

William Harvey e i cervi del re Carlo I



ritratto di William Harvey, con particolari di anatomia
(Incisione in rame di Houbraken,
Parigi: Biblioteca Nazionale)

Alla caccia dei cervi

Il medico e anatomista inglese **William Harvey** (1578-1657) divenne famoso per i suoi studi sul cuore e sulla circolazione del sangue. Ma, nel tempo in cui fu al servizio della corte reale, si interessò attivamente anche della riproduzione degli animali.

L'anno 1633, nella tenuta di caccia del re Carlo I, Harvey osservò il comportamento dei cervi durante la stagione degli accoppiamenti (da metà settembre) e, ad intervalli regolari, fino alla metà di novembre, sezionò gli uteri di alcune femmine uccise. Si aspettava di trovarvi una massa di sangue coagulato e in procinto di formare un feto per effetto del seme depositato dal maschio in calore. Tale massa avrebbe rappresentato il concepito, che Aristotele e molti dopo di lui ritenevano originasse dalla "materia sanguigna femminile" contenuta nell'utero per azione della "forza" del seme maschile.

Ma, con sua grande sorpresa, **Harvey non trovò nulla del genere**. Al re, ai suoi cacciatori e ai guardiani parve difficilmente credibile che l'accoppiamento dei cervi non fosse ancora avvenuto, e con esso il concepimento. In realtà non sapevano, come anche lo stesso Harvey, che, sebbene i cervi e i daini maschi inizino ad entrare in calore verso la metà di settembre, per le femmine l'estro – con la conseguente ovulazione – non comincia che circa un mese dopo. È naturale, quindi, che Harvey non riuscisse a trovare alcun segno dell'avvenuto concepimento né in settembre né all'inizio di ottobre. Di fatto egli non ne trovò fino a metà novembre, quando scoprì che l'embrione, prima dell'impianto nell'utero, assomiglia a una piccola massa viscosa allungata, chiaramente visibile a occhio nudo.

Concludendo le sue osservazioni, Harvey così scriveva:

«Il feto non deriva [...] dalla sostanza del sangue mestruale, come voleva Aristotele. Il concepimento non avviene infatti necessariamente subito dopo il coito. Perciò non è vero che un accoppiamento fecondo presuppone del materiale già pronto nell'utero, che il potere o la virtù del seme maschile, a modo di coagulante, mescolerebbe, coagulerebbe e plasmerebbe, o convoglierebbe di fatto alla generazione, o racchiuderebbe in membrane, dopo aver asciugato le superfici esterne. Per molti giorni, in effetti, nell'utero non si trova nulla.» (*Exercitationes de Generatione Animalium*, 1651)

Ex ovo omnia

A partire da precise osservazioni, Harvey riuscì così a correggere la visione aristotelica del concepimento come "coagulazione" o "plasmazione" del sangue materno ad opera dello sperma. Non riuscì tuttavia a dimostrare la presenza nel corpo femminile né dell'ovulo né degli spermatozoi, e neppure dell'embrione precoce: erano troppo piccoli per essere osservati dal pur attento occhio dello studioso, ed il microscopio inizierà ad essere disponibile solo alcuni decenni dopo la sua morte. Ma Harvey aveva intuito bene: l'ovulo è prodotto dalla femmina e, a seguito del rapporto sessuale con il maschio, è capace di svilupparsi e dare origine a tutte le strutture di un nuovo individuo: *Ex ovo omnia* (tutto [deriva] dall'uovo), come è riportato sul frontespizio della sua opera. L'uovo fertilizzato è il "primordium" – così lo chiama Harvey – di tutto l'organismo animale.

Il medico della corte di Carlo I non arrivò tuttavia a capire dove l'ovulo viene prodotto nel corpo femminile, ritenendo erroneamente che le ovaie «sono cose che non hanno nulla a che fare con la riproduzione». (ivi)



Pagina da un quaderno di appunti di William Harvey (Londra: British Museum)



I "Preformisti"

Quando si confonde la fantasia con la realtà



Teoria preformistica secondo l'indirizzo degli "animalculisti". Rappresentazione di uno spermatozoo contenente un homunculus rannicchiato. (da: Nikolaus Hartsoeker, 1694. Ridisegnato)

L'homunculus

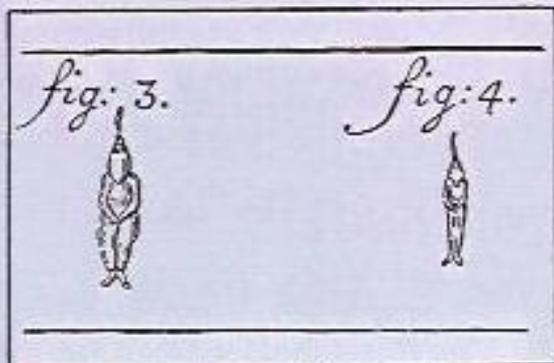
Nei secoli XVII e XVIII, alle attente osservazioni e misure di Leonardo da Vinci e alle sistematiche ricerche di Harvey, vi fu chi anziché attenersi preferì abbandonarsi al gioco della fantasia, confondendo il sogno con la realtà. Si diffuse in questo modo una concezione della riproduzione nota come "teoria della preformazione" o "preformismo". I suoi sostenitori – il primo dei quali fu il medico italiano Giuseppe degli Aromatari (1586-1660) – ritenevano che il feto fosse presente e "formato" nell'uovo ("ovisti") o nello spermatozoo ("animalculisti"), come un piccolo uomo – *homunculus* – già dotato delle varie parti del corpo, anche se non ancora tutte visibili perchè di dimensioni troppo piccole o in parte allo stato "liquido". Il processo di sviluppo del feto viene così ridotto alla graduale "solidificazione" di ciascuna parte e all'aumento del volume del corpo preformato.

"Ovisti" e "animalculisti"

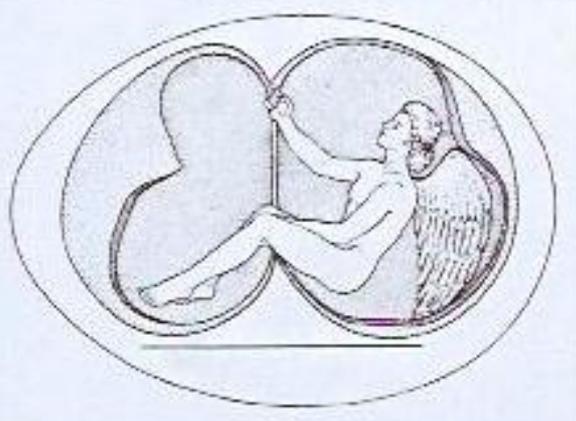
Il fisiologo svizzero Albrecht von Haller (1708-1777) e Charles Bonnet (1720-1793) furono tra i più famosi sostenitori dell'ovismo. Essi ritenevano che tutte le uova fossero state create contemporaneamente, all'inizio del mondo ("dottrina della preesistenza"), e fossero trasmesse dalle madri alle figlie. La generazione, secondo la loro interpretazione, consisterebbe in due processi: (1) Sotto l'influsso del seme maschile, il corpo della donna produce un "fermento eterico" che risveglia il feto in miniatura e dormiente contenuto nell'uovo e lo prepara per l'"espansione"; (2) A questo segue il processo di generazione vero e proprio, cioè la nutrizione e l'accrescimento del feto animato. Gli spermatozoi, osservati al microscopio da Anton van Leeuwenhoek nel 1677, non vennero dagli ovisti considerati un fattore della generazione, ma solo dei "parassiti" presenti in gran numero nello sperma. La capacità delle uova degli Afidi di attivarsi partenogeneticamente (senza il contributo del maschio), confermata dallo stesso Bonnet nel 1745, sembrava dare ragione agli ovisti. Ma questo modo atipico ed eccezionale di riproduzione non troverà riscontro in altre specie successivamente studiate.

Gli "animalculisti" sostenevano invece che il feto si trovasse già "formato" nello spermatozoo, chiamato allora "animalculo spermatico". L'uovo sarebbe servito soltanto per fornire il nutrimento necessario allo sviluppo dell'"homunculus". E vi sarà chi, come il francese François de Plantade (1670-1741), sosterrà di aver visto chiaramente al microscopio la figura di un "homunculus" dibattersi tra gli involucri membranosi dell'"animalculo spermatico".

L'osservazione non è qui usata come evidenza prima dei fattori della realtà, capace di suggerire alla ragione una interpretazione di essi che proceda induttivamente dalla considerazione di tutti i dati, ma solo come occasionale conferma di una teoria costruita dalla mente per misurare la realtà secondo un processo deduttivo e costringerla entro uno schema preconcoettuale. Il realismo scientifico ne esce così umiliato e sconfitto.

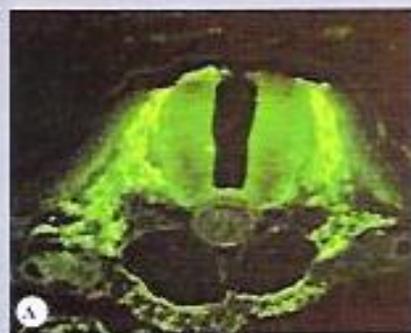


Gli homunculi che Dulcienpatius (pseudonimo di Monsieur de Plantade) avrebbe "visti" al microscopio. (Disegni di Anton van Leeuwenhoek, 1699)



Teoria preformistica secondo l'indirizzo degli "ovisti": il corpuzolo dell'individuo è racchiuso nell'uovo. (Originale in: A.B. Cook, 1925-26. Da: J. Neelhuus, 1959. Ridisegnato)

La *Theoria Generationis* Friedrich Wolff ed il ritorno del realismo scientifico



Migrazione delle cellule della cresta neurale dell'embrione di pollicino, come oggi possono essere osservate colorandole con anticorpi monoclonali marcati con sostanze fluorescenti. In verde appaiono le cellule della cresta neurale, che migrano attraverso le regioni anteriori dei somiti (A) ma non attraverso quelle posteriori (B).
(Fotografie di M. Bronner-Fraser)

Scritta quando aveva 26 anni, la tesi di dottorato dal titolo *Theoria Generationis* che il giovane medico tedesco Caspar Friedrich Wolff (1734-1794) difese all'Università di Halle nel 1759 inaugurò un mutamento di rotta decisivo nella storia dell'embriologia: dalla teoria della "pre-formazione" si farà ritorno a quella della "post-formazione" o epigenesi – già sostenuta da Aristotele e dagli studiosi medioevali –, ma secondo una concezione moderna che troverà nella teoria cellulare (XIX secolo) il suo fondamento e la sua possibilità di ulteriore sviluppo.

Il primato dell'osservazione

Contro i "preformisti", che lo accusavano di ritenere per esistente solo ciò che si riesce a vedere, l'argomento di ragione portato da Wolff fu il seguente. Anche quando non riusciamo ad osservare una determinata struttura dell'organismo ad un certo stadio dello sviluppo prenatale, noi possiamo però sempre notare la presenza di numerose piccole particelle, o "globuli" (*vesiculae*; corrispondono a quelli che noi oggi chiamiamo "cellule"), che sono le componenti più elementari di tutte le parti del corpo. Se, al contrario, la struttura stessa fosse già presente – "pre-formata", in miniatura – e richiedesse solo di aumentare di dimensioni per poter essere notata, non dovremmo poter vedere le sue parti costituenti prima che sia visibile la struttura completa. Poiché l'esperienza, nella quale la realtà si rende evidente, ci mostra ad ogni livello di osservazione del corpo dell'embrione un gran numero di finissime e discrete strutture, si deve concludere che la forma dell'organismo e le sue parti anatomiche non si trovano già presenti all'inizio dello sviluppo, ma emergono nel tempo attraverso un continuo, graduale e coordinato processo di architettura biogenetica, che chiamiamo epigenesi.

La morfogenesi del pulcino

Ma Wolff non si limitò a fornire una difesa teorica della correttezza della teoria epigenetica. Ne mostrò l'evidenza anche sperimentalmente, attraverso lo studio della morfogenesi dell'apparato gastrointestinale nell'embrione di pollo.

Si forma dapprima un canale a partire da una membrana piatta e indifferenziata, e questa depressione è l'inizio dello stomaco; il punto di divisione rappresenta invece il primordio dell'intestino medio o principale, e l'apertura inferiore diventa il precursore del colon. Poiché l'imboccatura dello stomaco rimane in questo momento aperta, l'embrione è aperto lungo l'intera superficie anteriore, ad eccezione della sua parte superiore, che si trova sopra la depressione dello stomaco. Questa parte si trasforma poi in un tubo, che appare chiuso all'estremità superiore ma rimane aperto in quella inferiore, confluenndo alla fine nello stomaco. [... Tale tubo] sembra essere il precursore dell'esofago. (*De Formatione Intestinorum*, 1768-'69)

Così un tenace e giovane studioso, Wolff, smentì con una serie di implacabili obiezioni sperimentali le speculazioni teoriche di un famoso e potente professore, Albrecht von Haller, che riteneva esservi già un piccolissimo pulcino preformato in ogni uovo. Ma l'aver osato tanto costò a Wolff l'isolamento e l'emarginazione dalla cultura scientifica dominante. Gli venne sempre negata dall'Università di Berlino la cattedra, costringendolo a dare solo lezioni private di anatomia e fisiologia agli studenti di medicina. Ma il suo nome resterà per sempre legato, nella storia dell'embriologia, al ritorno del realismo critico, nonché alla fondazione della moderna concezione morfogenetica.

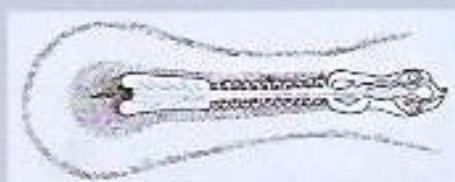
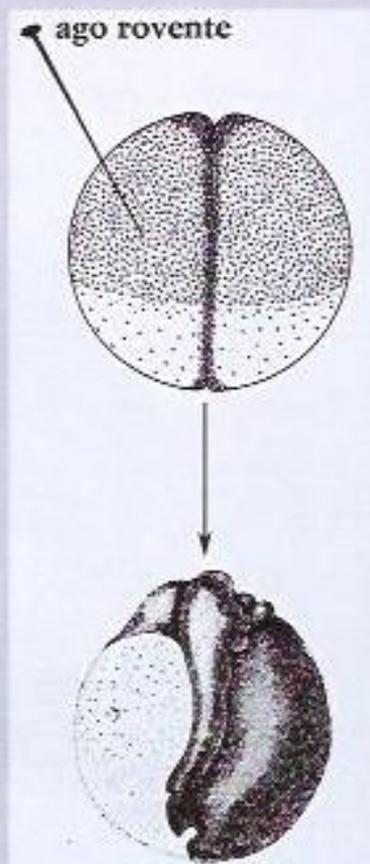


Tavola dall'opera *Theoria Generationis* (1759) di Friedrich Wolff, raffigurante l'embrione di pulcino dopo 36 ore di incubazione. Sono riconoscibili il cranio e gli abbozzi degli occhi (a destra) e la colonna vertebrale (al centro).

Alla fine del XIX secolo Rane, ricci di mare e nascita della embriologia sperimentale



“Mezzo embrione” ottenuto da Wilhelm Roux in seguito all'uccisione di una delle due prime cellule (blastomeri) prodotta dalla divisione cellulare (segmentazione) dell'uovo fertilizzato di rana. (ritrattato da: W. Roux, 1895)

Il sogno dei “preformisti” resiste

Le osservazioni di Friedrich Wolff non riuscirono a dirimere definitivamente la disputa tra i sostenitori della **preformazione** e quelli dell'**epigenesi**. Non si poteva infatti escludere – almeno in linea di principio – che gli organi e le parti del futuro feto fossero rappresentate nell'embrione proprio dalle piccole particelle (*vesicula*) notate da Wolff, nel caso queste fossero così diverse tra loro nelle proprietà da costituire ciascuna il precursore “in miniatura” di uno specifico tessuto o di un determinato organo. Anche se la trasformazione di queste finissime strutture negli organi era molto più complessa che non il semplice accrescimento considerato da i “preformisti”, essi **non si arresero facilmente** di fronte alla apparente omogeneità della struttura dell'embrione nei primi stadi del suo sviluppo, sospettando che ciò che era invisibile anche al microscopio potesse in realtà nascondersi a livello delle sostanze organiche di cui è composto l'organismo embrionale. Occorreva dunque un esperimento che rendesse evidente la natura **equivalente o equipotente** delle unità costitutive (cellule) dell'embrione.

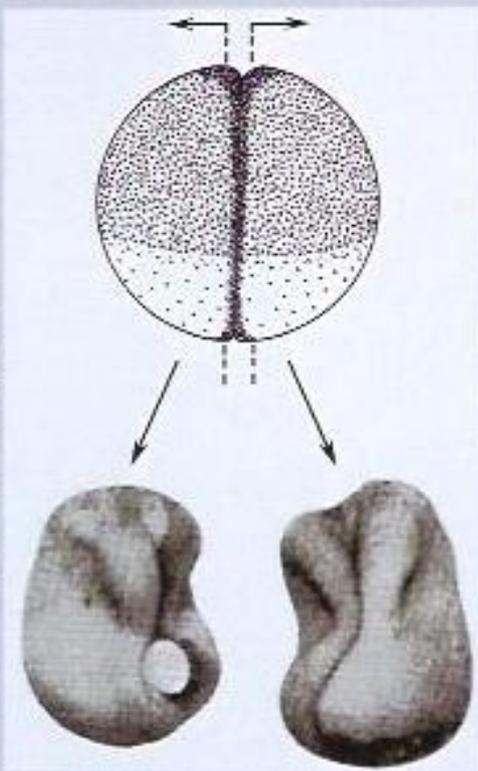
Alla ricerca di un esperimento decisivo

Il primo a tentare di realizzarlo fu **Wilhelm Roux** (1850-1924) nel 1888. Lo studioso tedesco, pioniere dell'embriologia sperimentale, uccise con un ago rovente **una delle due prime cellule** (blastomeri) formate dalla divisione dell'uovo fecondato di rana, e osservò che dalla rimanente cellula viva si sviluppava, almeno nei primi stadi, soltanto **mezzo embrione**. Il risultato sembrava dare ragione ai “preformisti”. In realtà la tecnica usata da Roux era **troppo rudimentale**: la cellula uccisa, non venendo allontanata, impediva con la sua presenza lo sviluppo normale dell'embrione, che veniva “costretto” in uno spazio troppo limitato (poco più della metà del volume della cellula uovo da cui origina).

... e arriva la clonazione

La questione venne definitivamente risolta con un'altra serie di esperimenti. Separando completamente le prime due cellule dell'embrione e lasciandole sviluppare individualmente si poteva osservare la formazione di **due embrioni interi e identici** (un originale esperimento di **clonazione per scissione embrionale!**), anche se di dimensioni un poco più ridotte del normale. Il primo ad ottenere questo risultato fu **Hans Driesch** (1867-1941) sul **riccio di mare** nel 1891. **Hans Spemann** (1869-1941), negli anni 1901-'03, ottenne gli stessi risultati con l'**embrione di tritone**. Infine, l'esperimento di Roux sulla rana venne ripetuto nel 1933 da **G. Schmidt**, il quale osservò che se una delle prime due cellule, anziché essere uccisa, veniva allontanata dall'altra, si formava da ognuna di esse un embrione completo.

Dalle ceneri del preformismo, ormai scomparso, era nata così l'**embriologia contemporanea**, non più solo **descrittiva** ma anche **sperimentale**, che – grazie anche all'apporto della genetica e della biologia molecolare – è arrivata, in poco più di cento anni, a porre le basi scientifiche per comprendere l'affascinante processo della formazione e dello sviluppo del nostro organismo in modo **realistico e ragionevole**.

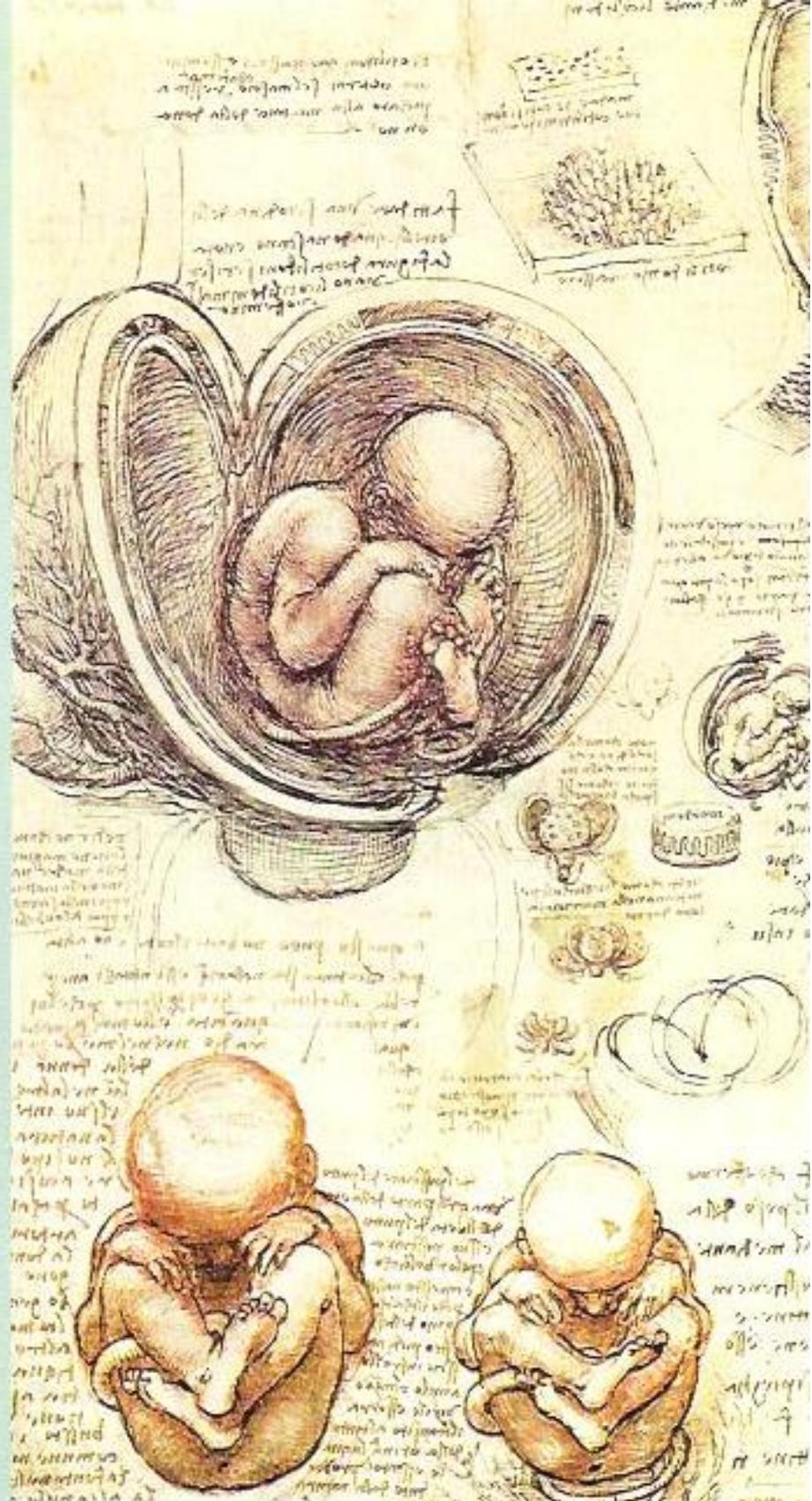


L'esperimento di G. Schmidt: separando le prime due cellule (blastomeri) dell'embrione di rana si sviluppano due embrioni completi e identici. (Da: G. Schmidt, 1933)

Le principali scoperte della moderna biologia e medicina della riproduzione e dello sviluppo

- 1672** *R. de Graaf* descrive i follicoli ovarici e documenta la presenza di piccoli corpi sferici (embrioni allo stadio di morula o blastocisti?) nelle tube e nell'utero di coniglio 3-4 giorni dopo l'accoppiamento.
- 1677** *Ham e van Leeuwenhoek* scoprono nel liquido seminale umano la presenza degli spermatozoi.
- 1768** *L. Spallanzani* pubblica i risultati dei suoi esperimenti sulla fecondazione in laboratorio di uova di rana per contatto con gli spermatozoi.
- 1780** *L. Spallanzani* insemmina artificialmente una femmina di cane.
- 1785** Il medico *J. Hunter* usa con successo la inseminazione artificiale per aiutare una donna ad avere un figlio.
- 1827** *K.E. von Baer* identifica e descrive per la prima volta l'ovulo nei mammiferi (*De ovi mammalium et homini genesis*).
- 1836** *A. Donne* documenta al microscopio la presenza di "animalculi" (spermatozoi) nel muco cervicale alcune ore dopo il coito.
- 1837** *T.W. Jones* illustra lo sviluppo precoce dell'embrione di mammifero, da lui recuperato dalle tube di una femmina di coniglio.
- 1838/1839** *Schleiden e Schwann* introducono in biologia la teoria cellulare: la cellula è l'unità fondamentale di struttura e funzione degli organismi viventi.
- 1858** *R.C. Virchow* afferma che la cellula è anche l'unità fondamentale della riproduzione degli organismi: *omnis cellula e cellula* [ogni cellula deriva da un'altra cellula].
- 1865** *G. Mendel* formula le leggi della ereditarietà dei caratteri: nasce la genetica moderna.
- 1841** *R.A. von Kölliken* sostiene la natura cellulare sia dell'ovulo che dello spermatozoo. Afferma inoltre che dalla loro fusione (fertilizzazione) ha origine la prima cellula di un nuovo organismo, che attraverso successive divisioni darà origine a tutte le cellule del corpo.
- 1866** Il medico inglese *L. Down* descrive il quadro clinico della sindrome congenita del "mongolismo" (sindrome di Down).
- 1869** *F. Miescher* isola dai nuclei delle cellule una sostanza, che egli chiama "nucleina" (oggi riconosciuta come DNA), della quale non conosce la funzione.
- 1883** *E. van Beneden* osserva negli Ascaridi (vermi nematodi) che, durante la fertilizzazione, con la fusione dei pronuclei maschile e femminile si ristabilisce il corredo cromosomico diploide (2n), e che esso permane identico in tutte le cellule figlie che si formeranno per mitosi e costituiranno il corpo del nuovo organismo.
- 1890** *T. Boveri* scopre nel riccio di mare che le uova e gli spermatozoi contengono lo stesso numero di cromosomi (corredo aploide, n).
- 1891** Esperimenti di *H. Driesch* sulla totipotenzialità delle prime cellule (blastomeri) dell'embrione di riccio di mare.
- 1892** Il medico scozzese *J.W. Ballantyne* pubblica il primo trattato sistematico di patologia fetale.
- 1902/1904** *Wilson, Sutton, Cannon e Boveri* propongono la teoria cromosomica della ereditarietà.
- 1894** *Mackenrodt* esegue il primo intervento riuscito di microchirurgia tubarica.
- 1908** *O. Warburg* scopre che il consumo di ossigeno della cellula uovo aumenta di 6-7 volte dopo l'avvenuta fertilizzazione.
- 1909** *Crowe, Cushing e Homans* riconoscono che la oogenesi nella donna e la spermatogenesi nell'uomo sono sotto il controllo ormonale della ipofisi anteriore.
- 1918** *T. Boveri* giunge alla conclusione che i geni controllano tutte le proprietà di sviluppo dell'embrione, inclusi i processi di differenziazione e morfogenesi: nasce la genetica dello sviluppo.
- 1921** *Spemann e Mangold* introducono in embriologia il concetto di "organizzatore".
- 1927** *Zondek e Ascheim* scoprono le gonadotropine, gli ormoni che controllano la spermatogenesi ed il ciclo ovarico.
- 1943** *Avery, MacLeod e McCarthy* identificano nel DNA il materiale genetico.
- 1953** *Watson e Crick* descrivono la struttura molecolare a doppia elica del DNA e ipotizzano un meccanismo per la sua replicazione.
- 1954** *B. Westin* introduce nella pratica ostetrica la fetoscopia.
- 1958** *Donald, MacVicar e Brown* introducono nella pratica medica l'ecografia come tecnica di diagnosi per immagini.
- 1959** *Lejeune, Gautier e Turpin* scoprono che i nuclei delle cellule dei bambini affetti da sindrome di Down contengono un cromosoma 21 in più rispetto ai bambini normali (trisomia 21).
- 1978** Nasce in Inghilterra *Louise Brown*, la prima bambina concepita attraverso fertilizzazione *in vitro*.
- 1997** Dopo 277 tentativi di nucleo-transfer e 29 di trasferimento in utero, compiuti da *I. Wilmut* e i suoi collaboratori, nasce in Scozia *Dolly*, la prima pecora generata senza fertilizzazione, attraverso un procedimento di clonazione per trapianto di nucleo da cellule somatiche del mammifero adulto.

**IL VOLTO UMANO
DELL' EMBRION**
Quando è iniziata la vita vi

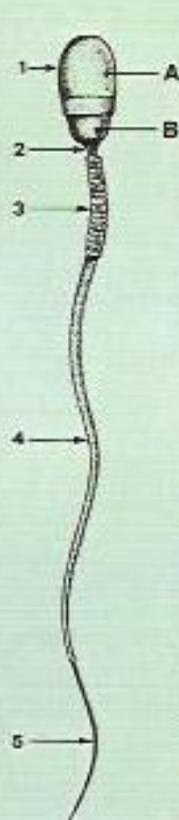


SEZIONE SCIENTIFICA



Che cosa c'è prima?

Il gamete maschile e femminile: due cellule proprio speciali



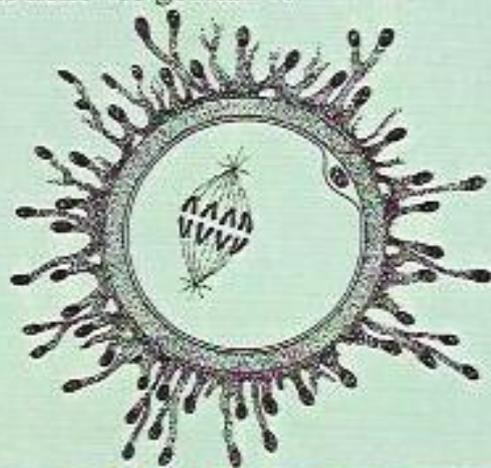
A sinistra:
(La struttura dello spermatozoo umano:
1, testa; 2, collo; 3, tratto intermedio
(con guaina mitocondriale); 4, parte
principale; 5, parte terminale; A, acrosoma;
B, regione postacrosomiale della testa.
(Da: Fawcett, ridisegnato).

A destra:
(Spermatozoi umani osservati con il microscopio
elettronico a scansione.
(da: G. Orlandini)

I "protagonisti" del processo della fecondazione sono due: il gamete maturo di tipo femminile (**cellula uovo o ovocita**) e di tipo maschile (**spermatozoo**). Ognuno di essi viene prodotto dalle **linee cellulari germinali** delle gonadi (ovaio e testicolo) attraverso un complesso processo, la **gametogenesi**. Sotto l'aspetto del genoma, la gametogenesi comporta la **riduzione da 46 a 23 del numero dei cromosomi**, attraverso due successive divisioni nucleari (**meiosi I e II**), così che ogni gamete porta in sé solo **la metà del patrimonio genetico** delle cellule umane (stato **aploide**).

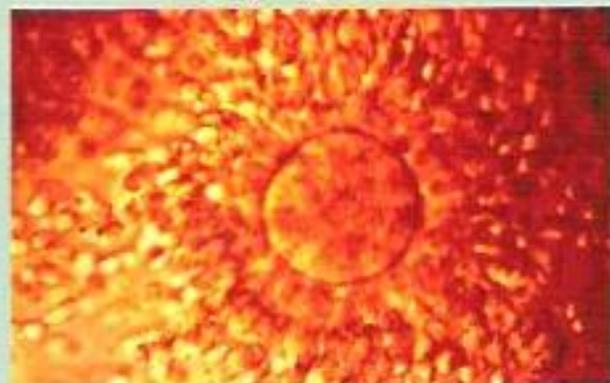
Lo **spermatozoo** racchiude nella sua "testa", sopra il nucleo aploide, una vescicola, detta **acrosoma**, che aprendosi in più punti (**reazione acrosomiale**) è capace di liberare il suo contenuto di enzimi in grado di **creare un varco tra le barriere protettive** (corona radiata, cumulo ooforo, e soprattutto la **zona pellucida**) della **cellula uovo**. Si tratta di una autentica "esplosione" biochimica: il **detonatore della "bomba"** diverrà funzionale – in grado di innescare la reazione acrosomiale al contatto con la corona radiata – solo attraverso il processo di **capacitazione**, che avviene dopo il coito, lungo il tragitto degli spermatozoi nelle vie genitali femminili.

L'**ovocita** è la più grossa cellula dell'organismo umano (**diametro: ca. 0.16 mm**), che **ha accumulato** nel proprio citoplasma – durante il lungo processo di oogenesi – **grosse quantità di ribosomi, mRNA, tRNA, proteine, glicogeno e lipidi**, che utilizzerà alla eventuale ripresa di una intensa attività metabolica, con l'attivazione dovuta alla fertilizzazione. All'esterno della membrana plasmatica (**oolemma**) l'ovocita è rivestito di uno spesso strato di glicoproteine, la **zona pellucida**, e circondato dalle **cellule follicolari**. A differenza dello spermatozoo, all'ovulazione **non ha ancora completato la seconda parte della divisione riduzionale** dei propri cromosomi (**meiosi II**), che restano "**bloccati**" in **metafase II** fino al momento dell'eventuale fusione con il gamete maschile.



Ovocita maturo, circondato dalle cellule del cumulo ooforo e della corona radiata. La seconda divisione meiotica dei cromosomi è arrestata in metafase II, e si nota (Disegno in alto) la presenza del globulo polare, originato dalla prima divisione meiotica.

(Disegno da: P. Rosati et al., modificato;
Fotografia da: R. Palermo et al.)



Da dove iniziamo

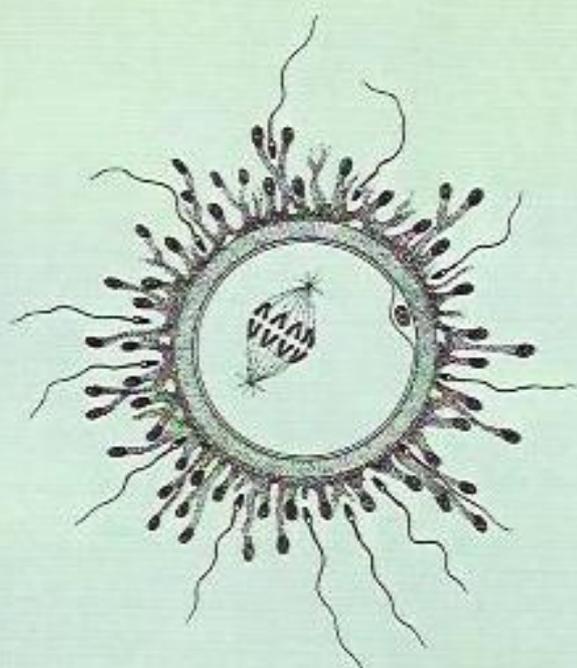
In principio, ovvero la fecondazione

Un torneo con la finale a due

Numerose decine di milioni di spermatozoi vengono normalmente deposti con il coito. Ma solo alcune centinaia di essi riescono a raggiungere il luogo fisiologico della fecondazione – la porzione ampollare delle tube – dove li attende, se è avvenuta l'ovulazione, il gamete femminile: è la cellula uovo, ancora circondata dalle più piccole cellule follicolari della granulosa che ne costituiscono il cumulo ooforo, il quale, espandendosi e frastagliandosi, dà origine alla corona radiata.

Inizia così un "torneo": gli spermatozoi ingaggiano una sfida a chi riuscirà a superare le barriere biochimiche di rivestimento e di protezione dell'ovocita (corona radiata e zona pellucida).

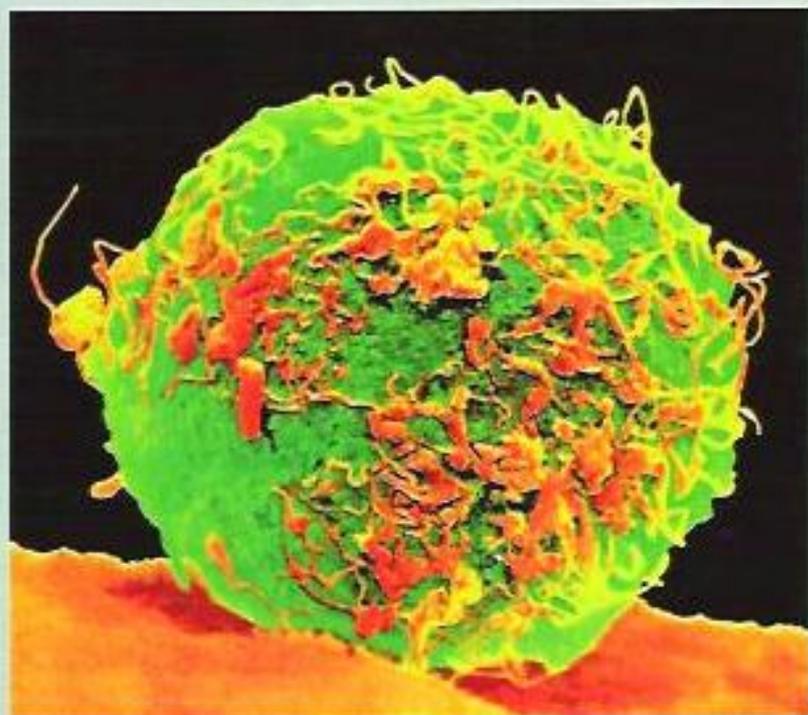
L'ultima partita sarà giocata tra la cellula uovo e i pochissimi spermatozoi (solitamente non più di 1-3) che sono riusciti a penetrare nello spazio perivitellino, a diretto contatto con la membrana cellulare (oolemma). Uno solo di essi avrà normalmente accesso al citoplasma, fondendo la propria membrana con quella dell'ovocita.



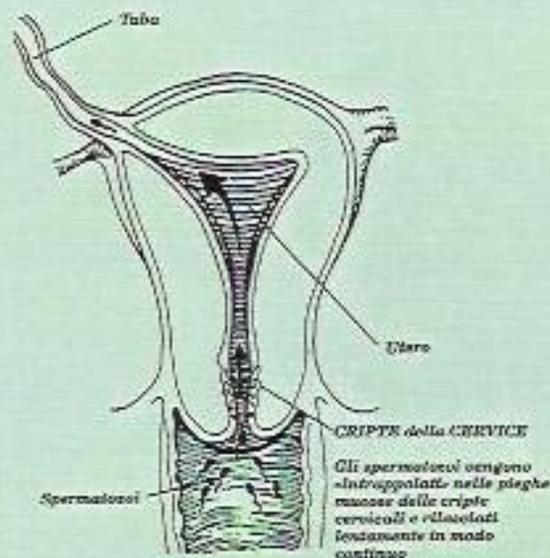
Incontro tra l'ovocita maturo (dopo l'ovulazione) e gli spermatozoi, che tentano di attraversare la corona radiata. (Da: P. Rozati et al.)

Una severa selezione

Gli spermatozoi in competizione per la fecondazione hanno già subito una "selezione naturale" molto severa lungo il tragitto dalla cervice all'ampolla tubarica: oltre 20 cm costellati di non pochi ostacoli e nemici, che mettono a dura prova la loro capacità di movimento e di resistenza. Tra di essi vi è il viscoso muco cervicale, che tende a trattenerli e a rilasciarli lentamente, e si trovano



Ovocita umano "assediato" da numerosi spermatozoi che competono per fertilizzarlo. (Da: Le scienze, quaderni 1998)



i granulociti neutrofili prodotti dalla parete dell'utero, che li fagocitano distruggendone circa il 90%. Gli spermatozoi "sopravvissuti", che riusciranno ad imboccare l'ostio uterino della tuba e a penetrare nell'istmo, dovranno poi "nuotare" controcorrente lungo il condotto della tuba ... Solo i migliori arriveranno – entro alcune ore o anche dopo 1-3 giorni – ad incontrare il gamete femminile!

A sinistra: il percorso degli spermatozoi nei canali dell'apparato genitale femminile

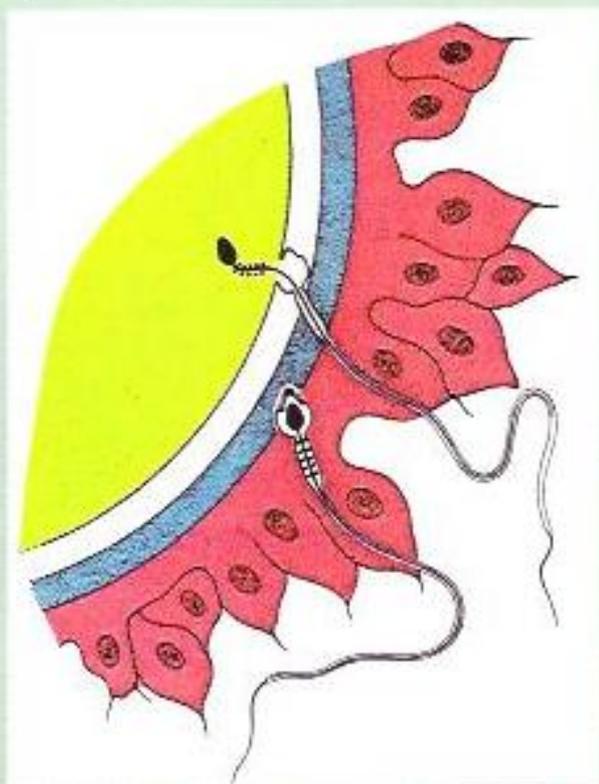


Da dove iniziamo

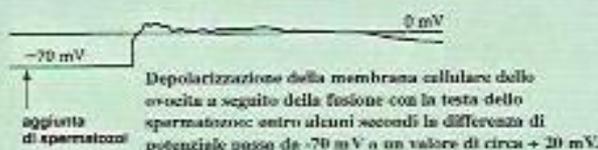
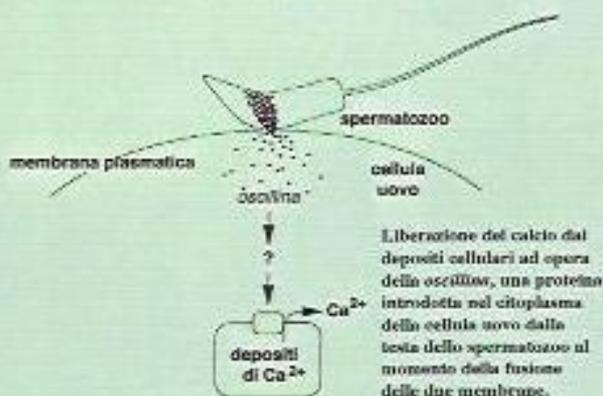
In principio, ovvero la fecondazione

L'ultima partita: il "calcio" d'inizio

Penetrato nella stretta regione circolare (spazio perivitellino) che separa la zona pellucida dalla cellula uovo, lo spermatozoo sarà ora in grado di fondere la propria membrana plasmatica con quella dell'ovocita. Il nucleo dello spermatozoo, contenuto nella testa, può così essere incorporato nel citoplasma della cellula uovo, insieme con le strutture interne della sua coda. Si è così realizzata la "fusione" tra le due cellule: l'evento fondamentale della fecondazione.



Lo spermatozoo che è arrivato nello spazio perivitellino entra nella cellula uovo: le due membrane cellulari si fondono e il gamete maschile entra "nudo" all'interno del citoplasma dell'ovocita. (Da: P. Rozati et al.)



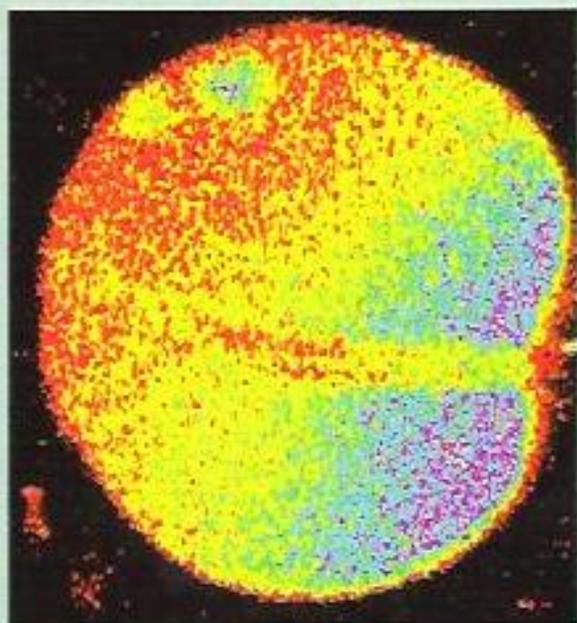
La fusione dei gameti innesca una serie di processi, alcuni tra i quali rapidissimi (impiegano solo pochi secondi per avvenire), che portano al costituirsi di una cellula nuova – la prima dell'organismo – chiamata zigote.

Le attività metaboliche subiscono un deciso risveglio, e la separazione dei cromosomi del nucleo dell'ovocita (divisione meiotica II) riprende, giungendo a compimento. Si forma così, finalmente, il patrimonio aploide (23 cromosomi) del gamete femminile: solo con la fecondazione si completa, dal punto di vista genetico, la oogenesi!

L'ovocita fertilizzato attua poi il cosiddetto "blocco della polispermia", che impedisce ad altri spermatozoi di penetrare in esso. Il "blocco" viene realizzato sia mediante una rapida depolarizzazione della membrana plasmatica (da -70 a +20 mV ca.) che attraverso la reazione corticale e zonale che provvede a rendere la zona pellucida refrattaria alla penetrazione spermatica.

L'avvio dei processi di attivazione dell'ovocita fertilizzato è scatenato da un rapidissimo e massiccio aumento della concentrazione intracellulare di ioni calcio [Ca²⁺], fatti liberare,

a ondate successive dai loro depositi, da una proteina (chiamata oscillina). L'oscillina, introdotta nella cellula uovo dalla testa dello spermatozoo all'inizio della fusione dei gameti, è così chiamata per il caratteristico andamento oscillatorio da essa impresso alla concentrazione intracellulare del calcio.

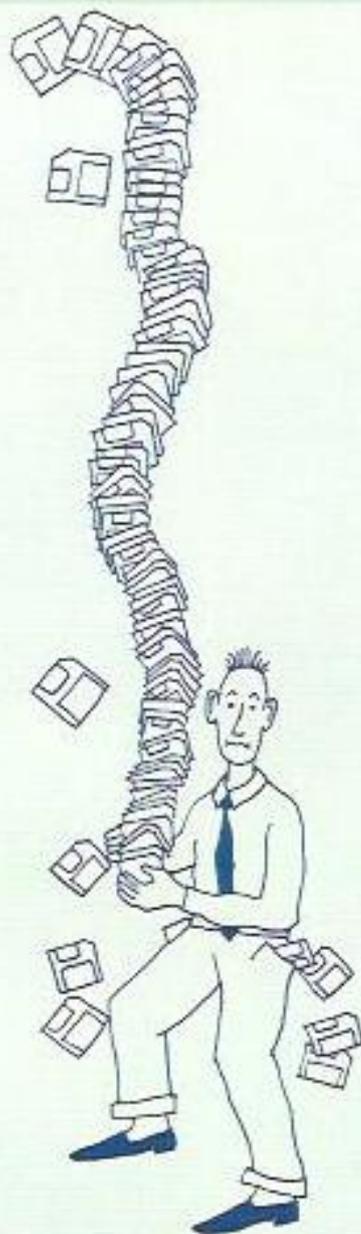


Improvvisa "esplosione" della concentrazione citoplasmatica del calcio provocata dall'introduzione di uno spermatozoo nella cellula uovo (tecnica ICSI) di habbuino. Immagine ottenuta con un legante che produce fluorescenza in presenza di ioni calcio.

Da dove iniziamo

In principio, ovvero la fecondazione

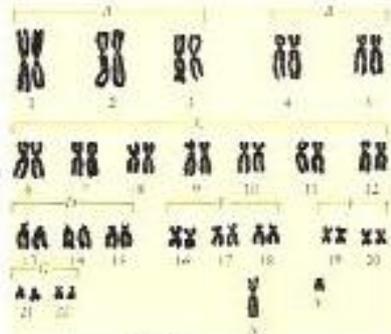
Il nuovo genoma: un bel patrimonio per tutta la vita



molecola di DNA



cromosoma



cariotipo umano (maschile)



sequenza delle basi nelle molecole di DNA del genoma umano

Circa 6-10 ore dopo la fusione tra lo spermatozoo e l'ovocita è possibile osservare la presenza, all'interno della cellula uovo fertilizzata, di **due pronuclei** – quello **femminile** e quello **maschile** – che contengono il **materiale genetico (DNA)** fornito rispettivamente dalla madre e dal padre dell'embrione (23 cromosomi: stato aploide). Nelle ore successive i due pronuclei si avvicinano, trainati dal sistema di "funi" che attraversa tutta la cellula (microtubuli), e, giunti a stretto contatto, le membrane si rompono ed il loro **contenuto si fonde**: si costituisce così, all'interno della sua prima cellula, il **patrimonio genetico completo** (46 cromosomi: stato diploide) **del nuovo organismo**, che verrà trasmesso a tutte le cellule del corpo umano e rimarrà inalterato (ad eccezione di eventuali mutazioni in qualche molecola di DNA) **per tutta la durata della vita**.

La **quantità di informazione** contenuta nelle 22 coppie di cromosomi omologhi (autosomi) e nella coppia di cromosomi sessuali (XX, femmina; XY, maschio) è **enorme**, e servirà a **guidare e controllare l'intero processo di sviluppo** dell'embrione e del feto e a **determinare in larga misura i caratteri biogenetici** del nuovo organismo.

Quando i genetisti, attraverso il **Progetto Genoma Umano** – che dovrebbe completarsi **entro l'anno 2005** –, arriveranno a conoscere l'intera **sequenza delle basi** (sono ca. **3 miliardi**: eredità aploide materna o paterna) ordinate nelle molecole del DNA del nostro genoma, per **stampare** tale sequenza utilizzando una lettera per ogni base (A, T, C e G, rispettivamente per Adenina, Timina, Citosina e Guanina) occorreranno **1200000 pagine da 2500 caratteri l'una**. Se si utilizzerà un supporto elettronico (dischi per *computer*), sarà necessario disporre di **almeno 3100 Megabytes** di memoria (ca. **2153 dischetti da 1.44 Megabytes**) per salvare la sequenza in *files* scritti, ad esempio con il *software* applicativo *Word 6*.



Ex ovo omnia

La divisione dello zigote



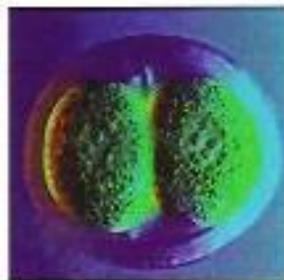
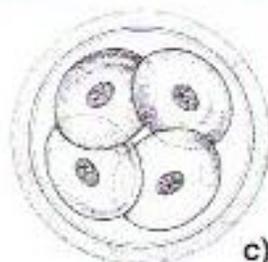
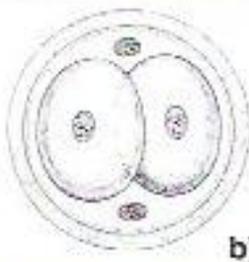
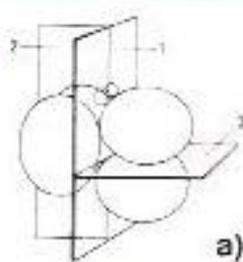
Frontespizio dell'opera *De Generatione Animalium* (1651) di *Guilielmus Harveus* (William Harvey), raffigurante Zeus che tiene tra le mani un uovo con la scritta: *Ex ovo omnia* (tutto [deriva] dall'uovo). La cellula uovo fertilizzata è il primordium di ogni nuovo organismo a riproduzione sessuata.

Aveva intuito bene, tre secoli e mezzo fa, William Harvey: *Ex ovo omnia* (Tutto [deriva] dall'uovo). Naturalmente dall'**uovo fertilizzato**, ovvero dalla **nuova cellula** che si costituisce con la fecondazione. Questa cellula è lo **zigote**, e da essa avranno origine, per successive divisioni cellulari (**mitosi**), tutti i circa **100000 miliardi di cellule** che compongono il corpo adulto di un uomo o di una donna.

Nell'uomo e nei mammiferi, a differenza di altri animali, la **fusione del materiale dei due pronuclei**, maschile e femminile, **non dà** luogo alla formazione di **un solo nucleo diploide** (la cosiddetta **singamia**). L'ultimo stadio della fertilizzazione, la **dissoluzione dei due pronuclei**, nella nostra specie coincide infatti con la **prima fase dell'inizio dello sviluppo** del nuovo organismo: **condensazione del materiale nucleare** (comparsa dei cromosomi) e **formazione del fuso mitotico** della prima divisione cellulare. **I cromosomi materni e paterni** ormai mescolati, che avevano già duplicato il loro DNA allo stadio pronucleare, **si dispongono ora nella regione equatoriale del fuso**, pronti per essere equamente ripartiti tra le due nuove cellule, che si divideranno tra loro anche il citoplasma dello zigote (ca. **30 ore** dopo l'inizio della fecondazione). **Non vi è soluzione di continuità tra la fecondazione e l'inizio dello sviluppo dell'organismo umano.**

Dopo circa 12 ore avviene una **seconda divisione cellulare**: i fusi mitotici che danno origine ad essa si dispon-

gono, in ciascuna delle due cellule, ad angolo retto rispetto ai fusi della prima divisione: **l'embrione mostra di conoscere già molto bene, nel proprio sviluppo, la geometria**. Può anche accadere che una delle due cellule si divida un po' di tempo prima dell'altra: si può così osservare in qualche caso un **embrione a tre cellule**.



(a) Sopra: La rotazione dei piani delle successive segmentazioni dello zigote, che generano le prime cellule dell'embrione secondo una precisa geometria. Sotto: Microfotografia elettronica a scansione, che mostra la posizione e l'adesione delle cellule (blastomeri) nell'embrione durante la fase di segmentazione (la freccia indica il globulo polare).
(b) Embrione a due cellule.
(c) Embrione a quattro cellule, che si stanno dividendo ulteriormente.



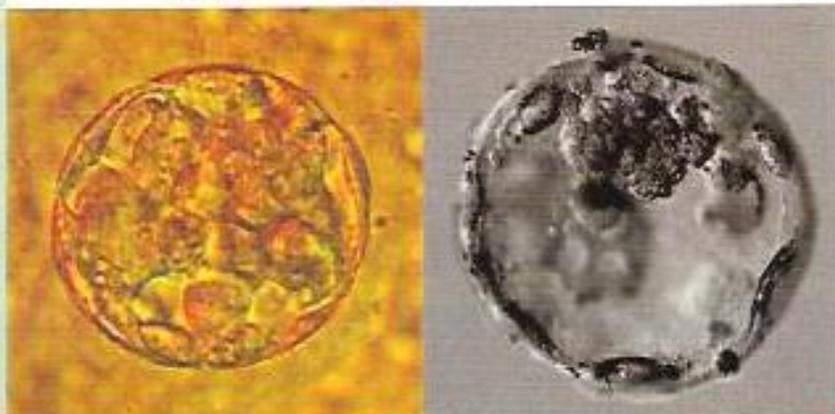
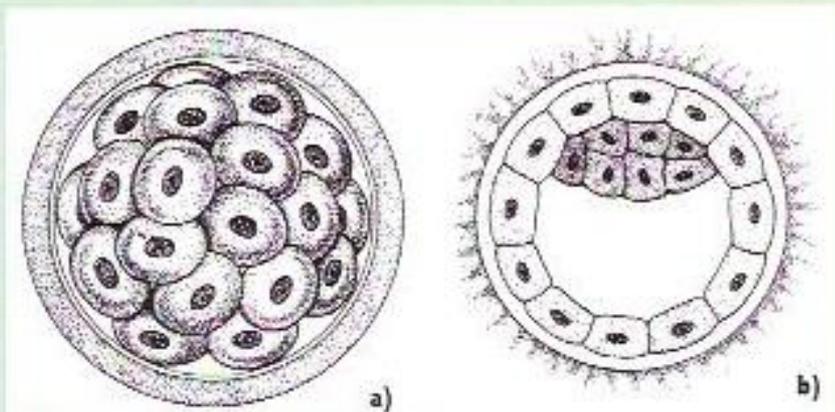
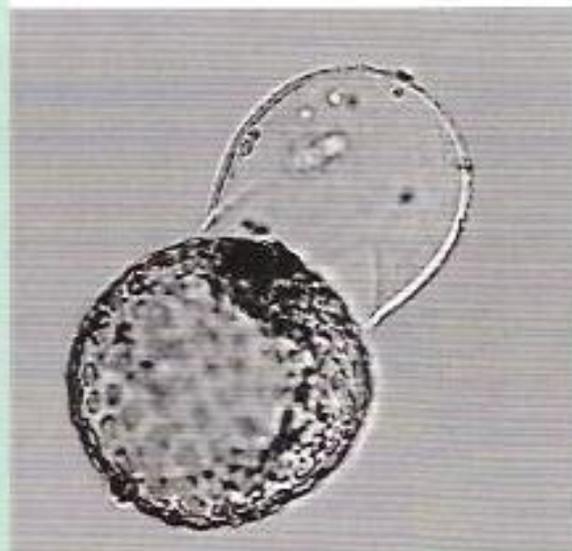
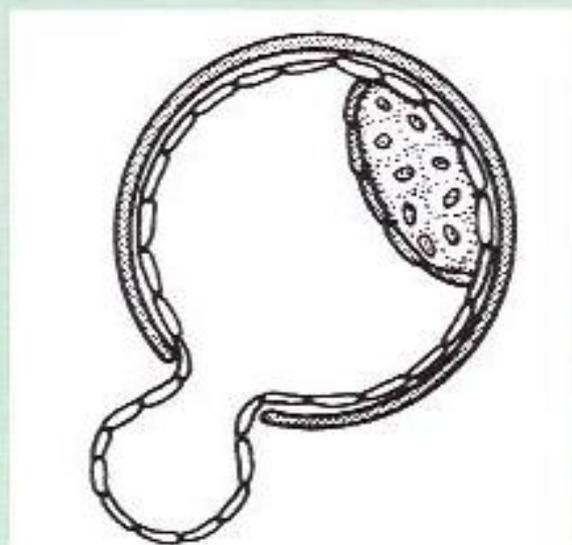
L'embrione e il suo spazio

Dallo zigote alla blastocisti

La formazione della blastocisti

L'embrione a 8 cellule, nel passaggio a 16 cellule, inizia un processo detto di "compattazione": le cellule (blastomeri) si schiacciano le une sulle altre formando una **massa cellulare compatta**, che massimizza i contatti tra una cellula e le circostanti. L'embrione tende ad assumere ora la **forma di una mora** e viene perciò chiamato **morula**.

La morula continua ad aumentare esponenzialmente il numero delle sue cellule, mantenendo però sempre costante il diametro (ca. 0.12 mm) delimitato dalla presenza della zona pellucida (ca. 0.025 mm di spessore), e quando è ormai costituita da un centinaio di blastomeri



(a) Embrione umano allo stadio di morula, con inizio di cavitazione (4° giorno).
(b) Embrione umano allo stadio di blastocisti espansa (5° giorno).

inizia a formare – per accumulo di fluido all'interno della massa cellulare – una **cavità**, detta **blastocoel**, che si espande progressivamente. La fase di "cavitazione" si conclude con la formazione della **blastocisti**, quando l'embrione ha ca. 180 cellule.

Le **cellule della blastocisti** si distribuiscono in un sottile strato esterno (**trofoblasto**) e in un piccolo gruppo accollato all'interno di un polo del trofoblasto (**massa cellulare interna**).

La blastocisti lascia il suo "guscio"

Prima di impiantarsi nell'endometrio dell'utero materno – verso il termine del 5° giorno dalla fecondazione – la **blastocisti matura** (completamente espansa) "rompe", attraverso l'azione di enzimi litici, lo strato di glicoproteine della zona pellucida che ancora la circonda e **abbandona il suo involucro protettivo** che aveva sinora rivestito l'embrione. Tale fenomeno, chiamato "**hatching**", è indispensabile perchè possano avvenire l'apposizione e l'adesione all'endometrio (6°-7° giorno), che daranno inizio al **processo di impianto**.

Processo di hatching: blastocisti umana matura che esce dalla zona pellucida (fine del 5° giorno).

La prima settimana

Il lungo viaggio dell'embrione

L'embrione – il cui **diametro è di ca. 0.15 mm** – intraprende sin dallo stadio unicellulare (zigote) il proprio **viaggio** verso l'utero **attraverso un condotto**, quello della **tuba** (o **salpinge**), che si restringe progressivamente fino ad avere un lume non più grande di 0.5-1 mm.

Il **trasporto** dell'embrione è assicurato dal **movimento del fluido** presente nelle tube, che viene fatto scorrere dall'azione combinata del **battito delle ciglia delle cellule epiteliali** ("effetto remata") e della **contrazione della muscolatura delle pareti tubariche** ("effetto peristaltico"). Durante la "navigazione" lungo la corrente (velocità di spostamento: ca. **1.5 mm/h**), l'embrione sopravvive grazie alle proprie riserve energetiche e alle sostanze presenti nel fluido che perfonde le tube.

Durante il viaggio dall'ampolla tubarica all'utero, l'embrione realizza in soli 4-5 giorni delle **trasformazioni spettacolari**, passando dallo **stato unicellulare a quello multicellulare** (raddoppiando, in media, il proprio numero di cellule ogni **12-15 ore**) ed infine a quello di **blastocisti**. A questo stadio di sviluppo l'embrione umano – costituito da ca. **180 cellule** – si trova già all'ingresso della cavità uterina e, dopo aver abbandonato il suo rivestimento protettivo (zona pellucida), inizierà il contatto con la parete interna dell'utero (**endometrio**), dove **inizierà ad impiantarsi** a partire dal **6°-7° giorno**.



L'**impianto** è un processo fisiologico che ha come protagonista l'embrione stesso. Con l'adesione all'endometrio alcune tra le sue cellule, quelle del sinciziotrofoblasto, **penetrano gradualmente all'interno della parete uterina**, venendo così a diretto contatto con le cellule materne sottostanti. In questo modo l'embrione si incista progressivamente nella mucosa uterina, circondandosi dei capillari dei vasi sanguigni materni. Nella stesso sito dove è avvenuto l'impianto si formerà progressivamente la **placenta**, un "disco" formato da **una parte fetale** (placca coriale) e da **una parte materna** (decidua basale). La placenta è un organo che – attraverso i vasi del cordone ombelicale – consentirà la **nutrizione e la respirazione del feto**.