SOCIETÀ E ISTITUZIONI

PROBLEMI DELLA RACCOLTA E TRATTAMENTO DEL LIQUIDO SEMINALE UMANO PER FINALITÀ DIAGNOSTICHE

Comitato nazionale per la Bioetica

PRESIDENZA DEL CONSIGLIO DEI MINISTRI
DIPARTIMENTO PER L'INFORMAZIONE E L'EDITORIA

SOMMARIO

Presentazione 5

Parere e conclusioni del Comitato Nazionale per la Bioetica 7

Problemi della raccolta e trattamento del liquido seminale umano per finalità diagnostiche: relazione tecnico-scientifica 11

Modalità di raccolta del liquido seminale: considerazioni etiche 11

Trattamento del seme ai fini di accertarne la capacità fecondante 12

Aspetti tecnici 13

Metodiche correnti di valutazione del seme 13

Attuali possibilità di valutazione della funzionalità spermatica 14

Nota I 16

Parere della Commissione Santuososso 16

Parere della relazione di minoranza 17

Glossario 21

Bibliografia 23

PRESENTAZIONE

Il Comitato Nazionale per la Bioetica, nell'affrontare la vasta serie di problemi riguardanti la fertilità e la procreazione umana, nell'ambito del mandato ricevuto con il decreto istitutivo del 28.03.1990, ha ritenuto opportuno esaminare gli aspetti bioetici, finora poco o affatto considerati, inerenti alla raccolta ed al trattamento del liquido seminale umano per finalità diagnostiche e terapeutiche relative alla persona.

Potrebbe sembrare, a taluno, non pertinente o irrilevante attribuire aspetti etici al trattamento della cellula germinale maschile in quanto elemento cellulare in sé; cosi come non se ne pongono — al di là di considerazioni clinico-deontologiche — per il trattamento per esempio delle cellule ematiche destinate a scopi trasfusionali.

A tale obiezione si può rispondere con l'ovvia considerazione che la cellula germinale matura riveste nell'ambito organico una funzione unica e particolare, e cioè quella di un sistema biologico differenziato portatore non solo di metà del corredo cromosomico caratteristico dell'individuo ma anche della potenzialità di dare origine, unendosi al gamete femminile, ad un nuovo essere. Pertanto, ogni procedimento volto comunque a modificare — anche in senso migliorativo — le caratteristiche fisiche e/o funzionali di tale cellula deve essere considerato alla luce di questa proprietà, che assume — fra l'altro — particolare rilevanza etica quando con il procedimento posto in atto e pur con finalità rigorosamente diagnostiche si avvii un processo di fecondazione non destinato a concludersi con il pieno sviluppo del nuovo individuo.

Va rilevato, inoltre, che le modalità di raccolta e di prelievo della cellula germinale maschile, a differenza del prelivo di qualsiasi altra cellula dell'organismo, possono comportare problemi morali del tutto particolari.

Infine, non si può tacere che anche il sospetto di una infertilità dovuta ad anomalie del proprio seme può causare, nella persona, uno stato di sofferenza — oltre che di limitazione oggettiva alla pienezza delle funzioni organiche. Di questa situazione è necessario farsi carico attraverso gli opportuni accertamenti diagnostici, atti ad escludere o confermare la condizione invalidante e a predisporre — ove possibili — le adeguate terapie.

Rinviando ad altro documento ogni considerazione di carattere etico riguardante la conservazione del seme ai fini di una utilizzazione più stretta-

mente terapeutica, il Comitato ha ritenuto opportuno pronunciarsi, al momento, sulle questioni sopra accennate, a finalità più direttamente diagnostiche.

Sull'argomento, una prima bozza è stata presentata nella riunione del II Gruppo, costituito in seno al Comitato per l'esame dei problemi della cosiddetta «Procreatica», in data 14.12.1990 ed è stata discussa con gli interventi dei Professori Carenza, D'Agostino, Flamigni, Lecaldano, Merli, Sgreccia e del Presidente Prof. Bompiani. Una seconda bozza, integrata con i suggerimenti emersi dalla prima discussione e dai documenti presentati dai Professori Cattorini, Flamigni e Sgreccia, è stata esaminata nella seduta collegiale del 15.2. 1991 e su di essa sono intervenuti, con proposte di integrazioni e modifiche, i Professori Bompiani, Cittadini, D'Agostino, De Carli e Terragni.

Sulla base di queste successive elaborazioni, si è pervenuti ad una stesura che, integrata dalle note dei Professori De Carli e Rossi Sciumè, è stata discussa nella seduta plenaria del 25.3. 1991. Successivamente, alla luce anche dei contributi scritti dei Professori Fiori, Flamigni e Romano, e di una nuova discussione plenaria in data 29.4. 1991, il Comitato è pervenuto alla stesura finale del documento, approvato in tale data all'unanimità, dando mandato al Presidente di trasmetterlo alla Presidenza del Consiglio dei Ministri.

Roma, 5 maggio 1991

Il Presidente
A. Bompiani

PARERE
SULLA RACCOLTA E TRATTAMENTO DEL LIQUIDO SEMINALE UMANO A FINI DIAGNOSTICI E TERAPEUTICI INERENTI ALLA PERSONA

Il problema della infecondità: un quadro complesso

Nell'ambito dei Paesi più sviluppati si registra una generale caduta dei livelli di fecondità: in quasi tutti gli stati dell'Europa si è ormai al di sotto dei limiti che assicurano il ricambio generazionale.

L'incremento della infecondità — che secondo l'accezione dei demografi è da intendersi, più in generale, come l'assenza di figli e non solo come incapacità di generarli, secondo l'accezione clinica — è costante a partire dalle generazioni femminili nate dalla metà degli anni '40 (F. Prioux, La fecondité par rang de naissance dans les générations; in «Population», 4-5, 1988).

Se a livello demografico è inevitabile assumere come indice di riferimento il comportamento riproduttivo femminile, tuttavia non si deve ritenere che il fenomeno dell'infecondità sia legato unicamente a questo fattore: esso in realtà sottende anche numerosi casi di sterilità, a sua volta classificata — secondo la corretta diagnosi clinica — in maschile, femminile e mista.

Si tratta indubbiamente, in ogni caso che si presenta al clinico, di una situazione esistenziale che non solo presenta forti implicazioni di carattere personale ma che comporta profondi coinvolgimenti di natura emotivo-relazionale tra i due componenti la coppia, quali non si verificano probabilmente per nessun altro problema clinico.

In tale contesto, notevole rilievo assume il problema della «sterilità maschile». Questo aspetto, infatti, è stato nel passato misconosciuto scientificamente o rifiutato culturalmente, coperto spesso dall'erronea identificazione della virilità con la fertilità. Negli ultimi decenni il miglioramento socio-culturale della popolazione, le migliorate tecniche diagnostiche in andrologia, la reale maggiore incidenza dei fattori lesivi della funzione riproduttiva maschile hanno portato il problema della sterilità maschile alla ribalta clinica con rilievo ed impatto crescenti, tanto che oggi quasi il 40% delle infertilità di coppia si ritiene debba attribuirsi ad un fattore maschile.

Si assiste inoltre ad un altro fenomeno, purtroppo di frequenza crescente. Il trattamento clinico del paziente che risulta portatore ad un sommario esame di oligo-dispermia viene «saltato» con l'ammettere direttamente la componente femminile della coppia (arricchendo eventualmente «in vitro» il seme del partner oligo-dispermico) ai procedimenti di fecondazione assistita (F.A.), prima ed indipendentemente dall'aver esperito i necessari procedimenti diagnostico-terapeutici volti a migliorare la spermatogenesi «in vivo», cioè nel paziente.

In questo senso la F.A. non rappresenta la cura della sterilità maschile, come comunemente affermato, ma eventualmente la «cura» della sterilità di coppia (e non si affronta qui la questione se la sterilità di coppia possa definirsi «malattia»), mentre il vero stato patologico di base, cioè la dispermia, rimane non trattata.

I programmi di ricerca sulla fisiopatologia del seme, ed anche le pratiche suddette, hanno comunque prodotto lo sviluppo di una nuova disciplina tecnica, che potremmo definire di «seminologia in vitro», che presenta aspetti bioetici non privi di rilievo sia in termini di riflessione generale che deontologica.

Di questi tratterà più analiticamente la relazione allegata al presente parere.

Conclusioni

Il Comitato Nazionale per la Bioetica (CNB), ritenendo opportuno occuparsi dei problemi inerenti al trattamento, conservazione ed utilizzazione del seme ai fini della inseminazione artificiale in vivo ed in vitro in separata sede, presenta le proprie considerazioni riguardo a due particolari aspetti della seminologia e cioè:

1) le modalità di raccolta del liquido seminale (L.S.);

2) le modalità del trattamento del seme ai fini di accettarne le proprietà fecondanti (diagnostica seminologica).

Il CNB riconosce l'importanza e l'attualità dei problemi bioetici posti dai procedimenti di raccolta e trattamento del liquido seminale umano ai fini clinici, quali emergono dal continuo progredire delle conoscenze di base e delle applicazioni tecnologiche.

A prescindere dal giudizio che sarà dato in merito ai processi di fecondazione artificiale (F.A.), cui è subordinato il giudizio di liceità di alcune delle tecniche seminologiche, il CNB propone le seguenti conclusioni:

1) *Raccolta del seme*

Consapevole del fatto che la raccolta del liquido seminale per masturbazione può comportare — per una parte dei medici e dei pazienti interes-

sati — problemi e perplessità di ordine psicologico e di morale personale,oltre che religiosi, il CNB ritiene che:

a) esista di fatto una estraneità dell'operatore sanitario in merito al problema morale della raccolta del seme;

b) tuttavia deve essere in ogni caso strettamente salvaguardato, nel rapporto medico-paziente, il pieno rispetto delle convinzioni religiose e culturali e della dignità personale del paziente in merito alla raccolta del seme;

c) deve essere altresì garantita al paziente la piena informazione su eventuali metodiche alternative scientificamente valide e alle quali egli deve comunque dare il proprio consenso.

2) *Trattamento del seme*

a) Il CNB giudica obbligatori gli *accertamenti preliminari* volti, in base allo stato attuale delle conoscenze, oltre che ad accertare al meglio la qualità del seme, ad escludere la presenza di agenti comunque nocivi (batteri, virus). Subordinatamente alla vigente e futura legislazione nazionale in materia, è opportuno lo screening per virus causali di AIDS.

b) Per quanto riguarda le prove *per accertare «in vitro» la capacità fecondante del seme*, il CNB giudica etico e raccomandabile sottoporre un liquido seminale alle prove più idonee ai fini di assegnargli, allo stato delle conoscenze, il più esatto «indice» possibile di fecondabilità, evitando in caso di indici insufficienti di intraprendere procedimenti costosi, talora clinicamente rischiosi e spesso psicologicamente frustranti senza una ragionevole possibilità di successo.

Nell'ambito delle prove eseguibili, la fecondazione in vitro di ovociti umani da parte di spermatozoi a puro scopo diagnostico e cioè non destinando il prodotto di tale fecondazione al successivo trasferimento in utero (oggetto quest'ultimo di altro previsto parere del CNB), appare eticamente non accettabile per chi ritiene che un nuovo individuo umano abbia inizio non appena lo spermatozoo e l'ovocita interagiscono.

Opinioni diverse manifesta chi ritiene che la formazione di tale individuo abbia luogo in momenti più avanzati. Si tratta comunque di test non compiutamente predittivi che potranno essere sostituiti da altri gruppi di prove.

Per quanto attiene invece i cosiddetti tests di ibridizzazione, il CNB ribadisce la non eticità dei procedimenti di «fecondazione» interspecie, presenti o futuri e sottolinea l'opportunità che l'Hamster test, come prova di «funzionalità» spermatica, possa essere sostituito da test più completi e predittivi.

D'altra parte, da altri il test è considerato un tentativo avanzato per ottenere informazioni utili sulle capacità fecondanti del seme umano.

Considera la possibilità che procedimenti di «*fusione cellulare*» possano essere eseguiti, sotto controllo eventualmente di un apposito Comitato,

negli studi di mutagenesi e di consulenza genetica. Deve essere comunque garantita la interruzione dell'esperimento prima della singamia (o qualora sia accertato che la fertilizzazione non è biologicamente possibile) sia per gli studi riguardanti la capacità fecondante del seme umano che per quelli relativi alla consulenza genetica.

3) Il CNB ritiene che debba essere comunque salvaguardata la libertà del medico di rifiutare per motivi personali l'esecuzione di alcune metodiche relative all'esame spermatico che ritiene in contrasto con la propria coscienza.

4) Il CNB raccomanda infine l'istituzione di Comitati Nazionali permanenti per la definizione e l'aggiornamento di *criteri-guida* per i protocolli diagnostici, l'esecuzione delle prove funzionali e le eventuali sperimentazioni sul gamete maschile; nonché la definizione di strutture nazionali e/o regionali di riferimento e controllo per assicurare idonei standards diagnostici nei problemi seminologici.

RELAZIONE TECNICO - SCIENTIFICA

Modalità di raccolta del liquido seminale: considerazioni etiche

Per quanto attiene questo aspetto, il problema si ricollega a divergenti valutazioni che da molti anni sono state formulate in ordine alla liceità morale di questo tipo del tutto peculiare di prelievo di un liquido organico: da un lato affermandosene la irrilevanza etica — dall'altro lato sostenendosi la incompatibilità di talune modalità di prelievo con principi di etica religiosa o anche con una parte dell'etica laica.

In proposito il Comitato Nazionale per la bioetica, preso atto del perdurare di queste non univoche posizioni, ritiene tuttavia di poter affermare:

a) che soggettivamente la raccolta del liquido seminale (L.S.) per masturbazione può comportare, sia nel medico che nel paziente, problemi e perplessità di ordine morale personale anche non esclusivamente religiosi;

b) che esiste di fatto una estraneità dell'operatore sanitario in merito al problema della raccolta del seme;

c) che deve essere tuttavia strettamente salvaguardato, nel rapporto deontologico medico paziente, il pieno rispetto delle convinzioni religiose e culturali e della dignità personale del paziente;

d) che deve essere altresì garantita al paziente stesso la piena informazione su eventuali metodiche alternative scientificamente valide e purché non lesive della integralità fisica dell'individuo, che ad esse deve comunque dare il proprio consenso;

e) che deve essere comunque salvaguardata la libertà del medico di rifiutare per motivazioni personali l'esecuzione di alcune prove — relative all'esame spermatico — che ritiene in contrasto con la propria coscienza.

Nell'ambito di queste considerazioni, si colloca un aspetto di grande rilievo: quello della proposizione di *metodi alternativi* di raccolta del seme, che potrebbero consentire di risolvere la questione morale *purché scientificamente validi* — in caso contrario non sarebbero «etici» — e tali da salvaguardare la dignità della persona.

È opinione comune tra i seminologi che la maggior parte dei procedimenti alternativi noti di raccolta del L.S. (raccolta in condom perforato, postcoitale, da spremitura prostatica o uretrale, perfino da puntura epidimaria a scopo diagnostico) non permettono di ottenere un seme idoneo sul piano diagnostico e/o procreativo perché alterato dal contatto con sostanze estranee o modificato nella sua composizione. Si tratterebbe quindi di metodi scientificamente non validi e pertanto non «etici» di per sé, indipendentemente dal giudizio morale; per quanto anche la stessa masturbazione, quasi sempre gravata da dificoltà di ordine psicologico indipendentemente dai convincimenti religiosi del soggetto, può non dare esito ad un liquido seminale perfettamente «fisiologico». Molti individui inoltre, proprio per difficoltà di ordine psicologico e culturale, si rifiutano di produrre il L.S. nell'ambiente sanitario; ed il trasporto da ambiente esterno del campione può, come noto, alterarne profondamente le caratteristiche.

Appare quindi di grande importanza teorica e pratica la «acquisizione» di metodiche alternative valide.

Ultimamente (1989) è stato proposto un metodo alternativo di raccolta mediante un sistema in «silastic» (un particolare tipo di materiale plastico): il seme raccolto risulterebbe, allo studio comparativo, di qualità migliore di quello ottenuto per ipsazione.

Sono stati messi a punto e usati in diversi Centri appositi dispositivi in grado di ottenere l'eiaculazione, senza stimolazione erotica. Una volta validata, mediante studi comparativi in corso, la qualità scientifica di questi metodi, cioè la corrispondenza «fisiologica» del L.S., questi si propongono indubbiamente come metodi idonei per superare obiezioni religiose, personali e culturali alla raccolta per masturbazione.

Trattamento del seme ai fini di accertarne la capacità fecondante

La moderna ricerca di base e l'affinamento tecnologico consentono oggi di accertare preventivamente, anche se teoricamente e non compiutamente, il potenziale fecondante degli spermatozoi e la loro idoneità funzionale.

È certamente non etico sottoporre una coppia ad un procedimento di F.A. senza le massime garanzie possibile di riuscita, tra cui fondamentale appunto l'accertamento del potenziale teorico di fertilità (P.T.F.) del seme; mentre, d'altra parte, possono essere non etiche alcune delle metodiche atte ad accertare tale potenziale.

Si riportano in sintesi gli aspetti tecnici del problema sui quali verrà esposta la valutazione etica.

Aspetti tecnici

Premessa

Si ricorderà brevissimamente come lo spermatozoo umano, per essere «fecondo», cioè in grado di giungere a fondere il proprio patrimonio cromosomico con quello del gamete femminile, deve: *a*) acquisire, durante il processo di formazione all'interno del testicolo e di maturazione all'interno dell'epididimo, alcune caratteristiche strutturali e funzionali particolari (maturazione morfologica, patrimonio enzimatico, proteine specifiche, motilità); *b*) sottostare, dopo eiaculato, a diversi processi che lo rendono idoneo a raggiungere e penetrare la cellula-ovo. Il primo di questi è la «capacitazione», che si realizza grazie ai secreti delle ghiandole seminali maschili accessorie (plasma seminale) e delle vie genitali femminili.

In seguito a tale processo, che comporta modificazioni biochimiche e strutturali, lo spermatozoo raggiunge la cellula-ovo dando inizio alla «reazione acrosomiale». Grazie a questa, mediante l'intervento di recettori specifici e mediante la liberazione di enzimi litici, lo spermatozoo si lega per la parte apicale alla membrana esterna dell'ovocita e la attraversa per unirsi al pronucleo femminile.

Ovviamente, questo, descritto in termini di estrema sintesi, è un processo di grandissima complessità che nell'uomo si conosce solo parzialmente data la ovvia necessità di rifarsi a modelli animali o in vitro. È stato ed è tuttavia possibile documentarne alcune tappe fondamentali.

Metodiche correnti di valutazione del seme

Ad oggi, nella pratica clinica corrente e nella stragrande maggioranza dei casi, un L.S. che debba essere utilizzato per scopi clinici viene sottoposto ad alcuni accertamenti preliminari che possono grosso modo così riassumersi:

a) valutazione dei parametri «classici» (concentrazione, morfologia, motilità) eventualmente con metodiche computerizzate;

b) esclusione di fattori negativi (immunologici, infettivi e tra questi, particolare importanza assumeranno i testi per virus, causali dell'AIDS);

c) valutazione teorica del potenziale di fertilita' mediante test di «separazione» degli spermatozoi «validi» (mobili), eventualmente integrata da altri tests (di penetrazione in muco umano o bovino, in uova di Hamster, post-coital test, ecc.);

d) preparazione, mediante varie metodiche di una sospensione di spermatozoi mobili e parzialmente «capacitati», particolari test di funzionalità spermatica (v. lettera *b*) del successivo paragrafo.

Il punto debole dell'intero procedimento è il punto c) in quanto nessuno dei tests usati è in grado di accertare in maniera singola e definitiva la completa capacità fecondante dello spermatozoo e inoltre non vengono pre-

se in considerazione alterazioni intrinseche dello spermatozoo che ne possano impedire a priori l'unione col gamete femminile.

È d'altronde verosimile che la elevata percentuale di insuccessi nei procedimenti di F.A. sia dovuta proprio a difetti intrinseci dello spermatozoo non rivelati dai comuni test di funzionalità, che possono quindi risultare falsamente positivi. Ciò suggerisce l'ipotesi che in ogni eiaculato esistano varie sub-popolazioni di spermatozoi e che probabilmente una sola di queste sia in grado di fecondare.

Per esempio è stato dimostrato che: *a*) gli spermatozoi mobili non necessariamente possiedono membrane integre; *b*) gravi alterazioni morfologiche possono consentire una normale motilità; *c*) è possibile distinguere subpopolazioni spermatiche sulla base dei recettori di superficie e delle caratteristiche antigeniche. È quindi eticamente imperativo, per il clinico andrologo che si appresti a preparare un seme per un procedimento di F.A., accertare al meglio l'integrità della cellula spermatica e le intrinseche capacità fecondanti. È infatti non etico impiegare spermatozoi morfologicamente e/o funzionalmente alterati.

Attuali possibilità di valutazione della funzionalità spermatica

Ad oggi la moderna ricerca di base consente di valutare i seguenti indici e funzioni:

A) *Tests di integrità spermatica.* Studiano l'integrità dello spermatozoo «in partenza»:

– Potenziale di perossidasi lipidica di membrana (LPO); indice dell'equilibrio biomolecolare dei componenti lipidici della membrana spermatozoaria.

– Isoenzima C4 della lattico-deidrogenasi (LDH-X), un cui elevato livello indica alterazioni ultrastrutturali della membrana plasmatica.

– Concentrazione spermatica di ATP.

– Livello di acrosina, enzima proteolitico di fondamentale importanza nella reazione acrosomiale.

– Radicali liberi, espressione della integrità spermatozoaria.

– Swelling test (test del rigonfiamento).

– Radicali liberi dell'O2.

– Carnitina intraspermatica.

B) *Tests di funzionalita' spermatica.* Studiano lo spermatozoo dopo le fisiologiche modificazioni dell'acrosoma dal momento dell'eiaculazione all'incontro con l'ovocita:

– Tests di colorazione che valutano la resistenza della cromatina spermatica alla denaturazione.

– Studio della motilità attivata (acquisita in corso di capacitazione).

– Tests che valutano la capacitazione e la reazione acrosomiale (colorazione tripla, agglutinazione con lecitine vegetali, studio della membrana spermatica mediante antisieri fluorescenti e anticorpi monoclonali diretti contro l'acrosoma, test di decondensazione cromatinica, ecc.).

– Tests di penetrazione o migrazione:
  – nel muco cervicale umano;
  – nel muco bovino;
  – in gel di poliacrilamide;
  – in ovociti di Hamster;
  – in ovociti umani.

La microscopia elettronica, a trasmissione o a scansione, offre ineguagliabili opportunità di studio dell'intima struttura dello spermatozoo, sia in condizioni di base che in corso di capacitazione e reazione acrosomiale. Non è ancora, tuttavia, una metodica di uso corrente nella pratica clinica.

È peraltro oggi possibile, mediante il facile impiego di anticorpi fluorescenti, valutare la presenza e la integrità di componenti proteiche essenziali dello spermatozoo, quali la dineina, la tubulina, l'actina, la ialuronidasi e la già citata acrosina.

Si tratta delle prove che riguardano l'interazione spermatozoo-ovocita, la penetrazione e la fertilizzazione in vitro (IVF).

Per quanto riguarda la interazione con ovociti umani, il procedimento appare a taluni eticamente inaccettabile in quanto un nuovo individuo umano inizia il suo sviluppo non appena lo spermatozoo e l'ovocita interagiscono.

Immediatamente dopo la penetrazione nell'ovocita, e come conseguenza di ciò, prende avvio una serie di eventi biochimici e di modificazioni genetiche, in cui i due sistemi (ovocita e spermatozoo) non operano più indipendentemente, ma come un nuovo sistema biologico individuale che inizia il suo ciclo vitale da quel momento.

Opinioni diverse manifesta chi ritiene che la formazione dell'individuo umano vada collocata in momenti piu' avanzati.

Per quanto riguarda invece i tests di ibridazione con ovociti di animali (e soprattutto di Hamster, che è il più utilizzato), si offrono le considerazioni seguenti.

Sul piano clinico, tale prova si è dimostrata correlare statisticamente con la percentuale di fertilità di procedimenti di F.A., con i risultati del post-coital test, con la penetrazione nel muco cervicale in vitro, e con il trasporto degli spermatozoi nella cavità peritoneale in vivo.

Sul piano concettuale, peraltro, il significato effettivo di tale test è limitato dal fatto che, ad esempio, non valuta la capacità dello spermatozoo ad attraversare il muco cervicale e, soprattutto, non esprime l'efficacia e la

possibilità del legame dello spermatozoo alla zona pellucida ed il suo attraversamento. È stato inoltre dimostrato che spermatozoi umani ipomobili, incapaci di interagire con la zona pellucida umana, riescono invece a fecondare gli ovociti zona-free di Hamster.

Sul piano pratico infine, l'attendibilità del test è subordinata a numerosi fattori difficilmente standardizzabili, quali il periodo di astinenza sessuale, il tempo di contatto tra spermatozoi e plasma seminale dopo l'eiaculazione, il terreno di coltura, la tripsinizzazione per la rimozione della zona pellucida, il tempo di incubazione ecc.; tutti fattori in grado di dare falsi positivi o di più falsi negativi, come dimostra la variabilità dei risultati ottenuti su vari campioni dello stesso eiaculato.

A fronte quindi di riserve di ordine tecnico e concettuale, tra cui quella principale è di non essere comunque un test predittivo definitivo nel singolo caso, si pongono considerazioni di ordine bioetico. Appare in ogni caso utile considerare questi aspetti, anche se il test di ibridizzazione — proprio per le citate limitazioni diagnostiche — è sempre meno utilizzato nella pratica clinica e potrà essere sostituito in futuro da metodiche più valide.

D'altra parte, da altri autori il test è considerato un tentativo avanzato per ottenere informazioni utili sulle capacità fecondanti del seme umano.

Al momento attuale, inoltre, esso è tuttora l'unico sistema praticabile per lo studio della costituzione cromosomica degli spermatozoi umani.

In questo senso, il test di penetrazione in ovociti di Hamster trova applicazione anche nella consulenza genetica e negli studi di mutagenesi.

È infatti possibile, mettendo a contatto spermatozoi umani, capacitati, con ovociti di Hamster, privati della zona pellucida, evidenziare l'aspetto cromosomico umano (Rudak, 1978). Questo tipo di analisi consente di determinare il rischio effettivo di trasmissione alla prole di anomalie cromosomiche in portatori di traslocazioni bilanciate, di valutare il danno cromosomico indotto da mutageni in individui esposti a contaminanti ambientali, di controllare la frequenza di aberrazioni cromosomiche in pazienti cancerosi sottoposti a radioterapia (Martin, 1985; Martin e Rademaker, 1990; Mikamo, 1990).

Sulla eticità dei test di ibridizzazione esistono, al momento, diverse prese di posizione. La Commissione Santosuosso (1986) esprimeva parere negativo; parere difforme era espresso, nella stessa Commissione, da una relazione di minoranza.

Ambedue questi pareri si riportano nella nota n. 1.

Nota n. 1

Parere della Commissione Santosuosso

«Anzitutto, un principio etico di tutta evidenza e di fondamentale importanza, che non può essere pretermesso, è che il gamete umano — per

l'inconfondibile valore di cui è portatore — non può lecitamente fecondare o essere fecondato da un gamete di una specie animale. Esso, infatti, per la sua appartenenza ad una persona, ha un fine da raggiungere in modo adeguato alla sua specie, e non può essere utilizzato per finalità che stravolgono ed offendono la dignità e la natura stessa della persona umana.

Questo abisso invalicabile non puo' essere superato solo perchè si sappia che l'embrione ottenuto dall'incontro di gameti umani e animali non riuscirà a svilupparsi, oppure perchè se ne disponga la distruzione ad un certo grado di sviluppo, come suggerisce il Rapporto Warnock.

A prescindere dalla ventilata possibilità che il gamete umano possa fecondare, oltre che l'ovulo del criceto, anche quello del gibbone (animale cioè molto più vicino alla specie umana), un'autorizzazione alla fecondazione interspecifica, benchè limitata e teoricamente controllata, potrebbe facilmente essere suscettibile di progressivi allargamenti e irrimediabili violazioni.

Nè può sostenersi che simili esperimenti di fecondazione interspecifica siano l'unica tecnica possibile per accertare la sterilità umana, fornendo invece la scienza e la tecnica, al livello di progresso cui sono pervenute o possono pervenire, altri sistemi altrettando efficaci.

Una importante distinzione era però necessaria (.....) precisandosi che non sono comprese nel termine di fecondazione interspecifica tutte quelle tecniche, attuali e future, usate a fini diagnostici che, pur determinando un certo incontro cellulare tra gameti umani e cellule di diversa origine, non realizzano tuttavia la fusione dei rispettivi patrimoni genetici, ne' portano alla formazione di uno zigote.

I principi emanati dal Consiglio d'Europa (1989) fanno specifico riferimento (Principio 21) al divieto di fertilizzazione tra specie differenti, in armonia con le Raccomandazioni dell'Assemblea Parlamentare 1046 (1986) e del CAHBI».

Parere della relazione di minoranza

«Per le ragioni qui sotto esposte noi riteniamo che gli esperimenti di fecondazione interspecifica debbano essere consentiti.

Normalmente gli spermatozoi di una specie non possono fecondare gli ovociti di un'altra specie. Gli ovociti di criceto dorato (opportunamente trattati) costituiscono una vistosa eccezione a questa regola, in quanto si lasciano penetrare dagli spermatozoi di un'ampia gamma di altre specie, incluso l'uomo. (Diremo per inciso che questi ovociti sono gli unici — ovviamente oltre gli ovociti umani — che gli spermatozoi riescano a penetrare). Questa non comune proprietà degli ovociti di criceto viene sfruttata in numerosissimi laboratori clinici e di ricerca nel mondo (Italia inclusa) per studiare alcuni aspetti della fertilità maschile umana, soprattutto nei casi di sterilità

di coppia sine causa. Un campo in cui questa tecnica sta dando risultati di fondamentale importanza, non altrimenti ottenibili con metodiche diverse, è lo studio della costituzione cromosomica degli spermatozoi umani. I cromosomi si trovano nella testa dello spermatozoo addensati in una masserella compatta, e si rendono visibili soltanto dopo la fecondazione (di ovociti umani o di criceto).

Questa tecnica ha fornito negli ultimi 2-3 anni nuove importanti informazioni sul patrimonio cromosomico degli spermatozoi umani e sulle sue anomalie. Un prevedibile e importante campo di applicazione di questa tecnica sarà il monitoraggio diretto del possibile danno cromosomico indotto nelle cellule germinali da radiazioni o composti chimici mutageni in lavoratori professionalmente esposti, oppure da farmaci antitumorali. Voglio di nuovo sottolineare che non esiste oggi nessun altro metodo di indagine in grado di rilevare in modo diretto e quantitativo questo tipo di danni alle cellule germinali. Il vietare per legge questo tipo di studi per il timore che nelle mani di qualche scienziato di pochi scrupoli possa produrre delle ibride creature semiumane sarebbe un grave errore. Infatti questo timore non è fondato: l'uovo di criceto fecondato da uno spermatozoo umano solo in rarissimi casi riesce a compiere una (e una solo) divisione cellulare, e poi il suo sviluppo si arresta. Il legislatore potrebbe comunque cautelarsi da tale rischio proibendo che tali ibidi siano fatti sviluppare oltre lo stadio a due cellule.

Diverso può essere l'attegiamento qualora non di vera «ibridizzazione» si parli ma di semplice «fusione».

Infatti nell'esecuzione del saggio il processo di fusione cellulare viene arrestato con un bloccante della mitosi nella fase di eterocariosi quando i due pronuclei sono ancora separati. È anche da notare che la presenza di due corredi cromosomici aploidi non omologhi rappresenta un ostacolo insormontabile per lo sviluppo di una struttura multicellulare organizzata, ancorché abnorme.

Da un punto di vista etico la procedura in se non sembra porre particolari problemi in quanto priva di rischio biologico e riducibile ad una induzione mitotica dello spermatozoo per fusione cellulare e quindi non omologabile ad una ibridizzazione interspecifica uomo-animale. La tecnica non appare inoltre suscettibile di abusi o di applicazioni improprie, considerate le sue finalità strettamente diagnostiche.

Sotto questo particolare punto di vista (cioè trattasi di un procedimento che comunque non può dare avvio alla formazione di un organismo, sia pure abnorme) potrebbe forse superarsi l'obiezione concettuale di chi considera iniziato il processo di formazione dell'individuo fin dal momento della penetrazione dello spermatozoo nell'ovocellula. Questo presupposto etico si basa sul fatto che dal momento dell'incontro delle due cellule ha inizio una catena di eventi unici finalizzati alla formazione di un nuovo organismo.

Ciò non appare sussistere nella fattispecie, ove questi eventi non possono comunque verificarsi e pertanto non di fecondazione si tratta ma appunto di «fusione».

Il CAHBI ammette la possibilità di eseguire tale test diagnostico in condizioni di stretto controllo (arresto dello sviluppo allo stadio bicellulare), mentre nel Regno unito (1990) è vietata la fecondazione interspecie ma permesso, a seguito di licenza, il mescolamento («mixing») di gameti umani con gameti di altre specie animali».

GLOSSARIO

Acrosoma: porzione distale della testa dello spermatozoo, destinata ad entrare in contatto con l'ovocellula.
Contiene gli enzimi acrosomiali.

Aploidia: costituzione cromosomica derivante dalla meiosi (v.) e comportante la metà dei cromosomi della cellula progenitrice (22 nella specie umana) più un cromosoma X o Y.

Capacitazione: insieme di modificazioni che si verificano a carico della membrana plasmatica dello spermatozoo nelle vie genitali femminili e che consentono la reazione acrosomiale (v).

Cromosoma: filamento di DNA (acido nucleico) sul quale sono allineati i geni.

Cromosomi sessuali: portatori dei caratteri distintivi del sesso. Sono il cromosoma X nella donna (che ne ha due) e Y nel maschio (che ne ha uno + un X).

Dispermia: associazione di più caratteristiche patologiche del liquido seminale.

Eiaculato: liquido biologico prodotto dagli organi riproduttivi maschili. È formato da una parte corpuscolata (spermatozoi, elementi germinali immaturi, cellule ematiche, elementi prostatici) e da una parte liquida (plasma seminale) contentente i prodotti (enzimi, proteine, carboidrati, acidi grassi, sali minerali ecc) di secrezione delle ghiandole sessuali accessorie e delle vescicole seminali.

Epididimo: organo a struttura microtubulare, in continuità con i tubuli del testicolo e della rete testis. Costituisce la parte iniziale del sistema efferente degli spermatozoi, che in esso tuttavia acquisiscono importantissime proprietà quali la motilità e vi completano la maturazione morfologica.

Eterocariosi: coesistenza di nuclei geneticamente diversi nella stessa cellula, differenziantesi in quanto tale dall'EUCARIOSI.

Euploidia: v. mitosi.

F.A.: (Fecondazione o Fertilizzazione Artificiale).

Fecondazione: processo biologico della durata di circa 24 ore che inizia con il primo contatto dello spermatozoo con la membrana pellucida dell'uovo e termina con la singamia (unione dei cromosomi materni e paterni) e la formazione dello zigote.

Ghiandole seminali accessorie: strutture secernenti disseminate lungo il canale deferente del liquido seminale, in cui versano i propri prodotti di secrezione, essenziali per la vitalità, la funzionalità e la capacitazione (v.) degli spermatozoi.

Ibridizzazione: fecondazione tra soggetti di specie diverse ma vicine, o della medesima specie ma di varietà diverse.

Inseminazione: la messa a contatto, in vitro o in vivo, degli spermatozoi con le strutture riproduttive femminili.

Ipsazione: orgasmo e (nel maschio) emissione del liquido seminale a seguito di manovre di autoerotismo.

Liquido seminale: v. eiaculato.

Masturbazione: v. ipsazione.

Meiosi: processo che si verifica nelle cellule germinali e che consiste in due divisioni consecutive accompagnate da una sola duplicazione dei cromosomi. Ne conseguono elementi cellulari con corredo cromosomico aploide (v.) destinati a congiungersi con quelle derivati dall'altro sesso.

Mitosi (o cariocinesi): processo di divisione cellulare che interessa le cellule somatiche e le cellule germinali immature; conduce alla formazione di due cellule figlie che hanno lo stesso numero di cromosomi della cellula madre (euploidia).

Muco cervicale: prodotto composito di secrezione delle ghiandole del canale genitale femminile, al contatto del quale gli spermatozoi iniziano il processo di capacitazione (v.).

Mutagenesi: induzione di una mutazione genetica.

Oligospermia: riduzione patologica del numero degli spermatozoi nell'eiaculato (‹ 20.000.000 ml).

Ovocita: gamete femminile, contenente 22 cromosomi (autosomi) + un cromosoma X.

Pronucleo (maschile e femminile): struttura cellulare derivante dalle prime modificazioni seguenti la penetrazione dello spermatozoo nell'ovocita e contenente ancora un corredo cromosomico aploide.

Reazione acrosomiale: fase finale della capacitazione, durante la quale si fondono le membrane esterne dello spermatozoo, con successiva rottura ed emissione degli enzimi acrosomiali. È essenziale per la penetrazione dello spermatozoo nell'ovocita (zona pellucida).

Singamia: unione dei cromosomi materni e paterni.

Spermatogenesi: processo di moltiplicazione e differenziazione della cellula germinale maschile all'interno dei tubuli seminiferi del testicolo. Inizia dagli elementi più immaturi (spermatogoni) e, sotto l'egida di influenze ormonali conduce alle fasi terminali della maturazione degli spermatozoi (spermiogenesi). Durante tale processo il corredo cromosomico degli spermatozoi da diploide (46XY) diventa aploide (23 X o Y).

Spermatozoo: la cellula germinale maschile, derivante dai processi di spermatogenesi e spermiogenesi. Possiede un corredo cromosomico aploide (23 X o Y) destinato a congiungersi con il corrispondente femminile (23 X).

Test post coitale (PCT): prova di funzionalita' spermatica che valuta la sopravvivenza (motilità) degli spermatozoi nel muco cervicale femminile, a varia distanza di tempo da un rapporto.

Traslocazione: anomalia della meiosi (v) che consiste nel trasferimento di un segmento di cromosoma ad un altro cromosoma.

Zigote: unità cellulare derivante dalla penetrazione della testa dello spermatozoo nel citoplasma dell'ovocita.

Zona pellucida: prodotto di secrezione delle cellule follicolari che circondano l'ovocita e che deve essere attraversata dallo spermatozoo per penetrare nell'ovocita stesso.

BIBLIOGRAFIA DI RIFERIMENTO

(oltre quella citata nel testo)

«*Il liquido seminale umano*» in «*Trattato di Andrologia*», CONTI C. e ISIDORI A., Piccin Editore, Padova, 1984;

«*La bioetica della riproduzione assistita*» in «*La Sterilità umana*», CITTADINI E. e Coll., CGFESE Ed. Palermo, 1990;

«*De quibusdam quaestionibus ad sexualem ethicam spectantibus*» Sacra Congregatio pro Doctrina Fidei, 1976,;

BAUM W.W. «*Orientamenti educativi sull'amore umano*», Sacra Congregazione per l'educazione Cattolica, 1983;

TETTAMANZI D. «*Bambini fabbricati*» PIEMME Ed. Casale M. 1985;

FRANCOIS N. (1987) «*Sexual aspect in paraplegic patients*» Paraplegia, 25,289;

PANAYTIS M.Z. e GOODPASTURE J.C. «*Clinical improvenment of specific seminal deficiencies with a seminal collection device versus masturbation*» (1989);

SPAGNOLO A.G. e Coll. «*Should we consider ethical limits in diagnosing male Infertility?*» In press 1990;

«*New guidelines for the use of semen for donor insemination*», Fertil. Steril., Suppl. 1, 1990.

MIKAMO K. *The interspecific in vitro system to measure human sperm chromosomal damages.* In: «*Trends in Biological Dosimetry*». An International Symposium, October 22-27, 1990, Lerici (La Spezia), Italy.

RUDAK E., JOCABS P.A. and YANAGIMAKI R. *Direct analysis of the chromosome constitution of human spermatozoa.* Nature 274, 911-913, 1978.

MARTIN R.H., *Chromosomal abnormalities in human sperm.* In: «*Aneuploidy - Etiology and Mechanisms*». Ed. V.I. Dellarco, P. E. Voytek and A. Hollaender, Easic Life Sciences, vol. 36, pp. 91-102, Plenun Press New York and London.

MARTIN R.H., and RADEMAKER A., *The frequency of aneuploidy among individual chromosomes in 6821 human sperm chromosome complements. Cytogenet.* Cell Genet. 53, 103-107, 1990.

Ethical counsiderations of the New Reproductive Technologies. Fert. Sterl., vol. 53, Suppl. 2, 1990.

Legislazione Internazione. Medicina e Morale 1, 1990, 159.

Human Fertility and Embriology Act. Elackwell Press Ltd. London, 1990.

Consiglio d'Europa: *Human Artificial Procreation*, 1989.

Consiglio d'Europa: *Raccomandazione 1100* (1989).

Parlamento Europeo. *Risoluz. doc. Az 327/88* (16.3.89).

MEMBRI DEL COMITATO NAZIONALE PER LA BIOETICA

Prof. Bompiani Adriano - *Presidente*
Ordinario di Clinica ostetrica e ginecologica

Prof. Ossicini Adriano - *Vice Presidente*
Ordinario di Psicologia

Prof. Scarpelli Uberto - *Vice Presidente*
Ordinario di Filosofia del diritto

Prof.ssa Levi Montalcini Rita
Membro Professore «Ospite»

Cons. Barberio Corsetti Livia
Consigliere di Stato

Prof. Barni Mauro
Ordinario di Medicina Legale

Prof. Carenza Luigi
Ordinario di Clinica ostetrica e ginecologica

Prof. Cattorini Paolo
Responsabile Scuola di Medicina e Scienze Umane dell'Istituto S. Raffaele di Milano

Prof. Chieffi Giovanni
Ordinario di biologia generale

Prof. Cittadini Ettore
Ordinario di Clinica ostetrica e ginecologica

Prof. D'Agostino Francesco
Ordinario di Filosofia del diritto

Prof. Dalla Torre Giuseppe
Ordinario di Diritto ecclesiastico

Prof. De Carli Luigi
Ordinario di genetica

Prof. Dioguardi Nicola
Ordinario di clinica medica

Prof. Fegiz Gianfranco
Ordinario di Clinica chirurgica

Prof. Fiori Angelo
Ordinario di Medicina legale

Prof. Flamigni Carlo
Ordinario di Endocrinologia ginecologica

Prof. Frati Luigi
Ordinario di Medicina sperimentale

Prof. Giorello Giulio
Ordinario di storia della scienza

Prof. Irti Natalino
Ordinario di diritto privato

Prof. Isidori Aldo
Ordinario di Andrologia

Prof. Lecaldano Eugenio
Ordinario di Storia delle dottrine morali

Prof. Manni Corrado
Ordinario di Anestesiologia e rianimazione

Prof. Manzoli Francesco Antonio
Direttore Istituto Superiore di Sanità

Prof. Merli Silvio
Ordinario di Medicina legale

Prof. Nordio Sergio
Ordinario di Pediatria

Prof. Paoletti Rodolfo
Ordinario di Farmacologia

Prof. Parodi Eolo
Presidente Federazione Nazionale Ordine dei Medici

Prof. Rescigno Pietro
Ordinario di diritto civile

Prof. Romano Carlo
Ordinario di Medicina legale

Prof. Rossi Bernardi Luigi
Presidente del Consiglio Nazionale delle Ricerche

Prof.ssa Rossi Sciumè Giovanna
Ricercatrice di Sociologia

Prof. Salvatore Gaetano
Ordinario di Patologia generale

Prof. Sgreccia Elio
Ordinario di Bioetica

Prof. Silvestrini Bruno
Ordinario di Farmacologia

Prof. Stammati Sergio
Ordinario di Diritto pubblico

Prof. Terragni Fabio
Biologo

Prof. Tocchini-Valentini Glauco
Biologo

Prof. Veronesi Umberto
Direttore Generale Istituto Nazionale Tumori

Prof. Zannini Giuseppe
Presidente Consiglio Superiore di Sanità

Sede del Comitato Nazionale per la Bioetica

Via dei Villini, 15 - 00161 Roma – Telefono: Presidente 44.04.279 - Segreteria 44.04.283 - Fax 44.04.282
Fanno parte della Segreteria la signorina Franca Barrano e la signora Colomba Malerba

Ai sensi del DPCM 28 marzo 1990 «Istituzione del Comitato Nazionale per la Bioetica»

ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO - P.V.

In copertina:

rappresentazione dello spermatozoo umano alla luce delle prime indagini microscopiche della fine del 1600. Si riteneva di individuare l'«homunculus», che — rannicchiato in posizione cosiddetta fetale — attende solo di crescere nell'utero materno.