

1 PARTE: “IDENTITÀ E STATUTO DELL’EMBRIONE UMANO”

Introduzione

Il progresso biotecnologico e la “terza cultura”

In ambito scientifico gli ultimi decenni hanno visto lo straordinario progresso nel campo della genetica e delle biotecnologie che ha portato ad una vera e propria “rivoluzione genomica” grazie a significativi passi compiuti nel campo della biologia e della genetica molecolare: si pensi al sequenziamento del genoma umano; allo studio della funzione genica e delle regioni regolatorie dei geni; al sequenziamento dei genomi di alcune migliaia di altre specie viventi. Queste conoscenze hanno permesso studiare diverse patologie ereditarie umane ed hanno determinato l’avanzamento di nuovi filoni di ricerca come *proteomica*, la *genomica funzionale* e la *farmacogenetica*: si tratta di ambiti in continuo sviluppo se pensiamo che al momento conosciamo la funzione dell’1,5% dei geni che codificano per proteine e di una piccola parte delle sequenze regolatorie non codificanti.

La cosiddetta “rivoluzione genomica” ha a sua volta moltiplicato le possibilità teoriche d’intervento in vasti campi di applicazione quali l’*agricoltura*, la *zootecnia*, la *farmacologia*. In *medicina* sono stati aperti i filoni della *medicina genomica*, della *diagnostica prenatale e postnatale*, la *geneterapia*, per la cura delle malattie ereditarie. Dalle più recenti conoscenze della “rivoluzione genomica” sono nate anche ricerche di frontiera come la *biologia sintetica*, che ha lo scopo di creare in laboratorio la cosiddetta “vita artificiale” al fine di ottenere proteine utili in ambito nutrizionale e molecole di potenziale interesse farmacologico; la *riprogrammazione cellulare* che permette di ottenere cellule staminali con caratteristiche embrionali a partire da cellule differenziate, per ottenere linee cellulari in grado di essere utilizzate a scopo terapeutico e ripartivo; ricordiamo anche lo sviluppo delle *nanotecnologie* e delle *neuroscienze*.

Il notevole sviluppo biotecnologico ha inoltre determinato l’apertura di nuove aree sperimentali e cliniche che coinvolgono in prima persona *l’essere umano all’inizio della sua esistenza*: grazie anche all’apporto degli studi embriologici e biomolecolari è stato possibile scoprire i più intimi meccanismi dello sviluppo e dell’identità biologica umana, consentendo di utilizzare queste conoscenze quale “prezioso strumento di lavoro e di ricerca”. La possibilità di effettuare precoci interventi terapeutici e diagnostici sull’embrione e sul feto, la produzione di embrioni *in vitro* per il superamento della sterilità o di rischi genetici e l’avvio della *diagnosi preimpianto*, l’utilizzazione di embrioni per ottenere *cellule staminali embrionali* da utilizzare nell’ambito della medicina rigenerativa, la *sperimentazione su embrioni* a scopo di ricerca o la loro clonazione per aumentare il numero di embrioni con lo stesso fenotipo, sono alcuni dei più discussi filoni biomedici che hanno per protagonista l’individuo umano nelle fasi precoci del suo sviluppo e che presentano profonde “sfide di carattere etico”.

Il rapido sviluppo delle biotecnologie se da una parte ha favorito il progresso scientifico ed il miglioramento della prassi biomedica, ha però anche provocato un *elevato senso di autosufficienza della scienza e della medicina da influenze della società, della cultura e dell’etica*: la cultura contemporanea è stata definita come la “*terza cultura*”, nella quale ha predominio assoluto la tecnologia e in cui la ricerca della “verità” viene sostituita dalla ricerca della “novità”, e la “razionalità” dalla “sintesi esperienziale”. Tra i principi di questa nuova cultura fondamentale è l’idea che *non ci sia nulla al di fuori dell’universo tangibile*, che l’uomo sia un organismo non qualitativamente diverso da qualsiasi altro animale - e quindi ridotto alla sua sola realtà corporea - e che l’etica umana non abbia principi immutabili perché essa si evolve gradualmente grazie allo sviluppo cerebrale e all’evoluzione dei gruppi culturali umani.

In ambito scientifico viene affermato che la scienza e la tecnologia sono *neutre*: poiché l’essenza della scienza è l’oggettività, ogni ostacolo posto al progresso scientifico risulta come una limitazione a tale oggettività; di conseguenza non devono essere poste restrizioni all’attività scientifica e al progresso tecnologico. Si parla di “scienza del possibile” che considera giusto e

buono tutto ciò che è tecnicamente possibile e che non accetta messaggi di guida o di stimolo da parte di sistemi di pensiero di ordine antropologico o etico. Se l’uomo e tutta la realtà biologica sono frutto di una evoluzione cieca non esistono criteri in base ai quali conformare l’agire ed *ogni realtà naturale è solo materia a disposizione dell’uomo*. Conseguentemente, *tutto quel che è possibile diviene lecito ed ogni limite è un ostacolo da superare*; l’esigenza di conoscere e dominare il mondo biologico e di promuovere il benessere e la salute dell’uomo si riducono ad un approccio di semplice *manipolazione*. Ne risulta una grande spinta a fare non frenata da principi etici, in altre parole dal *sensu di responsabilità*.

La diffusione delle biotecnologie e la svolta culturale da esse portata hanno sollevato serie questioni etiche, in particolare su come risolvere la tensione fra la *libertà di ricerca scientifica* ed il *rispetto ed la protezione della vita umana*; sull’opportunità ed i limiti degli interventi sull’individuo umano, soprattutto quando questi non sono a suo diretto vantaggio; *sul valore da attribuire alla vita umana in ogni stadio della sua esistenza* e la tutela che essa richiede soprattutto nei momenti di maggiore fragilità e vulnerabilità. In questo contesto *il tema della vita umana prenatale* ha assunto un ruolo significativo per l’entità delle questioni da esso sollevate e per le rilevanti implicazioni non solo in ambito sanitario ma per l’intera società e per il futuro stesso della famiglia e dell’uomo.

L’essere umano e la persona nel dibattito bioetico sull’inizio della vita umana

Al cuore del dibattito bioetico sulla natura e ed il valore dell’embrione umano vi è il quesito sulla *dignità da attribuire all’essere umano agli albori della sua esistenza*, da cui scaturisce la considerazione dei modi e gradi del rispetto e della tutela dovuti nei suoi confronti.

Nella discussione bioetica il *concetto di persona* assume un preciso significato pratico: *il termine viene attribuito al soggetto degno di rispetto e tutela perché si riconosce alla persona un valore intrinseco, una preziosità che deve essere difesa*. Per la bioetica, la questione del *valore della vita prenatale* riguarda, allora, innanzitutto il riconoscimento o meno dell’identità tra l’essere umano (l’individuo biologico) e la persona: se i due concetti sono sovrapponibili l’essere umano dovrà essere tutelato fin dall’insorgere della sua individualità biologica; se non lo sono, sarebbe possibile ammettere l’esistenza di una “zona franca”, di un periodo nello sviluppo embriologico in cui l’uomo non è pienamente tale, e trarne le conseguenze logiche e pratiche?

Le differenti teorie che si sono venute configurando nel dibattito attuale sono estremamente articolate ma ci limitiamo qui a distinguere due principali prospettive teoriche: la *tendenza personalista*, secondo cui ogni organismo biologico umano è una persona (*sostanzialismo personalista*) e la *tendenza separatoria (funzionalismo-empirista)*. In questa seconda corrente di pensiero si assiste ad una *riduzione* del concetto di persona, per cui non tutti gli esseri umani sono considerati persone (ad es. gli embrioni umani, gl’individui portatori di un handicap grave, i malati terminali), o ad una sua *espansione*, quando il significato di persona è esteso ad esseri viventi di altre specie o ad entità artificiali (ad es. i *cyborg*) perché capaci di svolgere determinate funzioni (ad es. la capacità di provare piacere o dolore, di relazionarsi con gli altri, di conoscere ecc.).

Nell’ambito della tendenza *riduzionista* sono oggi particolarmente discusse le tesi incentrate sul concetto di *individualità biologica umana*: esse pongono l’accento su diversi eventi biologici considerati “critici” per la costituzione di una nuova individualità biologica a cui è possibile attribuire il pieno statuto ontologico e morale di *persona* con la sua piena dignità: tra le fasi indicate come critiche dalle differenti teorie ricordiamo, ad esempio, il momento dell’attivazione del nuovo genoma diploide nello zigote, il momento dell’impianto dell’embrione in utero e la formazione della stria primitiva, la chiusura del tubo neurale ecc..

L’inizio della vita umana individuale: i dati biologici (I parte)

Per poter affrontare con rigore scientifico gli aspetti etici e giuridici riguardanti l’inizio della vita umana è quindi necessario chiarire innanzitutto *la natura biologica dell’essere umano e delle sue*

origini. Certamente nessun dato sperimentale può dare risposte di ordine ontologico sulla natura ed il valore dell’essere umano nelle diverse fasi del suo sviluppo ma «le conclusioni della scienza sull’embrione umano forniscono un’indicazione preziosa per *discernere razionalmente* una presenza personale fin da questo primo comparire di una vita umana: come un individuo umano non sarebbe una persona umana?»¹.

La fusione dei gameti: l’evento critico del passaggio generazionale

In biologia l’*individuo* è identificato nell’*organismo*, definito come la *modalità di esistenza individuale del vivente biologico*; esso occupa uno spazio ed evolve nel tempo come una individualità singolare che *mantiene la sua specifica identità* anche se la sua morfologia e fisiologia evolve nel corso della sua vita biologica. L’organismo in sé può essere identificato attraverso il suo *ciclo vitale*, cioè il distendersi nello spazio e nel tempo della vita di un’individualità biologica; il ciclo vitale descrive le variazioni morfologiche e funzionali che avvengono nel corso della vita di un organismo, non accidentalmente, ma secondo un *programma intrinseco*, caratteristico di ogni specie vivente. *L’origine di un organismo biologico coincide quindi con l’inizio del suo ciclo vitale*: è l’avvio di un ciclo vitale indipendente a definire l’inizio di una nuova esistenza biologica individuale che si svilupperà nel tempo attraversando diverse tappe fino a giungere alla maturità e poi alla conclusione del suo arco vitale, secondo un preciso processo ontogenetico.

Il ciclo biologico dell’uomo si caratterizza per una *riproduzione germinale sessuata gonocorica*; in natura, questo tipo di riproduzione realizza il *passaggio generazionale* attraverso la *fecondazione*, un complesso processo altamente regolato, scandito temporalmente da un susseguirsi di specifici stadi, che determina l’incontro e la fusione di due cellule sessuali (i gameti) di origine paterna e materna (spermatozoo ed ovocita), per formare una nuova cellula attivata, lo *zigote* o *embrione unicellulare (one-cell embryo)*: è questo un *nuovo organismo della specie umana*. La *fecondazione* dà, quindi, l’avvio al ciclo vitale di un nuovo individuo umano che inizia un processo ontogenetico indipendente; essa rappresenta un *evento critico di discontinuità*, perché *segna il costituirsi di una nuova individualità biologica qualitativamente differente dai gameti che l’hanno generata*.

I protagonisti del processo di fecondazione sono i gameti maschili e femminili maturi *aploidi*, che possiedono la metà del corredo cromosomico completo; essi si fondono per dare origine ad un nuovo individuo con un corredo genetico “diploide” (nell’uomo, 46 cromosomi), derivato da entrambi i genitori.

Nell’uomo i gameti maschili e femminili maturi, rispettivamente *spermatozoi* ed *ovociti*, derivano da elementi precursori, le *cellule germinative primordiali*, che subiscono un complesso processo maturativo e differenziativo chiamato “gametogenesi” (“spermatogenesi” nel maschio ed “ovogenesi” nella femmina): questa maturazione prevede il dimezzamento del patrimonio cromosomico delle cellule germinative attraverso uno speciale processo di divisione nucleare chiamato “meiosi” (che ha luogo solo nella linea germinale), durante il quale avviene anche il rimescolamento dei caratteri ereditari che dà luogo alla cosiddetta “variabilità genetica”, e la successiva *maturazione morfologica dei gameti*. Mentre nel maschio le divisioni meiotiche cominciano alla pubertà, nella femmina l’ovogenesi comincia già durante la vita fetale e si completerà, a partire dalla pubertà, ad ogni ciclo ovarico.

Nello *spermatozoo maturo* si differenziano due diversi segmenti: la *testa* e la *coda*; la testa racchiude il *nucleo aploide* incappucciato da una grande vescicola lisosomiale detta *acrosoma* che contiene una complicata miscela di enzimi idrolitici necessaria per la dispersione delle barriere che circondano l’ovocita; la coda è dotata delle strutture atte al *movimento flagellare*, il segmento intermedio della coda contiene i *mitocondri* che costituiscono la centrale energetica dello spermatozoo. La lunghezza dello spermatozoo umano, compresa la coda, è di circa 50 µm; la distanza che gli spermatozoi devono percorrere dalle gonadi maschili (testicoli) alle tube per raggiungere l’ovulo è di oltre 7 m, ossia più di 100.000 volte la loro lunghezza. Durante questo

¹ Congregazione per Dottrina della Fede, *Donum vitae*, 22 /2/1987, I, 1.

lungo tragitto attraverso le vie genitali maschili e poi femminili lo spermatozoo subisce fondamentali processi maturativi e selettivi per poter fecondare con efficienza e specificità l'ovocita. Il movimento degli spermatozoi lungo le vie genitali femminili è associato a stimoli sia fisici che chimici che gli permettono di essere indirizzati fino all'ovocita senza deviazioni di percorso. Se non avviene la fecondazione, la sopravvivenza dello spermatozoo lungo le vie genitali femminili è di *pochi giorni*.

Gli *ovociti maturi* sono cellule molto grandi se paragonate agli spermatozoi ma ed a diversi tipi di cellule somatiche; nell'uomo il diametro dell'ovocita può raggiungere i 150 μm . Nell'ovocita deve essere accumulato tutto il materiale necessario per l'inizio dell'accrescimento e dello sviluppo dell'embrione nelle sue fasi iniziali. Il citoplasma dell'ovocita contiene proteine ed aminoacidi per fornire all'embrione in sviluppo una provvista di energia; ribosomi ed RNA di trasporto (tRNA) per la sintesi proteica; fattori morfogenetici per dirigere la differenziazione cellulare verso alcuni tipi cellulari; mitocondri e corpi multivescicolari per il trasporto di sostanze attraverso la membrana plasmatica. Entro questa voluminosa massa citoplasmatica si trova il nucleo che completa la sua maturazione meiotica solo se lo spermatozoo penetra nell'ovocita. La cellula uovo è rivestita da una spessa membrana glicoproteica chiamata *zona pellucida* (ZP), essenziale per il legame specie-specifico dello spermatozoo (gli spermatozoi della specie umana riconoscono, attraverso la ZP, soltanto ovociti della loro specie) ed il blocco della polispermia (soltanto uno spermatozoo potrà fecondare la cellula uovo); essa previene anche la disgregazione delle cellule embrionali non ancora compattate (dette *blastomeri*) e l'impianto prematuro dell'embrione nell'ovidutto e protegge l'embrione contro tossine, batteri, virus ed altri agenti patogeni. Poiché l'embrione è rivestito della ZP fino a poco prima dell'impianto, tutti i segnali materno fetali passano attraverso di essa. All'atto della espulsione dell'ovaio, l'ovocita è circondato da uno strato di cellule detto *corona radiata*, costituito dalle cellule follicolari che rivestivano l'ovocita prima della sua estrusione dall'ovaio; queste cellule permettono di aumentare la possibilità di contatto con gli spermatozoi e d'influenzare l'induzione della reazione acrosomiale. L'ovocita estruso dall'ovaio è catturato nel *canale della tuba* (detto anche *ovidotto*) dove attende il possibile incontro con lo spermatozoo; *se l'incontro non avviene la cellula uovo sarà degradata nell'arco di circa 24 ore*.

Nei Mammiferi la fecondazione avviene nelle vie riproduttive femminili e nell'uomo l'incontro dei due gameti avviene di norma nel terzo esterno della *tuba uterina*: all'eiaculazione i milioni di spermatozoi, immagazzinati nel tratto caudale dell'epididimo, sono depositati in vagina sebbene solo poche centinaia riescano a procedere attraverso la cervice, il corpo dell'utero e la tuba uterina fino all'estremità slargata di quest'ultima (l'ampolla), e solo uno feconderà l'ovocita. Per garantire l'incontro fra i due gameti altamente specializzati al momento giusto e nel posto giusto, è attivata una complessa rete d'interazioni cellulari e di segnali fisici e chimici fra lo spermatozoo e l'ambiente circostante; lo stesso ovidutto e l'ovocita coordinano le funzioni dello spermatozoo.

Gli eventi del *processo di fecondazione* si possono, quindi, raggruppare in *alcune principali tappe*: la *reazione acrosomiale*, che permette l'attraversamento degli strati che circondano l'ovocita ed il legame alla zona pellucida; la fusione dei gameti stessi o singamia, che determina l'attivazione del metabolismo dell'ovocita fecondato con l'inizio dello sviluppo embrionale, e la *reazione corticale* per la regolazione dell'entrata dello spermatozoo nell'ovocita; la formazione dei *pronuclei maschili e femminili* e l'inizio del primo processo mitotico di segmentazione. Recenti studi sperimentali hanno messo in evidenza la precisione e l'eleganza di questi meccanismi.

La *reazione acrosomiale* consiste nella liberazione, da parte della vescicola acrosomiale dello spermatozoo, di enzimi litici capaci di disperdere le cellule della corona radiata, essi permettono allo spermatozoo di aprirsi una strada fino a raggiungere ZP. Il legame spermatozoo - ZP (mediato da proteine specie-specifiche) induce l'attivazione ed il rilascio di un altro enzima acrosomiale, l'*acrosina*, che facilita la penetrazione dello spermatozoo attraverso la ZP, per scavare in essa un canale che gli permetta di raggiungere la membrana plasmatica che delimita l'ovocita. Lo spermatozoo più veloce che attraversa la zona pellucida si lega e si fonde con la membrana plasmatica dell'ovocita: il segmento equatoriale della testa dello spermatozoo si attacca alla

superficie dell'ovocita grazie ad un meccanismo ligando-recettore, e la sola testa dello spermatozoo viene inglobata nella cellula uovo. Il *nucleo* ed il *centriolo* (piccolo organulo di forma cilindrica importante nella formazione del fuso mitotico) dello spermatozoo sono incorporati nell'ovocita.

La *fusione dei gameti* o *singamia* è il culmine della fecondazione poiché è un *processo irreversibile che innesca una serie di eventi, valutabili dal punto di vista biochimico, molecolare e morfologico, che segna l'inizio di un nuovo organismo: lo zigote o embrione unicellulare*. Ne è primo indice una modificazione ionica dell'ovocita fecondato determinata dal massivo rilascio di calcio (Ca^{2+}) dal reticolo endoplasmatico e da un aumento del pH intracellulare. L'aumento improvviso e transitorio della concentrazione intracellulare di Ca^{2+} determina un'onda ionica detta *onda calcio (calcium wave)* che segna l'inizio dell'*attivazione dello zigote*, una nuova cellula che non è la semplice somma dei gameti maschile e femminile che la costituiscono.

Gli eventi più significativi che seguono la penetrazione dello spermatozoo nell'ovocita possono essere così puntualizzati:

- *Attivazione metabolica dello zigote*: dopo l'espulsione dall'ovaio l'ovocita è in uno stato di ridotta attività metabolica; il metabolismo si affievolisce ulteriormente e culmina nella morte programmata della cellula (apoptosi), qualora nelle 12-24 ore successive all'ovulazione l'ovocita non venga fecondato. La penetrazione dello spermatozoo abolisce nell'ovocita i fenomeni inibitori e dà nuova vita alla cellula, avviando un ciclo vitale la cui prospettiva di vita è dell'ordine di decine di anni. *Inizia così lo sviluppo di un nuovo individuo che presenta il pattern genetico e molecolare della specie umana*.

- *Reazione corticale*: essa induce un cambiamento strutturale della zona pellucida che impedisce l'accesso ad altri spermatozoi e permette di isolare e proteggere, nel periodo preimpianto, il nuovo individuo umano che inizia il proprio ciclo vitale.

- *Riprogrammazione del quadro di espressione genica*: i gameti sono cellule altamente specializzate il cui materiale genetico viene opportunamente modificato durante il periodo di differenziamento - esso non è, quindi, nella condizione di poter esprimere tutto il suo potenziale di espressione genica -. Poche ore dopo la fusione dei gameti, attraverso un processo indicato con il nome di *riprogrammazione nucleare*, le modificazioni epigenetiche della cromatina dei gameti vengono cancellate, rendendo possibili le potenzialità espressive dell'embrione precoce.

- *Organizzazione del nuovo genoma*: a poche ore dalla penetrazione dello spermatozoo, l'ovocita completa la seconda divisione meiotica con l'estrusione del secondo globulo polare; inizia la decondensazione della cromatina materna e la formazione del *pronucleo femminile*. Intanto, il nucleo maschile, che al momento dell'introduzione nell'ovocita aveva una cromatina altamente compattata ed era silente, cioè inerte ai meccanismi di trascrizione, viene trasformato in un nucleo funzionalmente attivo, il *pronucleo maschile*, attraverso profonde modificazioni biochimiche e strutturali che prevedono una intensa cooperazione fra elementi molecolari paterni e materni. Durante questa fase, detta *fase pronucleare*, i due pronuclei si avvicinano al centro della cellula e mentre si muovono l'uno verso l'altro la loro informazione genetica viene già letta per guidare lo sviluppo. Mentre i due pronuclei si muovono l'uno verso l'altro la loro cromatina continua a decondensarsi.

La descrizione di questi eventi indica che l'*organizzazione del nuovo genoma* inizia a partire dalla *fusione dei gameti* e procede grazie all'attività coordinata e ad un complesso dialogo fra le componenti molecolari dei due gameti ora fusi, che costituiscono una nuova cellula.

- *Attivazione del nuovo genoma*: la decondensazione dei cromosomi materni e paterni ne permette l'attivazione trascrizionale e nuove proteine vengono tradotte già allo stadio pronucleare, alcune di esse hanno un ruolo-chiave nello sviluppo successivo dell'embrione. Studi condotti sul topo hanno messo in evidenza che dei 11.483 geni attivi prima dell'impianto, 1.185 iniziano ad essere trascritti in questo periodo. Nell'uomo sono noti una serie di geni coinvolti nello sviluppo ed espressi molto precocemente, già allo stadio di zigote. Sono oggi noti almeno 25 geni del nuovo genoma già attivi allo stadio unicellulare: fra questi sottolineiamo i geni del cromosoma Y, ZFY e SRY, coinvolti nella determinazione del sesso; gli *housekeeping genes*, importanti per l'ulteriore

sviluppo dell’embrione; i geni omeotici, coinvolti nella definizione del modello corporeo dell’embrione e la differenziazione dei tessuti.

Questi dati mettono in luce che il nuovo genoma guida lo sviluppo embrionale a partire dallo stadio unicellulare – l’informazione contenuta nell’mRNA materno contribuisce solo marginalmente agli eventi iniziali dell’attività dell’organismo umano allo stadio unicellulare –.

- *Replicazione del DNA e stimolazione della divisione cellulare*: il DNA comincia a replicarsi e l’embrione unicellulare si prepara alla prima divisione cellulare. Il centrosoma di origine paterna si divide e, a partire dai pronuclei, si organizza il fuso mitotico; attorno alla 15^a ora dalla fecondazione i due pronuclei s’incontrano ed i loro rivestimenti si rompono; i cromosomi maschili e femminili duplicati e condensati, si allineano all’equatore del fuso mitotico e si distribuiscono in modo ordinato nel citoplasma che inizia a dividersi. Al termine della divisione cellulare sono evidenti due cellule, ciascuna dotata di una copia dell’intero genoma diploide, che rimangono unite l’una all’altra formando l’embrione a due cellule (*two-cell embryo*). Nei Mammiferi, compreso l’uomo, il genoma diploide viene rivestito da un involucro nucleare per la prima volta solo allo stadio di due cellule.

È importante sottolineare che, com’è stato descritto, l’attivazione coordinata del nuovo genoma precede e non dipende dall’incontro dei pronuclei e dall’apposizione dei cromosomi. Questa fase non può essere considerata un evento critico dal punto di vista della transizione gamete-embrione. Essa non modifica né la quantità né la qualità dell’informazione biologica contenuta nel genoma nucleare e mitocondriale dello zigote, e neppure porta alla costituzione di una cellula differente dal punto di vista delle componenti citologiche. Sulla base di quanto esposto è erronea dal punto di vista scientifico l’interpretazione di alcuni autori implicati nell’ambito della fecondazione artificiale secondo cui durante la fase pronucleare, la cellula uovo fecondata non può più considerarsi un ovocita, in quanto ha completato l’ovogenesi e contiene già due pronuclei, ma non può considerarsi uno zigote, in quanto non si è ancora giunti alla fusione dei due genomi contenuti in tali pronuclei; l’ovocita fecondato allo stadio di due pronuclei è stato erroneamente definito ovotide o pre-zigote.

Dal momento della fusione dei gameti gli elementi di origine paterna e materna contribuiscono, grazie ad un completo e coordinato scambio, l’attività del nuovo organismo allo stadio unicellulare: *un lavoro intenso di auto-organizzazione del nuovo sistema per iniziare nella direzione giusta tutto il successivo sviluppo.*

- *Determinazione del sesso del nuovo individuo*: l’individuo sarà di sesso maschile se lo spermatozoo fecondante è portatore del cromosoma sessuale Y (46, XY); femminile se lo spermatozoo è portatore del cromosoma sessuale X (46, XX). Poiché le cellule di un organismo derivano dallo zigote ed hanno tutte lo stesso corredo cromosomico, il *sesso genetico* o *cromosomico* di un individuo viene determinato al momento della fecondazione. La determinazione del sesso cromosomico pone la base per le altre tappe dello sviluppo sessuale (si parla di *sesso gonadico, ormonale e duttale, fenotipico o genitale, cerebrale e psicologico*); *la differenziazione sessuale avviene in modo graduale secondo tappe progressive che portano all’armonizzazione delle varie componenti della sessualità.* Diversi studi molecolari hanno messo in evidenza che subito dopo la fecondazione e nello sviluppo dell’embrione pre-impianto sono già attivati diversi geni coinvolti nella differenziazione sessuale; è stato inoltre osservato che gli embrioni maschili e femminili, già prima di impiantarsi nell’utero, si distinguono *antigenicamente* ed hanno un *diverso ritmo di sviluppo*, indicando *differenze sessuali nell’espressione genica. Fin dal primo istante l’essere umano è quindi strutturato in senso maschile o femminile.*

- *Specificazione del piano corporeo dell’embrione*: attraverso complessi e raffinati esperimenti di biologia dello sviluppo è stato dimostrato che gli assi dello sviluppo embrionario iniziano ad essere definiti nei minuti e nelle ore che seguono la fusione dei gameti. È stato inoltre dimostrando che la posizione del secondo globulo polare o il punto di entrata dello spermatozoo nell’ovocita e la forma dell’ovocita fecondato, sono elementi-chiave nell’influenzare l’orientamento dell’asse lungo il quale avviene la prima divisione cellulare. Esso, a sua volta, permette di prevedere la strutturazione e polarizzazione della blastocisti.

Marcando in modo differenziale le prime due cellule dell’embrione per seguire il destino della cellule discendenti, è stato poi dimostrato che la prima divisione dello zigote influenza il destino di ciascuna delle due cellule: una cellula darà origine alla regione della massa cellulare interna o embrioblasto (da cui deriveranno i tessuti dell’embrione) e l’altra al trofoblasto (da cui deriveranno i tessuti extraembrionali). *La prima divisione dello zigote influenza, quindi, il destino di ogni cellula e, in definitiva, di tutti i tessuti del corpo.*

Se il piano corporeo dell’embrione inizia ad essere posto al momento della fecondazione e se i primi due blastomeri hanno già un futuro predeterminato, non è possibile lasciare spazio al concetto di *pre-embrione* e all’idea che gli embrioni precoci siano un *cumulo indistinto di cellule*. Queste recenti scoperte mettono anche in luce quanto possano essere potenzialmente dannosi gli interventi sull’embrione precoce, per il suo sviluppo successivo. Si pensi ad alcune tecniche di riproduzione assistita (ad es. la ICSI, *Intra Cytoplasmic Sperm Injection*) che potrebbero distruggere i delicati processi che permettono di stabilire gli assi corporei; oppure ai test genetici effettuati sull’embrione prima dell’impianto (*diagnosi genetica preimpianto*), in cui due cellule sono rimosse dall’embrione allo stadio di sole otto cellule, compromettendo l’integrità dell’embrione stesso e rivelandosi un’altra area di forte preoccupazione.

La *singamia* è l’evento biologico che innesca la catena di eventi molecolari e metabolici che danno l’avvio al ciclo vitale di un nuovo organismo umano. *Lo zigote o embrione unicellulare si costituisce, allora, come una nuova individualità biologica alla fusione dei due gameti, momento di rottura fra l’esistenza dei gameti e la formazione del nuovo individuo umano. Dalla formazione dello zigote si assiste ad un costante e graduale sviluppo dell’organismo umano che si evolverà nello spazio e nel tempo seguendo un preciso orientamento sotto il controllo del nuovo genoma diploide già attivo allo stadio pronucleare.*