ETTORE DEBIASI

SULL'ECTOGENESI

Nibil est in natura magis admiratione dignum, quam productio per modum generationis (Astruc, 1783).

Il primo caso di ectogenesi appartiene alla mitologia: Semele, figlia di Cadmo era incinta di Dioniso, quando Zeus la bruciò col suo fulmine. Il dio salvò però dal suo corpo il frutto immaturo, il bambino Dioniso, nascondendolo nella sua coscia, cucendovelo dentro. Zeus l'avrebbe partorito poi sul monte Nisa nel lontano Oriente, quando era giunto il tempo della nascita.

Non sappiamo cosa pensassero gli antichi, prima delle civiltà accessibili alle nostre investigazioni, sulla riproduzione di nuovi individui di una razza.

Era nota da tempi immemorabili la possibilità di avere nuove piante a partire da loro frammenti. Tuttavia la natura della fecondazione nelle piante rimase oscura fino alla fine del secolo scorso.

La « generazione spontanea » a partire dalla materia inorganica era generalmente accettata; Aristotele (384-322 a.C.) sostenne che gli esseri hanno origine da una particolare combinazione dei quattro elementi: aria, acqua, terra e fuoco.

I filosofi greci tramandarono questa teoria agli alessandrini ed agli arabi; poi agli scolastici e infine ai ricercatori dell'epoca rinascimentale.

Risale però ai tempi di Aristotele la credenza che l'uovo della donna nascesse nell'utero da una commissione del sangue mestruale col seme maschile.

Le prime indagini sullo sviluppo dell'uovo sono quelle di Ippocrate (460-370 a.C.) sull'uovo di gallina; egli toglieva ogni giorno un uovo da covate coetanee, lo apriva e lo studiava di giorno in giorno fino alla schiusa; osservò così la prima formazione del cuore, negando l'esistenza nell'uovo dell'individuo preformato.

Galeno (130-200 d.C.) sosteneva che il seme femminile si formasse nei vasi delle ovaie, note a quei tempi come « testicoli femminili » e che raggiungesse l'utero attraverso le tube; al contatto col seme maschile si sarebbe formato un coagulo schiumoso dal quale si sarebbe sviluppato l'embrione. All'anima avrebbero provveduto i corpi celesti . . .

Alla teoria della preformazione per la quale qualsiasi natura umana giacerebbe incapsulata in forma compressa nel corpo della madre, si veniva così sostituendo la « teoria dell'epigenesi ».

Restano fondamentali le osservazioni di Fabrizio d'Acquapendente (1537-1619), il quale ispirò le ricerche di Harvey (1578-1657) che sostenne l'epigenismo di Aristotele.

Nel frattempo proseguiva la ricerca senza successo della cellula uovo dei mammiferi che aveva ancorato per quasi 2000 anni l'attenzione degli uomini. Fra il 1666 e il 1672 quattro ricercatori, fra cui l'olandese Reiner de Graaf, indipendentemente gli uni dagli altri, comunicavano che l'ovaio femminile, al pari delle ovaie degli uccelli, sviluppa cellule uovo. Mentre gli altri si contendevano la priorità della scoperta, De Graaf pubblicava le sue osservazioni in un eccellente volume intitolato « De mulierum organis generationi inservientibus », dal quale nasceva la definizione del follicolo ovarico. De Graaf fece però un grande errore quando ammise che l'intero follicolo ovarico dei mammiferi fosse la cellula uovo.

Dovette passare un secolo e mezzo prima che la cellula-uovo fosse realmente scoperta il 1° maggio 1827.

Karl Ernst von Baer, con ricerche di embriologia sul cane indagò embrioni di 24 giorni, poi di 12, poi blastule libere nell'utero e infine cellule uovo nella tuba. Infine identificò la cellula-uovo nell'ovaio, avendola trovata identica a quella che aveva osservato nella tuba.

Leuwenhoek (1632-1723) scopre gli spermatozoi e qui nascono i due partiti: quelli che parteggiano per la preformazione dell'individuo nell'uovo e quelli nello spermio.

Sono importanti a questo proposito gli esperimenti di F. Redi (1621-1697), l'autore di « Bacco in Toscana ». Egli esponeva pezzi di carne all'aria, in parte senza alcun involucro, in parte avvolti in garza o carta. Egli osservò che se le mosche deponevano le uova sulla carne putrefatta si sviluppavano su di essa i vermi. Mentre invece le larve

sviluppavano sull'involucro e non nella carne, se questa era avvolta da carta o garza.

Seguono le esperienze di Spallanzani (1729-1799) sugli infusori e di Pasteur (1822-1895) sui batteri. Spallanzani riuscì a dimostrare che gli « animaletti » del seme sono i veri responsabili dello sviluppo dell'uovo.

La dottrina dell'epigenesi che nega che l'organismo preformato riposi nella madre e che ritiene l'embriogenesi responsabile della costruzione del nuovo corpo, fu richiamata a nuova vita da Wolff (1738-1794), e la ricerca embriologica assurge a vera ricerca scientifica con Rathke (1793-1860), Schleiden (1804-1881), Schwann (1810-1881), Kölliker (1817-1905), Haeckel (1834-1919).

La teoria della evoluzione di Darwin (1809-1882) veniva trasportata da Müller (1821-1897) nel campo embriologico.

Si affermò: l'ontogenesi ricapitola la filogenesi.

Dallo studio sulle uova degli invertebrati si passò a quello dei vertebrati (His, 1831-1904; Hertwig, 1849-1922).

L'uovo vergine sarebbe un sistema metabolico inerte suscettibile di risveglio se viene fecondato (Warburg, 1908); Hertwig osservò l'affollamento degli spermi intorno all'uovo di riccio di mare. Una volta fecondato, l'uovo dà corso al suo sviluppo suddividendosi in segmenti, sempre più piccoli (blastomeri), passando così per il processo di segmentazione dalla condizione unicellulare a quella pluricellulare. Si arriva così, attraverso una successione ininterrotta di segmentazioni ad un ammasso cospicuo di cellule (blastula) e alla successiva disposizione a strati con formazione di cavità (gastrula).

Da questo punto in avanti lo sviluppo dell'uovo nelle varie specie presenta sensibili differenze.

La moderna embriologia si vale però di studi sperimentali ed è a Roux (1850-1924) che risale la Entwicklungsmechanik. Egli impostò semplici orientamenti di esperimento sulle uova di rana allo stadio di segmentazione di 2 e di 4 cellule. Se egli distruggeva uno dei due primi blastomeri, il blastomero sopravvivente sviluppava un mezzo embrione. Con una forte predilezione per speculazioni filosofiche concernenti lo sviluppo, Roux interpretò i fatti come esprimenti la legge che la differenziazione può seguire uno dei due tipi e cioè o autodifferenziazione (sviluppo indipendente o mosaico) o differenziazione dipendente o relativa (interazione di cellule o gruppi di cellule). Egli interpretò il fatto che una cellula dello stadio bicellulare sviluppa un mezzo embrione, come se ogni cellula si sviluppasse indipendentemente dalla sua vicina e che lo sviluppo totale rappresenta la somma di sviluppi parziali mosaici.

Queste conclusioni di Roux furono dimostrate erronee per le uova di rana (A. Brachet, 1905; Mc Clendon, 1910). Tuttavia il lavoro di Roux sulla produzione di mezzi embrioni è significativa per varie ragioni. Esso iniziò un nuovo orientamento nel metodo di affrontare l'embriogenesi e segnò una svolta nello studio della embriologia sperimentale. Esso aprì la strada per un nuovo modo di attacco sperimentale sul significato delle interelazioni fra tessuti e sui problemi della epigenesi.

A Roux fecero seguito le analisi sperimentali sullo sviluppo di Hans Driesch (1867-1941). Anch'egli studiò le prime fasi di divisione dei blastomeri, usando però uova di echinodermi e con metodi differenti. Egli riuscì a separare l'uno dall'altro i due primi blastomeri del riccio di mare. La cellula separata dalla sua partner dimostrò gli stessi quadri di moltiplicazione che avrebbe seguito se fosse rimasta nell'uovo intero, dando luogo ad un nano come taglia, ma normale come configurazione.

Successivamente Driesch isolò i blastomeri di stadi di 4 e 8 cellule. La disposizione di uova parziali a formare embrioni interi lo indusse a concepire un sistema armonico equipotenziale: equipotenziale perché una parte ha la potenza di formare l'intero essendo tutte le parti uniformi (isotropiche); armonico perché nel formare l'intero le parti lavorano così meravigliosamente insieme: egli stabilì che il destino di una cellula è una funzione della sua posizione nell'intero.

Per primo Driesch tentò di spiegare lo sviluppo in termini meccanici. Introdusse i concetti di posizione e induzione, di induzione di contatto, di induzione chimica. Spiegò la polarità dell'uovo in termini di arrangiamento di costituenti polarizzati del citoplasma. Espresse la convinzione che l'azione del nucleo nell'eredità e nello sviluppo è mediata da fermenti.

I risultati dei suoi esperimenti di separazione dei blastomeri lo indussero al vitalismo, non potendo concepire una macchina che, se divisa, può ricostituire una intera nuova macchina eguale alla stesssa originale. Concluse che lo sviluppo è regolato da una deus ex machina, la entelechia, parola presa a prestito da Aristotele.

Successivamente si dedicò al vitalismo filosofico e divenne professore di filosofia. La sua prima scoperta tuttavia ed in particolare la sua interpretazione in termini epigenetici giocò una importantissima parte nello stimolare l'interesse e il progresso nella embriologia analistica.

Solo nel 1930 Allen, Dratt, Newell e Bland riferirono su celluleuovo umane trovate nella tuba.

Circa 20 anni dopo Hertig e Rock riferivano i quadri di cellule uovo umane nell'utero. In contrasto con questi studi sono assai scarse le nostre conoscenze sulla cellula-uovo umana nel periodo decisivo di 6-7 giorni da immediatamente prima dell'ovulazione fino all'impianto.

Sappiamo che dopo la fecondazione la cellula-uovo impiega ancora un paio di giorni per completare il transito fino alla cavità uterina e che durante questo periodo è la mucosa tubarica che secerne sostanze utili alla nutrizione dell'uovo in via di segmentazione.

Giunto l'uovo nella cavità uterina, esso soggiorna circa 2 giorni nella cavità prima di annidarsi: questo soggiorno in alcuni animali è molto più lungo fino a mesi interi, (capriolo, tasso, ecc.) e durante tale periodo di soggiorno è la secrezione della mucosa uterina a fornire gli elementi necessari per lo sviluppo cellulare (latte uterino).

Finalmente l'endometrio, che ha raggiunto il suo punto ottimale per l'annidamento dell'uovo (punto Y di Debiasi), viene attraversato negli strati superficiali dall'uovo che pure in questo momento ha raggiunto le capacità più perfette per la istolisi endometriale ed ha inizio la vera e propria gravidanza.

Gli studi sull'ectogenesi, condotti con rigorosi criteri scientifici appartengono all'ultimo ventennio (Austin, Chang, ecc.). Barros e Austin (1964) studiarono la fertilizzazione in vitro delle uova di criceto, New e Stein (1964) e altri (1964-1967) espiantarono embrioni di ratto con i loro annessi embrionari in un mezzo circolante (siero omologo equilibrato con miscela O₂/CO₂); Zuzuki e Mastroianni (1964) inseminarono uova in vitro nel fluido tubarico di coniglio.

Con la tecnica della cultura Shettles dimostrò le varie tappe della cellula-uovo umana dalla fecondazione alle tappe successive di divisione e di acrescimento. Per i suoi studi Shettles si valse in questa metodica: asportate le ovaie della paziente in occasione di operazioni ginecologiche venivano escisi i follicoli. Con una siringa sterile veniva aspirato il contenuto di ciascuno di essi, ottenendosi fino a 16 cellule-uovo dallo stesso ovaio. Identificate le cellule-uovo nel liquido follicolare, venivano fotografate ed esaminate col microscopio a contrasto di fase. Veniva quindi aggiunta una goccia di seme umano fresco normale o di seme più un pezzetto di mucosa tubarica omologa. L'aggiunta di mucosa tubarica si faceva allo scopo di liberare la cellula-uovo mediante enzimi fibrinolitici e di favorire la penetrazione degli spermatozoi.

Tenute le capsule in termostato si favoriva meccanicamente sotto microscopio il distacco e l'allontanamento delle cellule della corona radiata e del cumulo (cellule che nel follicolo circondano la cellula-uovo).

Le cellule-uovo delle tube furono ottenute con lavatura delle tube appena asportate da pazienti in cui risultava un follicolo di de Graf scoppiato da poco. Anche queste, dopo osservazione al microscopio a contrasto di fase venivano addizionate ad una goccia di sperma umano fresco e a piccoli frammenti di mucosa tubarica in sospensione di siero. Osservazione periodica in siero di sangue, togliendo la capsula dal termostato a 37°.

Shettles ritiene che la cellula-uovo fino alla maturazione sia nutrita dalle cellule della corona radiata. Nella tuba la zona pellucida viene completamente liberata dalle cellule della corona radiata, essendo finita la loro funzione. La zona pellucida resta però intatta fino a quando l'uovo fecondato non è arrivato nella cavità uterina e serve come custode per la soluzione nutritiva della cellula-uovo in via di sviluppo, fino all'impianto nella mucosa uterina (vedi punto Y).

Sono molti gli spermatozoi che vanno all'assalto dell'uovo; essi arrivano a coprire completamente la superficie della membrana pellucida. Con la loro testa perpendicolare alla membrana pellucida, gli spermatozoi ruotano attorno al loro asse longitudinale e muovono vigorosamente la coda sincronicamente, facendo così spesso rotolare l'uovo, sempre nel senso delle lancette dell'orologio e fino a 360° in 15 minuti primi e per 20-30 ore.

Al momento della penetrazione dello spermatozoo nel citoplasma ovulare viene espulso il secondo globo polare (l'uovo deve ridurre il patrimonio cromatinico del suo nucleo per sommare col numero ridotto di cromosomi dello spermatozoo un numero normale per il futuro nucleo da cui prenderà origine la moltiplicazione cellulare).

Benché un certo numero di spermatozoi possa penetrare nell'interno dell'ovulo è uno solo che assicura la fecondazione.

Dentro l'ovulo la frequenza e l'ampiezza dei movimenti della coda dello spermatozoo si riducono: esso si muove a scatti fino a che la sua testa arriva in prossimità del pronucleo femminile (nucleo dell'uovo che ha ridotto a metà i suoi cromosomi); lo spermatozoo si trasforma allora in pronucleo maschile, pressoché sferico. I due pronuclei vengono allora a contatto formando un nuovo individuo con numero diploide di cromosomi.

Dopo 30 ore di incubazione in liquido follicolare o di siero di sangue contenente la cellula-uovo e gli spermatozoi con pezzetti di mucosa tubarica, l'uovo umano trovasi in via di segmentazione con i suoi primi due blastomeri.

Le prime fasi della morula appaiono circa alla sessantesima ora di incubazione.

Dopo circa 72 ore si vede una morula di circa 32 cellule. Sotto

opportuna illuminazione, le configurazioni cromosomiche appaiono a differenti fasi delle loro mitosi.

Continuando la cultura nelle stesse condizioni la blastula si forma dopo 96 ore di incubazione.

Dopo 100-140 ore la blastula è bene sviluppata. L'ovulo maturo localizzato, eccentrizzato dentro la zona pellucida, cerca una posizione stabile, come farebbe ad esempio una palla di golf male equilibrata. Ciò determina probabilmente la posizione di annidamento ulteriore dell'uovo nella mucosa uterina. Dal grado di rotazione dell'uovo dipenderà l'inserzione del cordone: centrale, eccentrica, marginale e velamentosa. A sostegno di questa ipotesi sta la constatazione di un maggiore numero di inserzioni velamentose nelle gravidanze gemellari. I poli non embrionari delle due uova in divisione sono meno atti che uno solo a stabilire un contatto optimum con la mucosa uterina.

Si ammette che le cellule della blastula che sono in contatto con la membrana pellucida formeranno ulteriormente il trofoblasto; i prolungamenti delle cellule della blastula penetrano la membrana pellucida la quale in questa zona cede. Si conclude che questi prolungamenti rendono la blastula capace di iniziare l'impianto circa 120-140 ore dopo la fecondazione e che la persistenza della membrana pellucida al polo embrionale, assicura la nutrizione della blastula fino a quando l'impianto permette un'ampia nutrizione materna.

Così nasce la vita umana nello spazio interno.

La pubblicazione di Shettles data dal 1955: « A morula stage of human ovum development in vitro ».

È singolare l'osservazione che, mentre l'uovo per annidarsi nell'utero ha delle esigenze precise senza le quali non può attecchire e pertanto deve arrivare nell'utero in quel determinato giorno e l'utero deve aver completato certe determinate caratteristiche, se lo stesso uovo sperimentalmente viene piantato su un organo apparentemente inadatto e comunque assolutamente non preparato (peritoneo, rene, ecc.) esso si sviluppa. Si discute su questo rilievo; si tende a riferirlo al fatto che l'utero non ha soltanto la funzione di ospitare e poi espellere l'uovo, ma ha anche la funzione (e le capacità) di difendere l'organismo contro l'aggressività dell'uovo. Infatti l'uovo è un curioso ospite che denota strane analogie, apparentemente paradossali, con i tumori maligni, dei quali ripete certe capacità di disgregare tessuti, di invadere tessuti e ne possiede la stessa rapidità di crescita, la deportabilità di elementi attraverso il sangue. Lo si vede quando l'uovo è impiantato su tessuti che non siano l'endometrio opportunamente preparato (decidua) come ad

esempio nella gravidanza extrauterina, quando i villi coriali perforano l'organo (la tuba), ne usurano i vasi dando luogo ad emorragie interne pericolose e anche mortali per la donna.

Questa adattabilità dell'uovo fecondato a vivere in ambienti diversi dall'organismo che l'ha generato, ha permesso esperimenti di grande interesse. Per esempio una coniglia alla quale erano state legate le tube (in modo che gli ovicini dall'ovaio non potessero raggiungere l'utero) è stata fatta coprire da un maschio al quale erano stati legati i deferenti (che quindi non poteva emettere spermatozoi). A questa coniglia operata in tal modo è stata provocata la ovulazione (la coniglia ovula solo in occasione del coito) e con essa si è stimolata la preparazione dell'endometrio ad accogliere ovicini fecondati. Ma in questo esperimento, poiché il maschio non dà spermatozoi e gli ovuli non possono infilarsi nella tuba, si è creata solo la preparazione dell'ambiente uterino. Allora si sono prelevati ovicini fecondati dall'utero di un'altra coniglia e si sono portati nell'utero della coniglia sterilizzata, ma così preparata: ebbene, gli ovicini eterospecifici si sono sviluppati e sono nati coniglietti perfettamente sviluppati.

Queste conoscenze ammettono stranissime possibilità: in campo umano la questione ha naturalmente aspetti tecnici e morali del tutto particolari. Tutti ricordano il clamoroso fatto di cronaca di alcuni anni fa: un medico italiano che aveva coltivato l'uovo umano fecondato (e in sostanza non aveva fatto altro che quello che avevano fatto altri scienziati prima di lui), ebbe il torto di affidare alla pubblicità sulla stampa politica invece che su quella scientifica, esperimenti eseguiti nell'ambito delle quattro mura domestiche e non in istituti scientifici controllati e controllabili. La cosa suscitò un clamore veramente sproporzionato all'entità dell'esperimento, che d'altronde, come si è visto, non era nuovo. Papa Pio XII dichiarò che questi esperimenti ledevano i fondamenti della morale e che quindi non potevano essere approvati.

È comprensibile come in un campo così delicato ogni iniziativa che non abbia come ambiente l'istituto scientifico qualificato e che non sia condotta con ogni cautela di rigore sperimentale e di doverosa riservatezza, rischia di offendere sentimenti e convinzioni. Tuttavia l'esperimento scientifico, quando imbocca una strada che concede risultati concreti, non si arresta. Se si sospende in Italia, continua altrove in altre nazioni non cattoliche. Proprio in Russia esiste un istituto di ricerca dove si fanno queste esperienze di « sistemogenesi » e dove si sta mettendo a punto una « cellula » incubatrice dotata di un sistema cuorepolmoni per la perfusione sanguigna e di un rene artificiale che scarica

le scorie dello sviluppo, il tutto governato da un cervello elettronico che coordina le complesse operazioni per lo sviluppo dell'embrione in ectogenesi.

Qualcuno si domanderà: « Si riuscirà a costruire la vita umana? ». Non lo si può escludere, anche se la risposta può sembrare mostruosa, anche se essa crea dei problemi angosciosi, delle domande alle quali noi non sappiamo rispondere: è probabilmente questione di tempo.

Le sintesi biologiche di determinate sostanze fermentative, ormonali (insulina, ribonucleasi), di antigeni e di proteine mettono lo scienziato sempre più vicino alla possibilità di impadronirsi del « codice » della vita.

Esperimenti di importanza fondamentale sono stati fatti sul virus del mosaico del tabacco e su batteri.

Recentemente si è riusciti a determinare con espedienti biochimici trasformazioni genetiche su cellule umane (Szybalski), allo stesso modo come « mutazioni » sono determinabili con l'uso di particolari radiazioni.

È prevedibile che l'affinamento delle capacità di manovrare la biologia molecolare, aprirà la via al controllo della composizione dei cromosomi umani e di conseguenza alla possibilità di imporre particolari costituzioni cromosomiche, predeterminando alcune caratteristiche del prodotto.

« A che cosa servirà ? » ci si domanda ancora.

Se gli esperimenti sono condotti con quella rigorosa serietà che si esige assolutamente in un campo così delicato dove scienza e morale sembrano reciprocamente indelimitabili, essi possono certamente rendere grandi servizi. L'ectogenesi potrebbe originare un animale capace di fornire dei tessuti della stessa natura di quelli umani, utilizzabili per innesti, trapianti, sostituzione di organi: una specie di « banca ».

Si può ad esempio immaginare riproducibile nella donna l'esperimento già coronato da successo in campo sperimentale e cioè l'impianto dell'uovo fecondato nell'utero di una donna in cui manchino ad esempio le tube e perciò manchi la possibilità di fare incontrare gli ovicini con gli spermatozoi e di fare arrivare l'uovo fecondato nella cavità uterina. Prelevando in un ipotetico caso del genere gli ovicini dall'ovaio, facendo fecondare un uovo in vitro, lo si potrebbe trasportare nell'utero nel momento adatto, creando la possibilità del suo annidamento e del suo sviluppo e ipotizzando la possibilità di dare alla coppia sterile un figlio, realmente nato dai suoi propri gameti.

Anche se alcune cose allo stato attuale appaiono difficilmente accettabili e comprensibili, è supponibile che molta strada si farà in questo campo.

RIASSUNTO – Riepilogo storico dell'evoluzione dell'embriologia sperimentale fino agli esperimenti di ectogenesi umana. Enunciazione dei possibili sviluppi dottrinali e pratici di questa sperimentazione.

SUMMARY – Historic summary of experimental embryology evolution till human hectogenesis experiments. Enunciation of possible doctrinal and practical developments of these experiments.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- AUSTIN C. R.: The mammalian egg. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1961.
- CHANG M.C.: Development of parthenogenetic rabbit blastocysts induced by low temperature storage of unfertilized ova. J. Exp. Zool., 125, 127-149, 1954.
- Debiasi E.: Il Punto Y. Scritti in onore di E. Maurizio. Vol. II, p. 857, Tip. Saga, Genova.
- Driesch H.: Entwicklungsmechanische Studien. I-II. Z. wiss. Zool., 53, 160-182, 1891.
- Driesch H.: The potency of the first two cleavage cells in echinoderm development. Experimental production of partial and double formations. In « Foundation of experimental Embryology », Prentice-Hall inc., New Jersey, 1964.
- Hertig A. T., Rock J.: Two human ova of the pre-villous stage, having an ovulation age of about eleven and twelve days respectively. Contrib. Embryol. Carneg. Inst., 29, 127-156, 1941.
- Hertig A. T., Rock J.: Two human ova in the pre-villous stage, having a developmental age of about seven and nine days respectively. Contrib. Embryol. Carneg. Inst., 31, 67-84, 1945.
- HERTWIG O.: Experimentelle studien am thierischen Ei etc. I. Jena, 1890.
- Hertwig O.: Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere. G. Fischer, Jena, 1906.
- His W.: Unsere Körperform, Briefe an einen gefreundeten Naturforscher. Leipzig, F. C. W., Vogel, 1874.
- Roux W.: Über die Bestimmung der Hauptrichtungen des Froschembryo im Ei und über die erste Theilung des Froscheies. Breslauer ärztl. Zeitschr., 1-54, 1885.
- Roux W.: Contributions to the developmental mechanics of the embryo. On the artificial production of half-embryos by destruction of one of the first two blastomeres and the later development (postgeneration) of the missing half of the body. Virchows Arch. path. Anat. u. Physiol. u. kl. Med., 114, 113, 1888.
- Roux W.: Die Entwicklungsmechanik ein neuer Zweig der biologischen Wissenschaft. Leipzig, 1905.

- Roux W.: Beiträge zur Entwicklungsmechanick des Embryo. 5 Über die künstliche Herrorbingung halber Embrionen durch Zerstörung einer der beiden ersten Furchungskugeln, sowie über die Nachentwicklung (Postgeneration) der fehlenden Körperhälfe. Virchows Arch., 64, 246-291, 1905.
- SHETTLES L.B.: Ovum Humanum. Von Urban, Monaco, 1960.
- Warburg O.: Observations on oxidative processes in the sea-urchin egg. Hoppe-Seyler's Zeitsch. f. Physiol. Chem., 57, 1-16, 1908.