**BASI BIOLOGICHE DELLA DIFFERENZIAZIAZIONE SESSUATA E DELL’IDENTITA’ DI GENERE**

**Fausto Santeusanio**

**(già Professore di Endocrinologia Università di Perugia)**

**Introduzione**

Forse capita a ognuno di noi chiedersi: *“perché ho l’aspetto di maschio o femmina, perché mi sento maschio o femmina?”* Potremmo dire semplicemente che tutto è affidato ad una storia naturale meravigliosa, imprevedibile e quindi ancor più affascinante. Questa storia inizia quando un ovocita maturo, o gamete femminile, viene espulso dalla superficie dell’ovaio destro o sinistro di una donna e liberato nella tuba o salpinge uterina dello stesso lato, si unisce ad uno spermatozoo, o gamete maschile, dopo un’unione sessuale: solo ad uno spermatozoo tra i tantissimi presenti, è consentito di unirsi alla cellula uovo. E’ come se scoccasse per incanto una scintilla che accende in modo stupendo una nuova vita. Dalla fusione dei due gameti, ciascuno dei quali è dotato di un corredo cromosomico dimezzato, deriva lo *zigote* che ricostituisce il patrimonio genetico tipico di ogni individuo, rappresentato da 22 coppie di cromosomi “autosomici” e da una coppia di cromosomi “sessuali” (XX per la femmina e XY per il maschio) per un totale di 46 cromosomi. La combinazione dei due cromosomi sessuali XX o XY, uno di origine materna e l’altro di origine paterna, è del tutto casuale e determina il *sesso genetico* e di conseguenza anche il destino dello sviluppo dello zigote, verso un soggetto di sesso femminile (XX) o maschile (XY).

**Evoluzione verso la differenziazione gonadica**

L’abbozzo della gonade non ancora differenziata o bipotente compare già alla 5° settimana dello sviluppo embrionale. Questa prima fase è controllata da vari geni, fra cui WT-1 (Wilms Tumor -1) e SF-1 (Steroidogenetic Factor-1) identificati rispettivamente nel cromosoma 11 e nel cromosoma 9. Sono geni che codificano per fattori di trascrizione. Una mutazione o delezione di questi geni può portare ad anomalie dello sviluppo gonadico e sessuale in entrambi i sessi.

*Sviluppo del testicolo.* Nei soggetti con sesso genetico 46, XY, alla fine della 6° settimana inizia la differenziazione della gonade bipotente in testicolo grazie all’azione del gene SRY (Sex determining Region of Y) presente nel braccio corto del cromosoma Y. Questo gene codifica per la sintesi della proteina “SRY”, che da un lato promuove l’attivazione di un gene SOX-9 (cromosoma 17), da cui dipende lo sviluppo del testicolo, dall’altro reprime l’espressione del gene DAX-1 (cromosoma X), il cui effetto contrasta ed impedisce l’azione del gene SOX9 e quindi la differenziazione della gonade primitiva in testicolo. Fra la 6° e la 7° settimana di gestazione sono riconoscibili nel testicolo gli abbozzi dei tubuli seminiferi con le cellule di Sertoli e gli spermatogoni, e l’interstizio con le cellule di Leydig.

*Sviluppo dell’ovaio.* In presenza del genotipo XX, ed in assenza quindi del cromosoma Y, non si ha l’attivazione dei geni SRY e SOX-9, la gonade indifferenziata subisce un’evoluzione in ovaio. Non si tratta di un passaggio del tutto passivo, ma guidato anche da fattori genetici. In particolare, come è stato già ricordato, il gene DAX-1 espresso nel cromosoma X previene una possibile evoluzione della gonade indifferenziata in testicolo: si ritiene che il gene DAX-1 codifichi per la sintesi di una proteina recettoriale, non ancora ben definita, che indirizza la differenziazione della gonade bipotente in ovaio. Analogamente, alla 6-7a settimana si riconoscono nello stroma ovarico i follicoli primordiali, destinati a differenziarsi in ovociti.

**Sviluppo delle strutture del sistema riproduttivo**

*Sviluppo dei genitali interni.* Cronologicamente, alla 5° settimana dello sviluppo embrionale, oltre all’abbozzo delle gonadi, sono apprezzabili anche le future strutture riproduttive maschili e femminili ancora allo stadio indifferenziato. Si tratta dell’abbozzo dei dotti di Wolff e dei dotti di Muller, da cui si svilupperanno gli organi genitali interni rispettivamente maschili e femminili. Un momento cruciale dello sviluppo gonadico e sessuale si realizza intorno al 40° giorno (6° settimana) di gestazione quando ha luogo la differenziazione gonadica e inizia la differenziazione verso il fenotipo sessuale, maschile o femminile, in modo congruente con la gonade, testicolo o ovaio, che si è nel frattempo sviluppata. Nel sesso maschile il testicolo embrionale fin da questo momento garantisce la produzione di almeno due fattori essenziali che regolano la differenziazione dei dotti gonadici maschili o dotti di Wolff: il testosterone, ormone maschile per eccellenza, prodotto dalle cellule di Leydig, e l’ormone anti-mulleriano (AMH, Anti Mullerian Hormone), una glicoproteina prodotta dalle cellule di Sertoli. Sono stati individuati alcuni geni (SF-1, SOX-9 e GATA-4), in parte già ricordati, che attivano la trascrizione del fattore AMH a livello delle cellule di Sertoli. Il testosterone prodotto da ciascuno dei due testicoli embrionali stimola localmente, con effetto paracrino (effetto locale), lo sviluppo del dotto di Wolff situato nel proprio lato. In tal modo subiscono in entrambi i lati una differenziazione in epididimo, vasi deferenti e vescicole seminali. Sono queste le vie attraverso cui gli spermatozoi, prodotti dall’epitelio seminifero in età matura, saranno veicolati sino alle vescicole seminali a costituire la componente fondamentale del liquido seminale. D’altro canto, l’ormone AMH, anch’esso con effetto paracrino, determina una regressione completa dei dotti di Muller, già all’ottava settimana dello sviluppo embrionale.

Invece, quando la gonade è costituita dall’ovaio, in assenza quindi di produzione di testosterone e dell’ormone AMH, i dotti di Wolff subiscono una regressione completa, mentre i dotti di Muller danno luogo alla differenziazione dell’utero, delle tube di Falloppio e dei due terzi superiori della vagina.

*Sviluppo degli organi genitali esterni.* Anche i genitali esterni si sviluppano da strutture embrionali indifferenziate a partire dalla 14° settimana dello sviluppo fetale. Per il sesso maschile lo sviluppo dei genitali esterni dipende dalla presenza di testosterone prodotto dal testicolo, ma è determinante la sua conversione in di-idro-testosterone, grazie all’enzima 5-alfa-reduttasi di tipo 2, presente nei tessuti dell’abbozzo dei genitali esterni. Lo sviluppo dei genitali esterni maschili guidato dal di-idrostestosterone (DHT) procede con il seguente ordine. Dal tubercolo genitale, primitivo abbozzo dei genitali esterni, derivano il glande e i corpi cavernosi; dalle pieghe uretrali, il corpo spugnoso che circonda l’uretra peniena; dai rigonfiamenti labio-scrotali, lo scroto. Il di-idrotestosterone (DHT) stimola anche lo sviluppo della prostata e delle ghiandole di Cowper. Nel sesso femminile, invece in cui le concentrazioni di testosterone e quindi di di-idrotestosterone (DHT) sono assai più basse, i genitali esterni si svilupperanno secondo il fenotipo femminile: il tubercolo genitale dà origine al clitoride; le pieghe uretrali, alle piccole labbra; i rigonfiamenti labio-scrotali, alle grandi labbra; il seno urogenitale, al terzo inferiore della vagina e alle ghiandole di Bartolini. Quindi anche per lo sviluppo di genitali esterni, l’ovaio fetale non sembra esercitare un effetto diretto.

**Differenziazione sessuata del cervello**

Lo sviluppo embrionale e fetale del sistema nervoso avviene attraverso processi di proliferazione, differenziazione e migrazione neuronale, mielinizzazione, sviluppo di reti costituite da assoni e da sinapsi che mettono in contatto diversi distretti nervosi cerebrali (rete neuronale). Questo complesso meccanismo biologico conduce ad una organizzazione definitiva della citoarchitettura del sistema nervoso. Il dimorfismo sessuale cerebrale, che interessa in particolare alcuni distretti e funzioni del sistema nervoso, si realizza nel corso di queste fasi organizzative in tutti i mammiferi, incluso l’uomo. Il risultato sarà quello di differenze evidenziabili soprattutto dopo la pubertà, in età matura, che riguardano la neurocitoarchitettura ed il volume di alcune aree cerebrali, e, dal punto di vista funzionale, il tipo di comportamento sessuale ed i modelli di attività neuroendocrina. Dalla seconda metà del secolo scorso sono stati condotti numerosi studi sperimentali, soprattutto sui roditori, al fine di delucidare i meccanismi cellulari e molecolari della differenziazione sessuata cerebrale. I risultati hanno consentito di trarre conclusioni ampiamente riconosciute dalla comunità scientifica.

A questo processo di differenziazione sessuale cerebrale partecipano *fattori ormonali e genetici*. Testosterone, di-idrotrestosterone (DHT) ed Estradiolo sono gli ormoni che maggiormente influenzano l’attivazione dei processi di differenziazione neuroanatomica di specifiche aree cerebrali. Alla fine, si stabiliranno dei confini sia per il sesso maschile che per il sesso femminile entro cui saranno contenute le possibilità di scelta del comportamento sessuale e le risposte neuroendocrine a stimoli specifici, pur con una variabilità individuale sempre esistente in natura, in un ambito biologicamente definito per ciascuno dei due sessi. Questi principi di ordine generale derivati da studi sull’animale possono essere trasferiti all’uomo? In parte sì, ma con delle differenze che per la specie umana sono desunte soprattutto dai modelli clinici dei disordini congeniti della differenziazione sessuale. Per l’uomo, inoltre, non si deve trascurare l’impatto che l’ambiente in cui vive, l’esperienza, la formazione sociale, culturale e psicologica possono esercitare insieme ai fattori genetici ed ormonali nel plasmare il cervello sessuato.

*Androgenizzazione cerebrale: fattori endocrini.* Il testosterone giuoca un ruolo determinante nella differenziazione e dimorfismo sessuale cerebrale. Questo processo ha luogo nel maschio con l’impregnazione del cervello da parte del testosterone di origine testicolare già durante la vita fetale, da cui si configura l’organizzazione strutturale di una rete neuronale anatomica e funzionale congruente con il sesso maschile. Da questa organizzazione si ritiene che derivino l’identità di genere, il comportamento sessuale nel senso dell’attrazione e della scelta del partner (di regola eterosessuale), il modello di secrezione degli ormoni ipotalamici ed ipofisari da cui dipende la regolazione della funzione riproduttiva. L’androgenizzazione cerebrale inizia quindi durante la vita prenatale, quando il testicolo è in grado di produrre testosterone e lo sviluppo cerebrale va organizzandosi parallelamente. In assenza di testosterone, come avviene nei soggetti di sesso femminile, il cervello subirà un’organizzazione diversa da quella maschile, da cui deriveranno l’identità di genere femminile, il comportamento sessuale proprio delle femmine, e la stessa rete neuronale responsabile delle secrezioni ormonali viene orientata al modello riproduttivo femminile, che è ovulatorio e quindi ciclico. E’ possibile comunque che anche per la *femminilizzazione cerebrale* non si tratti di un meccanismo del tutto passivo o spontaneo perché potrebbero essere coinvolti fattori genetici non ancora identificati legati ai cromosomi X e Y in grado di attivare specifici fattori di trascrizione molecolare.

*Androgenizzazione cerebrale: Fattori genetici ed epigenetici.* Negli ultimi annisono state acquisite molte informazioni che suggeriscono che non soltanto gli ormoni sessuali, ma anche fattori genetici possono svolgere un ruolo importante nel processo di differenziazione sessuale del cervello in varie fasi della vita, soprattutto nella vita prenatale e alla pubertà: il patrimonio genetico dei neuroni e l’epigenetica potrebbero esercitare effetti importanti nella fase di differenziazione. L’epigenetica definisce la regolazione della trascrizione genica attraverso una modificazione delle proprietà fisiche e chimiche della componente genica o cromatina (proteine istoniche e DNA) senza alterare la sequenza dei nucleotidi. Stimoli biologici ed ambientali possono cambiare lo stato epigenetico dei neuroni con conseguente produzione di effetti a lungo termine sulle funzioni cerebrali, comprese anche le risposte comportamentali. L’epigenetica rappresenta quindi un meccanismo biochimico in grado di modulare, accelerando o rallentando l’espressione di geni nei processi di trascrizione e traduzione del segnale. Queste funzioni biochimiche di interazione genica nel processo di differenziazione sessuale cerebrale, certamente operative, non sono ancora definite, per cui si attendono risposte più puntuali nei prossimi anni dalla ricerca scientifica in questo specifico settore.

**Alcune considerazioni per la differenziazione sessuata cerebrale nell’uomo**

Ad una osservazione generale, appare evidente che nell’uomo, oltre alle diversità connesse alla identità e al comportamento sessuali, alla regolazione neuroendocrina della vita riproduttiva, esistono altre caratteristiche peculiari per ciascuno dei due sessi, che riguardano espressioni della vita cognitiva, affettiva, emotiva ed istintiva. Dobbiamo intendere queste diversità anzitutto come attitudini che si esprimono in modo complementare nell’uomo e nella donna: sono effetti correlate all’azione degli ormoni gonadici prodotti dal testicolo (testosterone) per l’uomo e dall’ovaio (estrogeni) per la donna, ma è anche espressione del dimorfismo sessuale cerebrale che si sviluppa e si configura già in età prenatale e si completa dopo la pubertà.

I risultati di studi sul dimorfismo sessuale riguardano in genere modelli applicati all’animale da esperimento, più specificamente ai roditori. Si può dire che l’identità di genere, l’orientamento, il comportamento sessuale ed altre proprietà dimorfiche cerebrali nell’uomo possono poggiare sulle stesse basi biologiche evidenziate nell’animale, ma hanno ricevuto conferme da osservazioni del comportamento ed orientamento sessuale desunte da soggetti affetti da disordini congeniti della differenziazione sessuale in cui durante la vita embrionale il cervello è stato esposto a concentrazioni ormonali diverse da quelle normalmente attese.

**Aree cerebrali sessualmente dimorfiche**

Sono state individuate alcune aree cerebrali chiaramente dimorfiche sotto il profilo sia anatomo-istologico che funzionale. Queste informazioni sono state desunte soprattutto dagli studi sperimentalmente condotti sull’animale, in particolare sui roditori, in cui è stato possibile studiare dal punto di vista istologico lo sviluppo nel periodo fetale di reti neuronalie assoniche e di sinapsi in grado di connettere fra di loro assoni e nuclei nervosi. Ma anche per l’uomo non mancano osservazioni in grado di fornire informazioni morfo-funzionali riguardo a specifiche aree cerebrali soggette al dimorfismo sessuale (studi funzionali condotti mediante tecniche di Risonanza Magnetica Nucleare). La regione maggiormente interessata è il *sistema limbico* rappresentato da strutture nervose sottocorticali connesse fra di loro da una rete di neuroni a costituire una unità funzionale. Il suo ruolo è quello di mediare funzioni della vita istintiva, emotiva e affettiva dell’uomo. A questo livello si ha il controllo del tono dell’umore, del piacere, del comportamento affettivo compresa la vita sessuale, in relazione all’istinto di autoconservazione e perpetuazione della specie. Il sistema limbico è connesso funzionalmente alle aree corticali superiori, come il lobo frontale, che nell’uomo è ben evoluto ed è sede dei meccanismi di controllo della vita istintiva, e l’area ipotalamica, sede dei meccanismi di regolazione di funzioni ormonali della ghiandola ipofisaria, con particolare riguardo alla funzione riproduttiva. Nell’ipotalamo hanno sede anche i centri nervosi che regolano l’introduzione di cibo (centri della fame e della sazietà) e dell’acqua (centro della sete), grazie ai segnali inviati dall’organismo e mediati da metaboliti e specifici recettori, in modo da garantire le necessità per un corretto bilancio energetico e idrico, ovvero l’omeostasi dell’organismo.

*Regolazione neuroendocrina ipotalamica.* Un esempio di funzione sessualmente dimorfica a livello ipotalamico e ipofisario è il modello di secrezione degli ormoni ipofisari che a loro volta regolano la funzione gonadica e riproduttiva, sia femminile che maschile. Nel soggetto adulto di sesso femminile la secrezione di gonadotropine ipofisarie, regolata dall’ipotalamo, stimola in maniera ciclica la maturazione di un follicolo ovarico da cui deriva la secrezione prevalente di estradiolo nella prima fase (fase estrogenica) e poi di progesterone nella seconda fase (fase luteinica) una volta che il follicolo, apertosi esternamente sulla superficie ovarica a liberare la cellula uovo matura (ovulazione), viene sostituito dal corpo luteo. Questa funzione ciclica, della durata media di circa 28 giorni, è finalizzata al processo di ovulazione e di preparazione, grazie all’azione di estradiolo prima e di progesterone poi, della mucosa uterina ad accogliere l’embrione in caso di concepimento, cioè della fecondazione dell’ovocita maturo da parte di uno spermatozoo a livello della salpinge uterina. In assenza di tale evento la mucosa uterina subirà una regressione che darà luogo a sfaldamento cellulare e sanguinamento cosicché un nuovo ciclo viene avviato per la maturazione di un nuovo ovocita nel frattempo selezionato. Queste fasi si susseguono mirabilmente grazie ai meccanismi di *feed-back* esercitati dagli ormoni secreti dall’ovaio a livello ipotalamico e mediati da specifici recettori e neuromediatori, in modo da regolare l’andamento ciclico di secrezione delle gonadotropine ipofisarie. Ben diversa è la situazione nel soggetto adulto di sesso maschile, in cui la secrezione di gonadotropine ipofisarie, regolata dall’ipotalamo, ha un andamento monofasico, pur con piccole oscillazioni giornaliere e nel corso del tempo, in modo da garantire una stabilità sia dei livelli plasmatici di testosterone sia dell’attività spermatogenetica con una concentrazione di spermatozoi stabile e sufficientemente elevata nel liquido seminale. Questo modello di secrezione ormonale regolato dall’ipotalamo in modo differente nell’uomo e nella donna, determina una finestra di fertilità solo di alcuni giorni ogni mese nella donna, e viceversa di una capacità fertile più stabile nel tempo nel maschio. Nella donna, inoltre, la fertilità cessa in modo abbastanza brusco con la menopausa quando l’esaurimento dei follicoli ovarici, potenzialmente capaci di maturazione, determina una notevole e brusca riduzione della produzione di estradiolo. Nel maschio invece il declino della attività testicolare con riduzione delle concentrazioni di testosterone e della spermatogenesi, e quindi della capacità fertile, avviene più lentamente, con gradualità e in età più avanzata.

**Meccanismi neurobiologici e risposta sessuale**

A documentare il ruolo del sistema nervoso centrale e periferico sulla funzione sessuale vi sono i meccanismi implicati nella normale risposta sessuale sia maschile che femminile. Vi sono direttamente coinvolti i centri corticali e sottocorticali del cervello, il midollo spinale e il sistema nervoso periferico con la partecipazione del sistema nervoso autonomico simpatico e parasimpatico e dei nervi periferici motori e sensoriali. Sotto la sollecitazione di stimoli psichici (memorie e fantasie) e sensoriali (visivi, olfattivi, uditivi) prende l’avvio l’interesse e l’iniziativa sessuale che portano alla fase dell’eccitazione. Viene così indotta un’attività neuronale di alcune aree del sistema nervoso centrale, cui seguono una adeguata risposta ormonale, una potente attività nervosa periferica ed un aumento del flusso sanguigno a livello genitale. Nella neuromediazione delle vie nervose giuocano un ruolo importante la dopamina a livello del sistema limbico e l’ossitocina a livello del midollo spinale.

**Conclusioni**

Ho cercato di riassumere i concetti maturati nel corso di decenni di ricerche scientifiche per comprendere i processi biologici che portano fin dall’età embrionale e fetale allo sviluppo di un fenotipo maschile e femminile, all’identità di genere, e infine alle scelte di comportamento sessuale. E’ stato ricordato che molti studi sono stati condotti in modelli animali in cui è stato possibile eseguire indagini istolo-morfologiche e biochimiche a livello cerebrale per evidenziare lo sviluppo delle aree cerebrali condizionate dalla androgenizzazione del cervello e la realizzazione di reti neuronali in grado di connettere funzionalmente aree cerebrali differenti. I dati che riguardano l’uomo, basati soprattutto su studi condotti in situazioni di malattie geneticamente determinate riguardanti la differenziazione sessuale, confermano in buona parte i risultati ottenuti nell’animale. Nell’uomo, tuttavia, vi è la componente importante connessa alle influenze socio-ambientali e culturali che potrebbero interferire e modificare l’ordine stabilito dalle leggi naturali. Questo è un settore delicato e non vi è dubbio che molto resta da indagare nell’uomo soprattutto per comprendere se i soggetti che si professano bisessuali, omosessuali e transessuali, in assenza di disordini evidenti della differenziazione sessuale, abbiano fatto le loro scelte di genere in modo naturale, condizionati dall’ambiente, da fattori psicologici o anche da fattori biologici vista la complessità delle delicate fasi di sviluppo durante la vita embrionale, fetale e postnatale. Anche per la comprensione di questi aspetti molto ci si attende in futuro dalla ricerca scientifica.