

## COMITATO NAZIONALE PER LA BIOETICA

### CONSIDERAZIONI BIOETICHE IN MERITO AL C.D. "OOTIDE"

#### 1. Premessa

Il Comitato nazionale per la Bioetica, sollecitato ad elaborare una visione bioetica in merito ai c.d. "ootidi", con particolare riferimento all'eticità del loro congelamento nel corso delle procedure di fecondazione assistita, ha lungamente dibattuto gli aspetti biologici oggi disponibili nella letteratura scientifica sulla "fecondazione" umana ottenibile con le tecniche di riproduzione assistita, pervenendo a riconoscersi nella descrizione generale di seguito proposta, la quale –per la natura stessa di un documento rivolto alla più ampia divulgazione– rinuncia alla sottolineatura di molti particolari.

In merito però all'interpretazione della rilevanza delle fasi che – abitualmente – descrivono la fecondazione, sono emerse opinioni contrastanti delle quali si darà successivamente notizia.

#### 2. Gli eventi

Il ciclo biologico dell'uomo – come quello di tutti i mammiferi – inizia in natura dalla riproduzione germinale e cioè dalla fusione di due gameti di sesso diverso (fecondazione). Questo tipo di riproduzione (riproduzione sessuale) realizza il trasferimento dei caratteri genetici da una generazione alla successiva.

Secondo la descrizione che ne danno i biologi, la fecondazione – intesa come processo – è caratterizzata da eventi microscopici e submicroscopico-molecolari tutti indispensabili e di varia durata, che si sviluppano in modo continuo, iniziando con l'interazione ravvicinata tra lo spermatozoo e i rivestimenti cellulari e acellulari dell'ocita, continuando con la fusione dei gameti e dando luogo in un tempo variabile tra 16 e 30 ore alla prima divisione cellulare (embrione a due cellule).

La fecondazione in vitro ha offerto la possibilità di studiare la successione degli eventi biomolecolari, a livello di risoluzione microscopica e submicroscopica, che intervengono nel suo divenire. È possibile così stabilire una sequenza anche cronologica riassumibile nella seguente tabella:

Fase	Tempo post inseminazione
Penetrazione della zona pellucida	Entro 30-40 min. p.i. (solo standard IVF)
Fusione tra le membrane cellulari	Dal 45° a 60° min. p.i. (solo standard IVF)
Formazione del PB II	Dalla 2 <sup>a</sup> alla 8 <sup>a</sup> ora p.i.
Formazione dei PN	Dalla 3 <sup>a</sup> alla 12 <sup>a</sup> ora p.i.

Giustapposizione dei PN	Dalla 5 <sup>a</sup> alla 13 <sup>a</sup> ora p.i.
Replicazione dei cromosomi	Dalla 8 <sup>a</sup> alla 17 <sup>a</sup> ora p.i.
Scomparsa dei PN	Dalla 15 <sup>a</sup> alla 30 <sup>a</sup> ora p.i.
Prima divisione cellulare	Dalla 18 <sup>a</sup> ad oltre la 35 <sup>a</sup> ora p.i.
<b>Tempo totale inseminazione ICSI</b>	Dalla 16 <sup>a</sup> ad oltre la 33 <sup>a</sup> ora p.i.
<b>Tempo totale standard IVF</b>	Dalla 18 <sup>a</sup> ad oltre la 35 <sup>a</sup> ora p.i.

*Legenda – IVF: fecondazione in vitro; PB II: secondo globulo polare; PN: pronuclei maschile e femminile; ICSI: iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo.*

In particolare:

1. La penetrazione dello spermatozoo nella zona pellucida dell'ovocita inizia non appena i gameti si trovano a diretto contatto e richiede 30-40 minuti (unico standard: IVF).
2. La fusione delle membrane cellulari dell'ovocita e dello spermatozoo presuppone: il raggiungimento da parte dello spermatozoo dello spazio perivitellino, la fusione delle membrane plasmatiche dei due gameti, l'incorporazione dello spermatozoo nell'ooplasma.
3. La cosiddetta "reazione corticale", attraverso modificazioni fisico-chimiche dello strato mucoproteico dello spazio perivitellino rende l'ovocita fecondato impenetrabile ad altri spermatozoi.
4. L'attivazione dell'ovocita, innescata dall'incorporazione dello spermatozoo, si manifesta con aumentata permeabilità e oscillazione della concentrazione intracitoplasmatica dello ione Calcio ( $Ca^{2+}$ ) e determina il completamento della meiosi, l'emissione del II globulo polare (PB II), con la conseguente configurazione aploide del patrimonio genetico materno che andrà a formare, assieme al patrimonio genetico aploide veicolato dallo spermatozoo, il genoma dello zigote.
5. La rimozione della membrana che avvolge i due nuclei maschili e femminili, la decondensazione dei rispettivi cromosomi e la formazione mediante l'impiego di costituenti molecolari d'origine materna di un nuovo involucro membranoso che li avvolge e li delimita nettamente costituiscono un processo molto complesso nel quale vengono a formarsi e a rendersi microscopicamente evidenti i due "pronuclei" (PN) maschile e femminile (secondo alcuni embriologi questo punto deve essere ulteriormente chiarito).
6. Entro 3-6 ore dall'incorporazione dello spermatozoo, a partire dall'aster spermatico si organizzano microtubuli polimerizzati a raggiera dal centrosoma maschile, i quali, mediante il trasporto esercitato da idonee molecole citoplasmatiche, consentono l'avvicinamento dei due pronuclei.
7. I due pronuclei, partendo da posizioni periferiche, si spostano centralmente e in parte si giustappongono, rimanendo tuttavia entità separate.
8. Mentre si dissolvono le membrane perinucleari e si identificano i centrioli, i cromosomi dei due pronuclei duplicano il proprio DNA preparandosi alla prima divisione cellulare (mitosi).
9. Allorché queste fasi sono terminate, i cromosomi liberi nel citoplasma ma ancora agganciati all'apparato tubulare del fuso si allineano su un unico piano.

(piastra metafasica) che contiene l'assetto cromosomico diploide risultante dai patrimoni genetici maschili e femminili: è la fase denominata *anfimissi*.

10. I due cromatidi di ciascun cromosoma si separano e convergono ai due poli della cellula iniziando l'anafase. Si avvia la divisione cellulare di questa nuova entità biologica, definita zigote. Al termine della divisione si formano due cellule, ciascuna con un proprio genoma (embrione a due cellule).

### 3. Valutazioni bioetiche

Alla luce degli elementi sopra forniti, alcuni membri del CNB presentano le seguenti considerazioni:

a) In primo luogo, si rileva la ancora incerta nomenclatura che caratterizza – in letteratura – le descrizioni dei primi stadi di sviluppo umano, fenomeno questo che facilita talvolta l'impiego dei medesimi termini per sostenere ipotesi interpretative diverse, o – all'opposto – l'uso di termini diversi (e spesso di nuovo conio il conio è del denaro, ma non dei termini) per indicare fenomeni già noti e classificati sotto precedenti denominazioni.

Questo comportamento non è ovviamente esclusivo nel campo disciplinare considerato, né sembra improduttivo qualora sia diretto a meglio definire e meglio indicare stadi e processi che l'evoluzione della ricerca ha ulteriormente caratterizzato; tuttavia assume particolare delicatezza là dove – dal semplice cambiamento di definizione – possano essere tratte conseguenze nel campo giuridico od etico che non corrispondano né alla realtà dei fatti biologici, né a modificazioni sostanziali di stato.

b) Nella fattispecie in esame – volendo esemplificare - si ritiene appropriato l'uso – in generale – dei vocaboli “concepito ed “essere umano”, ambedue di ampio significato. Essi non interferiscono con ulteriori specificazioni semantiche che – all'interno del campo concettuale che tali termini suggeriscono – possano adottarsi per la più precisa descrizione dei fatti biologici.

Inoltre le espressioni “concepito” ed “essere umano” hanno il pregio d'essere usati con facile comprensione nel linguaggio corrente, essendo trasparente il riferimento all'atto generativo (con qualsiasi tecnica ottenuto) dell'uomo.

Le espressioni “ovocita a 2 pronuclei” (2PN) od anche “ootide” – quest'ultimo adottato recentemente solo da alcuni Autori - appaiono invece limitate alla indicazione di uno stadio della fecondazione; tuttavia ciò non dovrebbe creare l'impressione che – a questo stadio - si tratti di una cellula inerte, nella quale sia semplicemente penetrato il nucleo di un'altra.

Si ritiene più appropriato (per le ragioni che verranno poco oltre ulteriormente argomentate) parlare già in tale fase di zigote<sup>1</sup> o di “embrione unicellulare”.

c) Poste queste premesse, è da ritenere che gli studi da molti decenni ormai compiuti sulle prime fasi del ciclo vitale dell'uomo siano progrediti attraverso non solo i rilievi morfologici, anche i più raffinati, che caratterizzarono i primi passi della ricerca, ma anche attraverso contributi biochimici e biomolecolari dai quali non è possibile oggi prescindere per una esatta comprensione dei fenomeni caratteristici delle prime ore dello sviluppo dell'essere umano. Pertanto, molte delle descrizioni che – soprattutto nei libri di testo o nelle divulgazioni per l'opinione pubblica anche di media ed elevata

---

<sup>1</sup> In realtà si deve parlare di zigote solo quando i cromosomi si collocano nella stessa piastra metafisica.

cultura - si basano prevalentemente sulla serie delle modifiche morfologiche “apparenti” con gli ordinari mezzi di indagine, appaiono incomplete se non sono corredate dalle corrispondenti analisi biomolecolari.

d) Per una serie di motivi che verranno esposti nel corso della presente analisi, è da ritenere in definitiva che una “risposta” al quesito da cui questo documento ha preso le mosse possa essere data in termini strettamente scientifici già attraverso la descrizione degli eventi biologici e la riflessione razionale sui medesimi.

Ovviamente, in tal modo non ci si sottrae alle considerazioni etiche, anche se esse possono essere esaminate e utilmente discusse solo una volta in possesso di tutti gli elementi che un’analisi biologica possa fornire. Non si tratta in ogni caso di far dipendere ogni posizione etica o giuridica dalle evidenze scientifiche, ma di riconoscere che – nella fattispecie considerata, e cioè nelle prime ore dello sviluppo dell’essere umano – il concepito interessa anzitutto per la sua natura e individualità biologica la quale è fattore imprescindibile per qualsiasi giudizio bioetico o giuridico che riguardi la vita e/o la salute dell’uomo.

Da queste premesse, si ritiene possibile proporre la seguente interpretazione della fecondazione:

### *3.1. L’interpretazione degli eventi*

Se quella descritta può considerarsi una serie di eventi oggettivamente rilevabili e nella sostanza condivisibili da qualsiasi biologo-osservatore (quantunque la descrizione - basata sui dati attualmente disponibili - sia stata condotta solo per grandi linee, data la natura di questo documento), non unanimemente condivisibile appare in seno al Comitato Nazionale di Bioetica l’interpretazione di ciò che viene inteso come processo della fecondazione nella sua globalità, pur accogliendo una “diacronicità” delle fasi, in ogni caso contenute nell’intervallo di alcune ore.

Per i membri del CNB che propongono questa linea interpretativa, l’evento di incontro-penetrazione dello spermatozoo nell’interno del citoplasma dell’ovocita è l’evento che va ritenuto fondamentale, poiché è quello che nello spazio e nel tempo congiunge e letteralmente “fonde” due cellule gametiche dotate ciascuna di un patrimonio genetico aploide e ne fa una “unità” biologica non presente anteriormente, fornita delle strutture molecolari genetiche veicolanti la informazione necessaria per guidare (modulandosi ed interagendo con l’ambiente) ogni stadio del successivo sviluppo.

Una volta avvenuta la penetrazione spermatica dell’ovocita si sviluppa un *continuum* di eventi che prosegue senza necessità di ulteriori impulsi genetici esterni all’unità stessa, come appare peraltro sostenibile anche considerando la inclusione dell’ovocita in una spessa membrana glicoproteica (denominata “zona pellucida”) e la realizzazione rapida della “reazione corticale” dell’ovocita stesso, che impedisce di regola la penetrazione all’interno di esso di ulteriore materiale genetico veicolato da spermatozoi.

E che tale processo – descrivibile oggi certamente con maggiore accuratezza di quanto non fosse in passato in ragione degli approfondimenti non solo morfologici, ma submicroscopici e di biologia molecolare che sono stati acquisiti - inizi con la penetrazione spermatica e si svolga poi con assoluta continuità è documentato anche da quell’indice “funzionale” unitario che lo caratterizza nella sua durata, rappresentato dall’immediato insorgere di oscillazioni nella concentrazione cellulare del  $Ca^{2+}$ , con

onde più elevate e frequenti all'inizio, più diradate e di minore intensità stessa piastra metafisica.

Secondo questa interpretazione, in definitiva, fermo rimanendo che i due gameti sono biologicamente "predisposti" a questo incontro, tutte le fasi che si susseguono dopo la penetrazione spermatica nelle prime ore di vita del nuovo "essere", hanno la stessa "necessità" di verificarsi essendo regolate lungo una linea di sviluppo che appare palesemente orientata, continua, progressiva, e che almeno nelle condizioni naturali non può regredire su stadi già percorsi (pena l'arresto del processo e la dissoluzione materiale dell'entità coinvolta).

Non ostacola – anzi rafforza - questa interpretazione:

- il fatto che, nelle primissime fasi, l'ovocita "penetrato" utilizzi il proprio materiale genetico (RNA e mitocondri) accumulato a questo scopo, ed a esaurimento, per realizzare la "conversione" verso il nuovo assetto funzionale.
- Si abbiano fenomeni di fine rimodellamento dell'assetto biochimico della cromatina nei due pronuclei, dell'organizzazione degli organelli citoplasmatici ovocitari ed altri fenomeni submicroscopici ancora (solo alcuni dei quali indicati in precedenza nel paragrafo "Una descrizione degli eventi").

Avvalorata, inoltre, tale interpretazione l'ampiamente dimostrata "compartecipazione" di fattori derivanti sia dall'ovocita che dallo spermatozoo nella realizzazione dello sviluppo che – nel giro di poche ore – porta dalla fecondazione dell'ovocita a un embrione a due blastomeri.

Per i fattori ovocitari, si può prendere ad esempio, la sostituzione dell'involucro nucleare privo dei "complessi del poro" della testa spermatica con una membrana i cui costituenti molecolari sono materni, ciò che consente di ripristinare i canali di comunicazione (complessi del poro) necessari agli scambi metabolici, con rapida incorporazione e sostituzione di istoni materni alle protamine spermatiche: ciò che porta alla realizzazione del cosiddetto "pronucleo maschile").

Per i fattori spermatici si può citare ad esempio la fornitura al nuovo complesso monocellulare del "centrosoma" d'origine paterna, che è quello attivo nella specie umana: il centrosoma è organulo necessario alla organizzazione delle fibre (microtubuli) del fuso ed alla successiva attivazione dei "motori" molecolari che consentiranno l'avvicinamento dei due pronuclei e – poi – la migrazione dei cromosomi nel corso della prima divisione mitotica dello zigote.

In definitiva il "principio di continuità" dello sviluppo si applica immediatamente dalla penetrazione spermatica in poi, e supera ovviamente il termine temporale di ciò che viene didatticamente chiamata la fecondazione, pervadendo l'intera vita dell'individuo, sia pure modulandosi nel tempo a seconda dell'età considerata.

D'altra parte anche la riflessione filosofica offre un ulteriore argomento a sostegno del principio di continuità nella misura in cui riconosce che l'inizio della vita dell'essere umano costituisce un "salto di qualità" (un passaggio dal non essere all'essere) e che, una volta che tale passaggio sia avvenuto, ci siano solo modificazioni accidentali (quantitative) e non trasformazioni sostanziali (qualitative).

Infine, non ostacola questa interpretazione il fatto che si manifesti la possibilità di deviazioni di sviluppo, o di arresti dello stesso a vari stadi (ormai documentati anche nella fecondazione in vitro); eventi che vanno considerati come errori di funzionamento di un delicatissimo (ed ancora per molti aspetti non del tutto conosciuto) equilibrio di azioni molecolari.

Nessuno ha mai negato la notevole “selettività” spontanea della riproduzione umana; tuttavia è doveroso in questa sede sottolineare le divergenze che si registrano nella valutazione e poi nella interpretazione dell’ampiezza del fenomeno in natura, che malamente trovano possibilità di confronto con quanto avviene in vitro, per l’artificialità innegabile delle condizioni di coltura.

### 3.2 Le conseguenze etiche e giuridiche

I componenti del CNB, che si riconoscono in questa serie di considerazioni, condividono l’opinione che il contrapporsi nella interpretazione dei fenomeni biologici oggi analizzabili nelle prime fasi di sviluppo dell’ovocita dalla “penetrazione spermatica” alla formazione di due blastomeri non può ritenersi una semplice disputa teorica (come tante altre che esistono nell’ambito dell’esercizio dell’attività scientifica) poiché alle interpretazioni adottate viene attribuito un diverso significato etico, in rapporto alle scelte operative che potrebbero essere assunte per la tutela dell’embrione.

Sembra opportuno, a questi componenti, richiamare gli elementi atti a formare una opinione ragionata al riguardo.

Dato per scontato che siamo nel campo delle valutazioni riguardanti la tutela da assegnare all’embrione, chi ritiene che l’intero processo diacronico della fecondazione mostri una unità sostanziale nel proprio *telos*, cioè concatenazione e articolazione degli eventi microscopici, submicroscopici e biomolecolari (che le moderne tecnologie già in notevole misura hanno consentito di accertare) - tale da portare senza soluzione di continuità alla prima divisione mitotica dello zigote (formazione dei due primi blastomeri) e poi alla segmentazione, alla differenziazione del destino cellulare e agli stadi successivi nel proseguimento dello sviluppo embrionale - non può non accettare un’etica tuzioristica unica dell’essere umano, come tale “riconosciuto” in base al suo stesso “esistere” indipendentemente dallo stadio al quale è pervenuto al momento dell’osservazione. E se si accetta che all’essere umano debba essere riconosciuta e garantita la dignità e l’identità – come la stessa Convenzione sui diritti dell’uomo e la biomedicina (Convenzione di Oviedo, 1997) afferma all’articolo 1 – chi sostiene la linea interpretativa innanzi indicata ritiene che tali condizioni siano soddisfatte sin dalla “penetrazione” dell’ovocita da parte dello spermatozoo.

La conseguenza pratica che ne deriva sta nel fatto che ogni “manipolazione” condotta anche durante il breve processo diacronico denominato della fecondazione, la quale non sia diretta al “bene” dell’essere umano su cui venga compiuta, espone quest’ultimo a rischi ingiustificati, a seconda delle finalità perseguite e delle regole che eventuali leggi, regolamenti o norme deontologiche avessero ritenuto opportuno applicare al riguardo.

Chi sostiene questa linea interpretativa, ritiene che tale giudizio e un atteggiamento precauzionale – e nel caso “tuzioristico” - debba applicarsi, di regola, anche alla crioconservazione, i cui effetti sull’embrione, perlomeno al momento attuale delle tecniche ed allo stadio di 4-8 blastomeri, non sono privi di rischi e talvolta di documentate lesioni.

Quanto suddetto non significa misconoscere i dati della letteratura, che mostrano – attualmente – la scarsa “resa” delle tecniche di procreazione artificiale praticate su ovociti “non penetrati” e crioconservati e – all’opposto - i migliori rendimenti (in termini finali di “bambini in braccio”), qualora la crioconservazione sia stata praticata in quella fase che viene definita “stadio dei due pronuclei”, od anche da taluno

“pre-zigote”, o ootide, che avrebbe dimostrato maggiore resistenza rispetto all’ovocita “non penetrato” alle pratiche di congelamento – scongelamento.

Tuttavia questa nozione non può scalfire l’opinione che ogni giudizio etico espresso sulla crioconservazione dell’embrione si applica anche alla fase dell’ovocita a due pronuclei, collocata nella linea “necessitata” dello scorrere degli avvenimenti naturali senza alterazione della continuità.

*Per incidens*, va poi osservato che – in virtù del principio di continuità - se la legge 40/2004 ha ritenuto non ammissibile produrre una “riserva” di embrioni morulati (a 4-8 cellule, congelati al 2°-3°giorno di sviluppo dalla “penetrazione spermatica”)il cui destino è comunque incerto, ed in ogni caso rappresenta un forte stimolo all’utilizzazione di essi per ricerca - le stesse considerazioni si riproporrebbero se venisse attivato un “pool” di “ovociti 2P” crioconservati, qualunque nome si voglia loro attribuire.

In conclusione, è da ritenere che la soluzione di questi dilemmi vada affrontata con un’intensa e appropriata ricerca sulla crioconservazione dell’ovocita “non penetrato” (sia esso ovulato, o contenuto in sezioni e frammenti sottili di ovaio), alla crioconservazione del quale non si nega – in casi peraltro ben definiti - ragioni plausibili di carattere medico.

Sembra opportuno ricordare che, allorché si diffuse la notizia di un “programma di ricerca” sostenuto da fondi governativi per attivare un gruppo di lavoro nazionale al riguardo, sebbene l’argomento non fosse stato formalmente discusso in *Comitato Nazionale di bioetica*, i pareri raccolti fra i membri furono tutti positivi al riguardo, tali da definirsi plebiscitari purché si trattasse di ovociti “non penetrati”, o di sezioni di ovaio.

Non si può, ancora oggi, non auspicare la ricerca di questa soluzione, nei limiti sopra indicati.

#### 4. Valutazioni bioetiche alternative

A diverse valutazioni bioetiche giungono invece quei membri del CNB che ritengono che, attraverso il processo di fecondazione precedentemente descritto, si realizzi un “passaggio generazionale” che in natura riguarda una minoranza di casi a causa della complessità e delicatezza delle interazioni biomolecolari e degli eventi biologici: l’indice di fecondabilità nelle coppie di 25-30 anni è circa del 25-30% per ciclo. La specie umana ha una scarsa resa riproduttiva e la formazione di una nuova “entità biologica”, l’embrione originato dai genitori, prevede una perdita del 70-75%. La transizione dai gameti all’embrione comporta fasi biologiche cronologicamente distinte e successive che presentano ampie sovrapposizioni funzionali e temporali che pur costituendo un *continuum*, non sono tuttavia assimilabili tra loro sul piano ontologico.

Le conoscenze scientifiche sullo sviluppo dell’embrione hanno fatto molti progressi dal momento della pubblicazione del documento del CNB *Identità e statuto dell’embrione umano* (1996), soprattutto per la maggiore risoluzione degli strumenti di indagine, ma il quadro che ne risulta è semmai più complesso e articolato, mettendo allo scoperto reti funzionali di difficile lettura in cui il contributo genomico (l’insieme dei geni provenienti dai due genitori dell’embrione) viene progressivamente e continuamente integrato da contributi epigenetici materni presenti successivamente al concepimento e allo stadio di zigote. Come prevedibile, l’interpretazione dei dati biologici aggiornati ad oggi (2005) non è comunque risultata utile a formulare opzioni etiche condivise.

Il contrapporsi di due orientamenti nell'interpretazione dei fenomeni biologici relativi alle prime fasi di sviluppo dell'ovocita – dalla “penetrazione spermatica” alla formazione dei primi due blastomeri – potrebbe apparire una semplice disputa accademica se ad essa non corrispondesse un diverso approccio etico in rapporto alle scelte operative che potrebbero essere assunte per la tutela dell'embrione.

Secondo i membri del CNB che aderiscono a questa diversa linea di interpretazione, il processo di sviluppo embrionale nei suoi primi stadi comporta una rete complessa di eventi che risulta molto meno consequenziale di quanto sia opinione comune. A loro giudizio, i dati biologici dimostrano che ogni fase può implicare sviluppi alternativi imprevedibili, nelle prime fasi addirittura reversibili, con una distribuzione non uguale delle competenze e delle funzioni degli oociti e degli spermatozoi, motivo per il quale sarebbe davvero arduo definire il momento in cui inizia la vita individuale.

Adottando un approccio di estrema, persino eccessiva precauzione, alcuni potrebbero arrivare a non escludere (in senso probabilistico) che tale inizio corrisponda al momento in cui si forma lo zigote. Rimane tuttavia assai problematico ritenere che tale inizio coincida con l'incontro-penetrazione dello spermatozoo nel citoplasma dell'ovocita e che dal quel momento occorra proteggere in modo assoluto l' “unità” che si forma. Tale interpretazione, ovviamente legittima, si fonda sulla “necessità” che da quell'incontro-penetrazione il processo continui senza soste, irreversibilmente e in modo preordinato. Il fatto che un individuo della nostra specie sia il risultato dell'incontro di uno spermatozoo con un ovocita non ci autorizza però a concludere che da tale incontro nasca necessariamente un essere umano: l'osservazione scientifica ci insegna invece che la probabilità che ciò avvenga è piuttosto bassa, come è già stato riferito, che il processo non è neppure necessario, e che certamente nei suoi stadi iniziali esistono una molteplicità di opzioni alle quali sono associate probabilità che non conosciamo.

Ancora più importante è rilevare come l'affermazione fatta da autorevoli membri del CNB che il concepito “è uno di noi” non può essere per altri accettabile: dovremmo infatti accordarci su che cosa di noi vogliamo sia presente per “renderci individui” e l'embriologia potrebbe allora fornirci indicazioni per stabilire delle condizioni necessarie, ma non per questo sufficienti. La biologia fornisce infatti una mera descrizione dei fenomeni senza dar loro una gerarchia sul piano ontologico ed etico.

I dati offerti dalla ricerca biologica sullo sviluppo dell'embrione non sono cioè adeguati a definire con chiarezza e autorevolezza quale segmento dell'intero processo possa essere assunto come cruciale per l'identificazione del momento in cui si costituisce la nuova identità individuale. D'altronde, già nel documento del CNB *Identità e statuto dell'embrione umano* del 1996 si indicava come controversa la possibilità di poter dirimere sul piano biologico la questione dell'inizio del possesso di una identità individuale (persona) da parte dell'embrione e veniva proposto, da un punto di vista filosofico, il criterio di *reidentificazione*, ritenuto particolarmente appropriato per appurare l'identità individuale dell'embrione: “Fino a quando si può regredire per trovare il punto in cui collocare questa identità individuale? Secondo tale criterio, al prodotto del concepimento viene riconosciuto lo statuto di individuo a partire dal momento in cui viene irreversibilmente perduta la capacità di suddivisione in due o più embrioni. Il criterio della reidentificazione è un criterio che tuttavia esprime una condizione sufficiente ma non necessaria. Ciò significa che l'identità individuale potrebbe sussistere anche se mancano i mezzi adeguati per verificarla. Pertanto l'interpretazione ontologica dei dati biologici finisce con il risultare influenzata dalle

opzioni morali dell'interprete, ossia dal modo con cui egli avverte in coscienza di doversi atteggiare di fronte all'embrione fin dalla fecondazione"<sup>2</sup>.

I criteri che di volta in volta vengono indicati come validi per sostenere un determinato assunto (continuità di sviluppo, comparsa di un genoma nuovo, perdita della totipotenza da parte dell'embrione, annidamento in utero, comparsa del sistema nervoso etc.) hanno una loro legittimità e razionalità, ma non sono fonte sufficiente per desumere con certezza l'inizio della vita umana.

È utile rilevare che tale insufficienza è corroborata dall'osservazione che il contesto storico e sociale condiziona fortemente l'uso delle conoscenze biologiche. Fino a non molti anni fa, quando il controllo sociale era più rigoroso e le conoscenze sul "passaggio generazionale" insufficienti, la fase ritenuta decisiva era quella dell'accoppiamento sessuale all'interno del matrimonio. Oggi, con la possibilità di controllare la fertilità rendendola indipendente dall'atto sessuale e con l'aumento delle conoscenze sullo sviluppo embrionale, alcuni ritengono che la fase decisiva sia la fecondazione, mentre altri credono si debba spostare quel periodo in una fase successiva, come l'anfimissi (momento della formazione dello zigote), il momento in cui l'embrione non è più dividibile, l'inizio dell'impianto, il 14° giorno dalla fecondazione (momento in cui si ritiene ancora certa l'assenza di sistema nervoso), o anche tempi successivi. Dal punto di vista scientifico non c'è ragione di privilegiare l'una o l'altra fase, e la scelta al riguardo dipende esclusivamente da differenti opzioni etiche, cosicché le varie possibili "interpretazioni" dipendono dal diverso valore attribuito alle diverse fasi dello sviluppo umano.

In conclusione, alcuni membri del CNB ritengono che la linea interpretativa degli eventi, sostenuta nel § 3 da coloro per i quali la tutela dell'embrione deve essere assoluta fin dal concepimento e che condividono l'opzione etica di non ammissibilità della crioconservazione degli ovociti 2PN, derivi da convincimenti e non solo da ragioni biologiche. Gli stessi membri del CNB, considerata viceversa l'impossibilità razionale di stabilire univocamente l'inizio della vita umana, sostengono che la crioconservazione di tali ovociti non possa ritenersi moralmente illecita.

In tal senso, tali membri auspicano una modifica della legge n. 40/2004 al fine di consentire la crioconservazione almeno degli ovociti 2PN. A tal riguardo rilevano inoltre che la formulazione stessa della legge si presta ad interpretazioni che potrebbero già oggi consentire tale pratica. Il "concepito" di cui all'art. 1 viene infatti tutelato attraverso norme specifiche presenti in più punti del testo di legge in cui si fa esplicito riferimento all' "embrione", ovvero a una fase sicuramente post-zigotica.

Non rimane da aggiungere – anche se è ovvio – che di tali ovociti 2PN crioconservati occorre garantire un uso proprio, non commerciale, definito da regole chiare nell'ambito di criteri giuridici ed etici attenti anche al bilanciamento degli interessi e dei diritti dei soggetti coinvolti, primi fra tutti quelli della madre.

---

<sup>2</sup> "Identità e statuto dell'embrione" (1996), pp.17.

## 5. Conclusioni

Dopo ampie e articolate discussioni, svoltesi sia a livello di gruppo di lavoro che in seduta plenaria, il Comitato ha ritenuto all'unanimità di poter condividere *la descrizione fattuale degli eventi* che concernono la fecondazione umana contenuta in questo documento nel § 1. Non si è invece realizzata, nonostante i molti sforzi attivati al riguardo, una convergenza di opinioni per quel che concerne *l'interpretazione etica di quei medesimi eventi*, in merito alla cui descrizione, peraltro, e come si è appena accennato, non si è registrato alcun dissenso in seno al Comitato. La seconda linea interpretativa, riassunta nel § 4, ha trovato il consenso dei proff.

Barni,  
Battaglia,  
Coghi,  
d'Avack,  
Flamigni,  
Gaddini,  
Guidoni,  
Neri,  
Piazza,  
Rescigno,  
Schiavone,  
Umani Ronchi.

La prima delle due interpretazioni, quella sopra esposta al § 3, ha invece riscosso un maggior numero di consensi rispetto all'altra: ad essa hanno infatti aderito i proff.

Amato,  
Belardinelli,  
Binetti,  
Bompiani,  
Borgia,  
Casini,  
D'Agostino,  
Dallapiccola,  
De Carli,  
Di Pietro,  
Eusebi,  
Federspil,  
Ferrari,  
Fiori,  
Iadecola,  
Isidori,  
Manni,  
Marini,  
Palazzani,  
Pistella,

Possenti,  
Ricci Sindoni,  
Santori,  
Scarpelli,  
Sgreccia,  
Silvestrini.

E' in questa linea, pertanto, che il Comitato nazionale di Bioetica, a maggioranza, si riconosce.

## Appendice Glossario

ALLELE	Forma alternativa di un gene presente su uno o sull'altro cromosoma omologo (vedi )
ANFIMISSI	Ricostituzione di un corredo cromosomico diploide.
APLOIDE	Riferito a cellula o individuo in cui il numero di cromosomi caratteristico della specie è dimezzato, essendo presente una ed una sola copia di ciascun cromosoma. Tale condizione è propria delle cellule sessuali , cellula uovo e spermatozoo , ed è indicata con $n$ . L'assetto raddoppiato , $2n$ , è proprio delle cellule somatiche.
CELLULA UOVO	Cellula sessuale femminile matura aploide.
CROMOSOMA OMOLOGO	Singolo componente di una coppia di cromosomi , uno di origine paterna e l'altro di origine materna, generalmente con lo stesso assetto di geni.
CROSSING-OVER	Scambio di tratti di cromosomi omologhi e conseguentemente di geni (più precisamente " alleli " – vedi )
CUMULO OOFORO	Insieme di cellule che circondano la cellula uovo.
GLOBULO POLARE durante	Minicellula atrofica che si forma alla prima ed alla seconda divisione meiotica la maturazione della cellula uovo. Contiene un nucleo aploide.
GONOCORICO	Riferito ad un individuo, che produce un solo tipo di gameti, maschile o femminile. Il termine è usato anche per definire un sistema di riproduzione sessuata a sessi separati.
IMPRINTING GENETICO O GENOMICO	Attivazione o inattivazione selettiva di geni di derivazione paterna o materna che avviene durante la maturazione dei gameti o le prime fasi dello sviluppo e si mantiene nelle cellule somatiche. Per i geni interessati viene espresso solo l'allele trasmesso da uno dei genitori, con conseguenze sullo sviluppo e sulla manifestazione di alcune patologie ereditarie.
OOCITA ne della	Cellula sessuale femminile nei diversi stadi di maturazione fino alla formazione della cellula uovo, che unendosi allo spermatozoo alla fecondazione dà origine all'embrione.
OOTIDE	oocita con due pronuclei.
SPAZIO PERIVITELLINO	Spazio che si trova tra la membrana citoplasmatica delle cellule uovo e la zona pellucida.
ZIGOTE	E' la cellula che si forma in corso anfimissi e che possiede un patrimonio cromosomico in metafase.
ZONA PELLUCIDA	Membrana che circonda l'oocita e avvolge l'embrione nei primi stadi di sviluppo.

## POSTILLA DEL PROF. CARLO FLAMIGNI

Sono note almeno sette differenti teorie<sup>3</sup>, tutte formulate da persone appartenenti alla Chiesa Cattolica Romana e tutte attuali, sull'inizio della vita personale. Il fatto che una di esse possa essere privilegiata dal Magistero non toglie importanza alle altre: tutte, infatti, si basano sulla stessa elaborazione concettuale, che prevede un'ipotesi di tipo filosofico e una conferma (o un'indicazione) di tipo biologico. Si tratta di una convenzione inevitabile in presenza di verità che sono al di fuori della nostra portata, il che rende necessario che ad ogni specifica ipotesi debba essere attribuita la stessa quota di verosimiglianza. Dal mio punto di vista, è soprattutto il senso comune (in altri casi può essere un atto di fede, un'elucubrazione filosofica o un interesse personale) a indicare che di tutti i momenti indicati quello della formazione di un genoma unico dovrebbe essere preferito, secondo quanto viene espresso nelle conclusioni degli embriologi che si trovano nel documento allegato.

Trovo piuttosto peculiare non tanto il fatto che ci possano essere opinioni diverse, quanto il modo in cui si è arrivati alla loro formulazione. A questo proposito mi permetto di rilevare che:

1) In molti documenti ufficiali, il Magistero Cattolico ha indicato nella formazione dello zigote il momento d'inizio della vita personale. Solo per fare un esempio, cito il documento intitolato "Istruzione su il rispetto della vita nascente e la dignità della procreazione" nel punto in cui si recita: "Pertanto il frutto della generazione umana dal primo momento della sua esistenza, e cioè a partire dal costituirsi dello *zigote*, esige il rispetto incondizionato...".

E ancora: "Questa dottrina rimane valida e viene peraltro confermata, se ve ne fosse bisogno, dalle recenti acquisizioni della biologia umana la quale riconosce che nello *zigote* derivante dalla fecondazione si è già costituita l'identità biologica di un nuovo individuo umano.

2) A pagina 568 della suddetta Istruzione c'è una nota, a piè di pagina, che definisce il termine "zigote": "Lo zigote è la cellula derivante dalla fusione dei nuclei dei due gameti". Questa non è la versione definitiva del documento (nella versione latina, che fa testo, la nota in questione, come vedremo, cambierà), ma è comunque molto importante capire il significato di questa nota. In realtà, la definizione è sbagliata, perché nella specie umana la fusione dei pronuclei non c'è (i pronuclei scompaiono), ma il riferimento all'anfimissi è più che evidente. Resisi conto dell'errore (un fatto del quale si conoscono alcuni particolari) gli estensori hanno riparato sostituendo la nota esplicativa con una nuova definizione: "lo zigote è la cellula derivante dalla fusione dei due gameti". In tutte le discussioni sostenute, quella definizione, pur nella sua vaghezza, (*fusio duorum gametum* indica un processo biologico di durata piuttosto lunga, senza ulteriori precisazioni) è stata considerata utile per ridefinire, in modo questa volta corretto, l'anfimissi.

3) Nei documenti che sono stati presentati al Comitato Nazionale per la bioetica sullo statuto ontologico dell'embrione in tempi passati, è stata ancora una volta la parola "zigote" ad essere scelta per indicare l'inizio della vita personale.

4) Per evitare equivoci sul significato della parola "zigote", riporto la definizione che ne dà Adriano Bompiani: "Circa l'inizio del nuovo essere definito genericamente "concepito", l'opinione diffusa tra i biologi pone questo evento nella fertilizzazione

---

<sup>3</sup> La teoria dell'oocita attivato; la teoria della formazione di un genoma unico; l'ipotesi dell'attivazione del genoma embrionale; la teoria della perdita della totipotenza cellulare e della capacità di formare gemelli; la teoria dell'impianto; la teoria della linea embrionaria primitiva; la teoria della comparsa delle cellule nervose; l'ipotesi i-lomorfica.

dell' ovocita, processo divisibile in vari stadi, ma che si svolge in un lasso relativamente breve di tempo e che dà luogo comunque a un evento: il possesso, nell'entità che si è formata, di un'informazione unica e irripetibile. Volendo precisare il momento culminante all'interno di questo processo l'opinione dominante identifica nello stadio detto di anfigamici (o singamia) l'inizio della nuova entità o essere a questo stadio detto zigote". (A. Bompiani: *Fecondazione Assistita e statuto ontologico dell'embrione*. In: *Fecondazione assistita - Una proposta di legge da discutere*. A cura di F.D. Busnelli A.R. Genazzani, E. Ripepe - CIC Edizioni Internazionali, Roma, 1997 - 19 - 32).

5) La nuova teoria proposta da alcuni membri del CNB presenta, tra l'altro, alcune incongruità biologiche. Ad esempio, le caratteristiche di questo presunto, nuovo "individuo", si adattano alla fase del concepimento che gli embriologi indicano come quella dell'"ovocita attivato", nella quale la cellula uovo diventa impenetrabile all'ingresso di spermatozoi diversi da quello che ha perso contatto con lei, e si può affermare che, continuando il processo di fecondazione, il genoma che si stabilirà non potrà essere diverso da quello prodotto dalla fusione dei due gameti protagonisti. In questa fase il gamete femminile non ha però ancora raggiunto lo stadio di "ovocita penetrato" (per cui non si tratta ancora di una unica cellula, ma di cellule adiacenti e ancora separate) e non ha ancora espulso il 2° globulo polare.

6) E' evidente che abbandonare questa teoria per abbracciarne una del tutto nuova rappresenta uno sforzo non facile. Di qui l'uso - a mio avviso molto discutibile - di neologismi costruiti ad hoc come "zigote biconucleare".

7) E' anche peculiare l'indifferenza con cui noti biologi ed esperti della materia stanno passando da una teoria all'altra, spesso dimentichi persino di avere firmato documenti "compromettenti".

8) E' infine perlomeno strana la recente tendenza a chiamare in causa la biologia, dopo che documenti ufficiali l'avevano esclusa dalla discussione come "incapace". E' bene ricordare che da Claude Bernard in poi un grande numero di scienziati ha escluso che la biologia possa intervenire nella definizione della "nozione di vita" e dell'inizio della vita personale.

## **DOCUMENTO CONCLUSIVO**

(Convegno: Dall'ovocita alla blastocisti: il passaggio generazionale nell'uomo  
Roma, 28 settembre 2004)

La transizione dall'ovocita alle inicialissime fasi di un nuovo essere umano è un avvenimento non istantaneo e che si accompagna a notevoli e sostanziali cambiamenti biologici in seno all'ovocita.

La legge n° 40 *19 Febbraio 2004* ammette la crioconservazione di questa cellula ma vieta espressamente quella dell'embrione, fatte salve alcune particolari circostanze che rientrano nell'ambito delle condizioni di necessità. Non vi è alcun riferimento, né nella legge, né nelle linee guida (D.M. 21 Luglio 2004, G.U. n° 191 del 16 agosto 2004), alle altre realtà biologiche che si susseguono nel corso di questo passaggio e così non è chiaro se e fino a quando l'ovocita che lo ha iniziato possa essere congelato. Ai fini di una migliore applicazione delle normative attuali, studiosi di biologia della riproduzione umana, docenti nelle facoltà mediche italiane, impegnati quindi nella formazione dei futuri medici e delle altre figure sanitarie, hanno inteso fornire

un contributo tecnico al dibattito attraverso una rigorosa analisi delle conoscenze sulla transizione oocita – embrione nell'uomo, che sono riassunte qui di seguito.

### **La transizione oocita-embrione nell'uomo**

Il ciclo biologico dell'uomo si caratterizza per una riproduzione sessuata gonocorica che vede la *fecondazione* come fondamentale processo con il quale si realizza la transizione oocita – embrione e con essa quel passaggio generazionale che dai “genitori” porta ai “figli”.

La fecondazione non è un evento “istantaneo” ed anche a volerlo considerare solo dal punto di vista cellulare più restrittivo, consiste di un processo che :

- è innescato da interazioni a breve distanza e di varia natura tra lo spermatozoo e i rivestimenti cellulari e acellulari dell'uovo;
- prosegue con la fusione dei due gameti ciascuno proveniente da due genitori di sesso diverso, la donna che fornisce l’“oocita” e l'uomo che fornisce lo “spermatozoo”;
- termina, in un tempo variabile fra le 16 e le 30 ore, con la formazione dello *zigote*.

Nella dinamica del processo si osserva una successione di eventi embricati e fra loro interagenti che, a partire dall’oocita, portano alla successiva comparsa di diverse entità biologiche, tutte caratterizzabili sul piano morfologico, metabolico e genomico. Fra queste entità emerge l’*oocita a due pronuclei*, da alcuni autori definito “*ootide*”.

Con l’avvenuta espulsione del secondo globulo polare, è identificabile nei due genomi aploidi quale sarà il nuovo assetto genomico, tuttavia tali genomi devono essere sostanzialmente considerati ancora genomi dei due genitori sebbene contenuti in un unico citoplasma. Diversamente da come avviene in altre specie animali, separatamente i pronuclei non si fondono ma procedono separatamente nelle loro funzioni ed in particolare a duplicare il loro DNA ed a dissolvere successivamente i loro involucri per mettere in comune sulla medesima piastra metafasica i loro assetti cromosomici.

Questa cellula in metafase è lo *zigote*. Soltanto in questa fase infatti gli assetti cromosomici aploidi paterni e materni si sono congiunti e sommandosi hanno ristabilito l’assetto cromosomico diploide, proprio della specie umana.

La costituzione del nuovo genoma diploide rappresenta l’evento conclusivo del processo di fecondazione. Esso precede di pochissimo l’inizio dello sviluppo che segna l’avvenuto passaggio generazionale. A questa fase segue la prima divisione di segmentazione con comparsa di un’entità bi-cellulare che è la prima di un nuovo genoma unico e irripetibile.

Va rilevato che questo inizio non attiva la “personalità molecolare” del nuovo essere: per molte ore ancora lo sviluppo prosegue infatti utilizzando un programma basato su molecole espressione del genoma dei due genitori anche se quello materno è prevalente

Va infine richiamato che, anche nell'uomo, la fecondazione in quanto tale non è indispensabile per il passaggio generazionale e per l’attivazione del programma di sviluppo. Può infatti aversi sia *partenogenesi* nel quale il genoma del nuovo essere umano è tutto di derivazione materna, sia *androgenesi* dove tale genoma è invece tutto di derivazione paterna, benchè questi processi non portino alla nascita di un nuovo individuo.

***IN CONCLUSIONE***, la transizione oocita-embrione risulta da una successione di eventi che si susseguono nel tempo con larghe sovrapposizioni funzionali e temporali. In tale transizione un evento peculiare sul quale basare la criticità del passaggio generazionale e quindi l'inizio di un nuovo essere umano, è rappresentato dalla costituzione del nuovo assetto cromosomico diploide e dal successivo inizio della segmentazione.

Come ho già scritto, questa è in realtà anche la mia personale conclusione, anche se la mia opinione sull'inizio della vita personale è del tutto diversa.

Se si è costretti, per ragioni pragmatiche, a indicare il punto di maggior rilievo nel passaggio generazionale dell'uomo, questo va certamente indicato nell'anfimissi e nella formazione dello zigote.