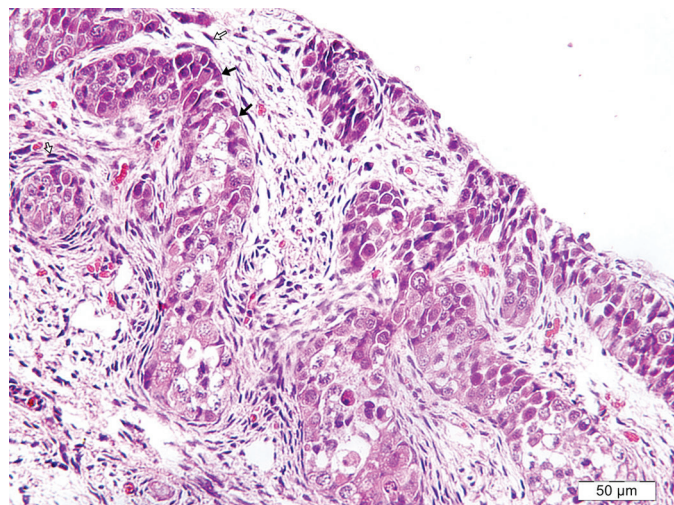


Fig.4. Região cortical mostrando grupos de ovogônias dentro dos cordões ovígeros, membrana basal (setas pretas) e fibroblastos (setas brancas). HE, obj,20x.

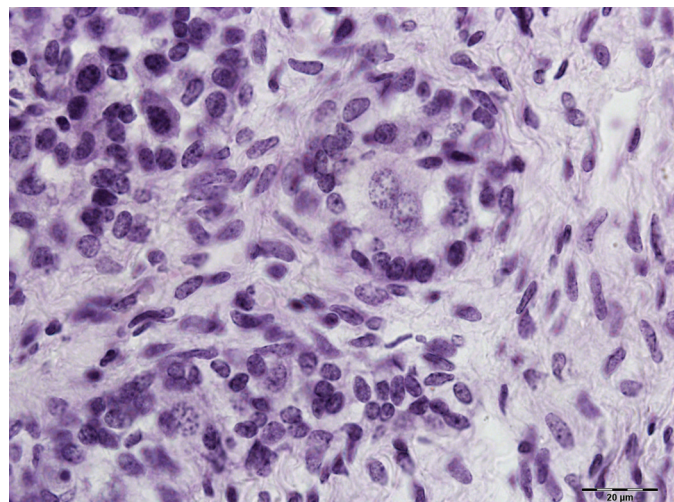


Fig.5. Detalhe de grupo de ovogônias. PAS, obj,40x.

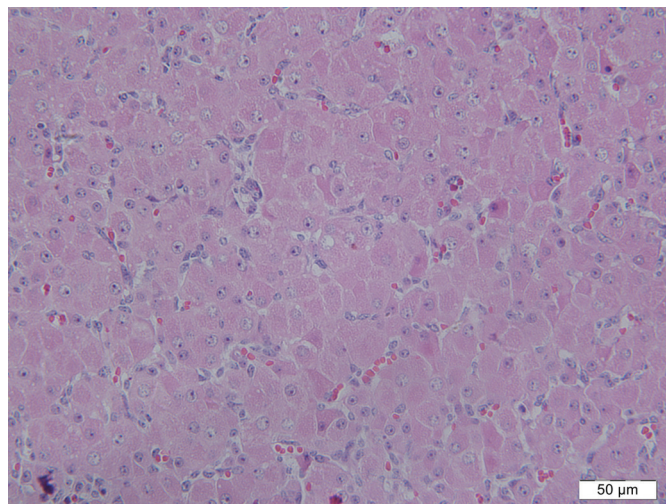


Fig.6. Detalhe da medula ovariana, mostrando as células intersticiais de formato irregular, núcleo único e esférico possuindo apenas um nucléolo e citoplasma contendo gotículas de material lipídico. Alguns capilares contendo hemácias também podem ser visualizados. HE, obj,20x.

Quadro 2. Médias \pm Erro padrão da média da espessura cortical e número de cordões ovígeros por área de tecido cortical

	1º Terço 60-120 DG (n=6)	2º Terço 120-210 DG (n=7)	3º Terço 210-300 DG (n=5)
Espessura cortical (μ m)	305,1 \pm 6,1 ^C	383,0 \pm 8,3 ^B	425,5 \pm 16,3 ^A
Número de cordões ovígeros /mm ²	45,0 \pm 2,7 ^A	24,7 \pm 3,6 ^B	4,4 \pm 1,5 ^C

Na avaliação morfométrica, foi evidenciando que o surgimento dos cordões ovígeros ocorre no primeiro terço da gestação reduzindo progressivamente a quantidade durante o desenvolvimento da gestação. Além disso, ocorreu o aumento progressivo da espessura da região cortical (Quadro 2).

DISCUSSÃO

Neste estudo, foi observado aumento de espessura da zona cortical ovariana ao longo do desenvolvimento fetal associada a uma redução do número de cordões ovígeros, a partir do segundo terço gestacional avaliado. A diminuição gradativa dos cordões ovígeros parece ser uma característica conservada ao longo do processo evolutivo e tem sido relatada em outras espécies de mamíferos, como por exemplo, em macacas (Fouquet & Dang 1980), ovelhas (Sawyer et al. 2002), bovinos (Kenngott et al. 2013) e seres humanos (Konishi et al. 1986), bem como na espécie de codorna *Coturnix coturnix japonica* (Madekurozwa 2012).

Na espécie bovina foi descrita a existência de uma lâmina basal contínua entre o estroma ovariano e os cordões ovígeros, entre o estroma e os folículos e entre o estroma e o epitélio que reveste o ovário (Hummitzsch et al. 2013), o que também foi observado na presente investigação. Segundo estudos realizados por Sawyer (2002), ovários fetais de ovelhas também continham cordões ovígeros contendo células primordiais. Visto que o aumento em número e tamanho dos cordões ovígeros no córtex e a visualização da

membrana basal foram evidentes nas amostras referentes ao período de 180-209 DG (CR=42,1-51,9) e devido ao fato da não visualização da membrana nas secções com CR inferior a 33,0, acreditamos que o espessamento das membranas basais dos cordões ovígeros ocorreu no intervalo de 150-179 DG (CR=33,1-42,0).

Hay & Allen (1975) relataram hipertrofia e hiperplasia ovariana e correlacionaram estes fatos às células intersticiais localizadas na medula do órgão. A presença de aumento na espessura cortical encontrada em nosso estudo indica que a hipertrofia ovariana encontrada neste período gestacional, deva-se a uma modificação do órgão por inteiro e não só pela medula, embora tenhamos observado diminuição gradativa do tamanho das células intersticiais durante este período. A involução de tecido intersticial esteroideogênico também foi relatada por Fouquet & Dang (1980) na espécie *Macaca fascicularis*. O aumento do calibre dos vasos sanguíneos na medula também poderia explicar a hipertrofia ovariana citada por Hay & Allen (1975).

Konishi et al. (1986) observaram algumas células intersticiais penetrando no córtex de ovários fetais humanos por volta da 15ª semana de gestação. Segundo este estudo, tais células atingiram seu número máximo por volta da 18ª semana e diminuíram entre 21 e 31 semanas, tornando-se raras na 40ª semana. Entretanto, em nossas análises, não foi constatada a presença de células intersticiais infiltradas na camada cortical.

A sequência de eventos relacionadas a proliferação das ovogônias e a penetração do estroma do centro do órgão em direção à superfície, observada pelo presente estudo está de acordo com o descrito pelo grupo de Hummitzsch et al. (2013), para ovários de *Bos taurus*. Ocorrendo a formação de pequenos grupos celulares delimitados por membrana basal, denominados cordões ovígeros. Deanesly (1975) observou um número crescente de ovogônias aos 102 DG enquanto Naves et al. (2008) constatou gradativa diminuição no número destas células a partir de 90 DG até o desaparecimento das mesmas aos 280 DG. O presente trabalho concorda com os resultados obtidos por Naves et al. (2008), apresentando diminuição gradativa a partir dos 120 DG, provavelmente resultante da diminuição do impulso ovogênico, que em equinos desaparece por completo por volta dos 210 DG (Deanesly 1977).

Alguns trabalhos anteriores relataram que as células intersticiais podem ser encontradas na região cortical, associadas aos cordões ovígeros em outras espécies (Fouquet & Dang 1980, Konishi et al. 1986, Nottola et al. 2000). Porém, na espécie equina ainda não há registros publicados sobre este assunto. Além disso, pôde-se observar uma clara distinção entre as camadas cortical e medular. Na interface córtex-medula foi observada uma subcápsula de tecido conjuntivo emitindo septos em direção ao córtex.

CONCLUSÕES

Pôde-se concluir que existe uma distinção morfológica entre as camadas cortical e medular dos ovários fetais equinos no intervalo de 150 e 179 dias de gestação (DG).

O número dos cordões ovígeros diminui e a espessura da cortical aumenta conforme se aproxima da data do par-

to, o córtex com o 210º dia de gestação apresentou espessamento pelo aumento da quantidade de tecido conjuntivo rico em vasos sanguíneos, o qual se manteve até os estágios finais da gestação.

A região medular adquiriu uniformidade estrutural por volta do 150º dia, mostrando células similares em tamanho e vasos sanguíneos de calibre maior.

A partir desta etapa, as células medulares diminuíram em tamanho e feixes de tecido conjuntivo denso tornaram esta zona parcialmente dividida.

Agradecimentos. - À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS, Processo 10/0151-3) pelo financiamento deste estudo; ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica e Tecnológica (CNPq) pela bolsa de produtividade da Dra. Corcini; ao Abatedouro Foresta Ltda, município de São Gabriel/RS, onde foram coletadas as amostras de tecido.

REFERÊNCIAS

- Deanesly R. 1975. Germ cell development and the meiotic prophase in the fetal horse ovary. *J. Reprod. Fertil.* 23:547-552.
- Deanesly R. 1977. Germ cell proliferations in the fetal horse ovary. *Cell Tissue Res.* 185:361-371.
- Fouquet J.P. & Dang D.C. 1980. A comparative study of the development of the fetal testis and ovary in the monkey (*Macaca fascicularis*). *Reprod. Nutr. Dev.* 20:1439-1459.
- González-Ángulo A., Hernández-Jáuregui P. & Márquez-Monter H. 1971. Fine structure of gonads of the fetus of the horse (*Equus caballus*). *Am. J. Vet. Res.* 32:1665-1676.
- Hay M.F. & Allen W.R. 1975. An ultrastructural and histochemical study of the interstitial cells in the gonads of the fetal horse. *J. Reprod. Fertil.* 23:557-561.
- Hinrichs K. 2010. *In vitro* production of equine embryos: state of the art. *Reprod. Domest. Anim.* 45(Suppl.2):3-8.
- Hummitzsch K., Irving-Rodgers H.F., Hatzirodos N., Bonner W., Sabatier L., Reinhardt D.P., Sado Y., Ninomiya Y., Wilhelm D. & Rodgers R.J. 2013. A new model of development of the mammalian ovary and follicles. *PLoS ONE* 8:1-16.
- Kenngott R.A.M., Vermehren M., Ebach K. & Sinowatz F. 2013. The role of ovarian surface epithelium in folliculogenesis during fetal development of the bovine ovary: a histological and immunohistochemical study. *Sex Dev.* 7:180-195.
- Konishi I., Fugii S., Okamura H., Parmley T. & Mori T. 1986. Development of interstitial ovigerous cords cells and in the human fetal ovary: an ultrastructural study. *J. Anat.* 148:121-135.
- Madekurozwa M.C. 2012. An immunohistochemical study of ovarian follicle histogenesis in the early post-hatch japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Anat. Histol. Embryol.* 41:79-86.
- McEntee K. 1993. Embryology of the reproductive organs, p.1-7. In: *Ibid.* (Ed.), *Reproductive Pathology of Domestic Mammals*. Academic Press, New York.
- Naves C.S., Vieira R.C., Diniz E.G., Jacomini J.O., Belletti M.E. & Oliveira R.F. 2008. Desenvolvimento morfológico dos ovários em fetos equinos sem raça definida. *Ciência Rural* 38:416-422.
- Nottola S.A., Makabe S., Stallone T., Macchiarelli G., Correr S. & Motta P.M. 2000. Ultrastructure and distribution of interstitial glandular cells and associated elements in human fetal ovaries. *Arch. Histol. Cytol.* 63:345-355.
- Sakai T. 1955. Studies on the development of the embryonic ovary in swine, cattle and horse. *J. Vet. Res.* 3:183-198.
- Sawyer H.R., Smith P., Heath D.A., Juengel J.L., Wakefield S.J. & McNatty K.P. 2002. Formation of ovarian follicles during fetal development in sheep. *Biol. Reprod.* 66:134-1150.
- Smits K., Hoogewijs M., Woelders H., Daels P. & Van Soom A. 2012. Breeding or assisted reproduction? Relevance of the horse model applied to the conservation of endangered equids. *Reprod. Domest. Anim.* 47(Suppl.4): 239-248.