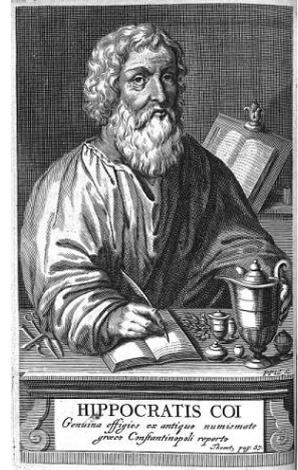


## IPPOCRATE

**Ippocrate di Coo** (o Cos, o Kos) (in greco antico: Ἱπποκράτης, Hippokratēs; Coo, 460 a.C. circa – Larissa, 377 a.C. terminus post quem) è stato un **medico, geografo e aforista greco antico, considerato il padre della medicina. Egli rivoluzionò il concetto di medicina, tradizionalmente associata con la teurgia e la filosofia, stabilendo la medicina come professione.** In particolare, ebbe il merito di far avanzare lo studio sistematico della medicina clinica, riassumendo le conoscenze mediche delle scuole precedenti, e di descrivere le pratiche per i medici attraverso il Corpus Hippocraticum e altre opere.



1

### Biografia

Figlio di Eraclide e di Fenarete, **Ippocrate proveniva da una famiglia aristocratica con interessi medici, i cui membri erano appartenuti alla corporazione degli Asclepiadi. Il padre, egli stesso medico, affermava di essere un discendente di Asclepio, dio della medicina.** Fu il padre, insieme ad Erodico, ad introdurre il giovane Ippocrate all'arte medica. Egli lavorò a Coo, viaggiò molto in Grecia, in particolare Atene. Ma esercitò specialmente nella Grecia settentrionale, in Tracia e a Taso.

**Ippocrate viaggiò moltissimo, visitò tutta la Grecia, fino ad arrivare in Egitto e in Libia, dove fu iniziato alla conoscenza degli antichi segreti detenuti dai sacerdoti.** Alla sua epoca l'Egitto era il paese ritenuto più avanzato nella cultura scientifica e tecnologica, nonché nell'aritmetica e nella geometria. Quasi tutti i medici laici viaggiavano molto per curare i malati e studiare le metodologie di cura.

**Acquisì grande fama contribuendo a vincere la peste di Atene (429 a.C.) e soprattutto insegnando. Fondò una scuola medica e scrisse una settantina di opere, raccolte nel Corpus Hippocraticum.**

Ippocrate ebbe due figli: Tessalo e Dracone I.

### Incendio del tempio di Asclepio

L'unico episodio controverso nella vita di Ippocrate fu il presunto incendio del Tempio di Asclepio. In occasione di questa sciagura, narra la leggenda, alcune persone testimoniarono di aver visto il medico uscire dal tempio con le tavolette delle divinità. Quelli che osteggiavano le sue teorie l'accusarono di aver trafugato gli scritti. La maggior parte dei suoi concittadini però interpretò diversamente la vicenda, sostenendo che Ippocrate, incarnazione del dio, aveva in realtà salvato le tavole sacre.



## Pensiero

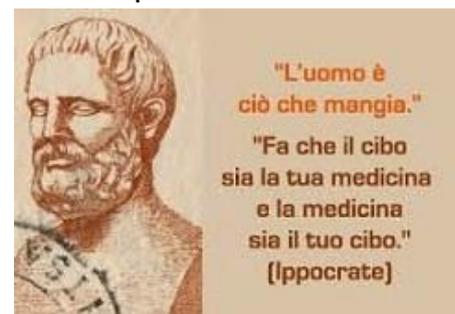
Il pensiero medico e filosofico di Ippocrate si inserisce in un contesto esoterico che egli stesso cercò di preservare dall'accesso di quanti fossero impreparati, e perciò inadeguati, a comprenderlo.

Uno dei fondamenti della medicina ippocratica è il principio Νόσων φύσεις ἰητροί, chiamato in seguito da Galeno vis medicatrix naturae, o «forza curatrice naturale», che vede il corpo umano animato da una forza vitale tendente per natura a riequilibrare le disarmonie apportatrici di patologie. Secondo questa concezione, la malattia e la salute di una persona dipendono da circostanze insite nella persona stessa, non da agenti esterni o da superiori interventi divini; la via della guarigione consisterà pertanto nel limitarsi a stimolare questa forza innata, non nel sostituirsi ad essa: «la natura è il medico delle malattie [...] il medico deve solo seguirne gli insegnamenti».

Ippocrate fu anche il primo a studiare l'anatomia e la patologia, per farlo applicò la dissezione sui cadaveri. Egli inventò la cartella clinica, teorizzò la necessità di osservare i pazienti prendendone in considerazione l'aspetto ed i sintomi e introdusse per primo i concetti di diagnosi e prognosi. Egli credeva infatti che solo la considerazione dello stile di vita del malato permetteva di comprendere e sconfiggere la malattia da cui era affetto. Se tale prospettiva è tutt'oggi tipica della pratica medica, la ricchezza degli elementi che Ippocrate chiama in causa (dietetici, atmosferici, psicologici, perfino sociali) suggerisce un'ampiezza di vedute che raramente sarà in seguito praticata. Ma la necessità di una considerazione globale valeva anche in senso inverso: ogni elemento nella natura umana aveva ripercussioni sull'esistenza.

Tale innovazione appare chiara soprattutto a partire dalle osservazioni che Ippocrate rivolge all'indirizzo della scuola di Cnido. Questa, sotto l'influenza delle prime osservazioni scientifiche compiute in area ionica (Talete, Anassimandro) aveva rafforzato lo spirito di osservazione tipico dei primi medici itineranti greci, nominati nei poemi omerici. Da una parte Ippocrate ha grande stima di tale approccio sperimentale, ritenendo che grazie ad esso la verità potrà, gradualmente, essere scoperta; dall'altra parte egli critica il fatto che le osservazioni empiriche non siano inserite in un quadro scientifico complessivo, che metta ordine nell'infinita varietà dei fenomeni con i quali il medico si deve confrontare. Solo questa conoscenza di tipo universale rende il medico veramente tale.

Ippocrate valorizza il dialogo tra medico e paziente. "Se ti udrà un medico di schiavi, ti rimprovererà: "Ma così tu rendi medico il tuo paziente!" proprio così dovrà dirti, se sei un bravo medico".





### Teoria degli umori

Ippocrate sostenne la "teoria umorale". Il nostro corpo sarebbe governato da quattro umori: (sangue, bile gialla, bile nera, flegma). Essi condurrebbero alla salute (crasi) nel caso in cui siano in equilibrio, alla malattia nel caso opposto. La teoria è espressa nel De Natura hominis del suo discepolo Polibo.

A lui si deve l'importanza del concetto di dieta e alimentazione all'interno della dottrina degli umori e la coniugazione di medicina e chirurgia (ad esempio mediante purghe e salassi).

Ancor'oggi alcune malattie portano il suo nome, come le dita ippocratiche, o a bacchetta di tamburo, e la faccia ippocratica, tipica delle condizioni di sofferenza e indebolimento, ad esempio nella peritonite.

### Etica del medico

Se da una parte la mancanza di qualsiasi vincolo legislativo aveva reso possibile lo sviluppo rapido della ricerca medica, d'altra parte essa spostava la riflessione anche sui doveri morali del medico. In diversi passi delle opere di Ippocrate egli insiste sull'esigenza che il medico conduca una vita regolare e riservata, non speculi sulle malattie dei pazienti ma anzi li curi gratuitamente se bisognosi, stabilisca un legame di sincerità con i malati. Il testo più celebre che codifica l'etica medica è però il giuramento (ancor oggi in uso), in cui vengono enumerati i principi fondamentali che deve seguire chi esercita questa professione: diffusione responsabile del sapere, impegno a favore della vita, senso del proprio limite, rettitudine e segreto professionale.



# GIURAMENTO DI IPPOCRATE

**A**FFERMO CON GIURAMENTO PER APOLLO MEDICO E PER ESCULAPIO, PER IGIEA E PER PANACEA E NE SIANO TESTIMONI TUTTI GLI DEI E LE DEE, CHE PER QUANTO ME LO CONSENTIRANNO LE MIE FORZE E IL MIO PENSIERO, ADEMPIRO' QUESTO MIO GIURAMENTO CHE PROMETTO QUI SCRITTO. CONSIDERERO' COME PADRE COLUI CHE MI INIZIO' E MI FU MAESTRO IN QUEST'ARTE, E CON GRATITUDINE LO ASSISTERO' E GLI FORNIRO' QUANTO POSSA OCCORRERGLI PER IL NUTRIMENTO E PER LE NECESSITA' DELLA VITA, CONSIDERERO' COME MIEI FRATELLI I SUOI FIGLI E SE ESSI VORRANNO APPRENDERE QUEST'ARTE, INSEGNERO' LORO SENZA COMPENSO E SENZA OBBLIGAZIONI SCRITTE, E FARO' PARTECIPARE DELLE MIE LEZIONI E SPIEGAZIONI DI TUTTA INTIERA QUESTA DISCIPLINA TANTO I MIEI FIGLI QUANTO QUELLI DEL MIO MAESTRO E COSI' I DISCEPOLI CHE ABBIANO GIURATO DI VOLERSI DEDICARE A QUESTA PROFESSIONE, E NESSUN ALTRO, ALL'INFUORI DI ESSI. PRESCRIVERO' AGLI INFERMI LA DIETA OPPORTUNA CHE LORO CONVENGA PER QUANTO MI SARA' PERMESSO DALLE MIE COGNIZIONI, E LI DIFENDERO' DA OGNI COSA INGIUSTA E DANNOSA, GIAMMAI MOSSO DALLE PREMUROSE O CON UOMINI SIA LIBERI CHE SERVI, E TUTTO QUELLO CHE DURANTE LA CURA ED ANCHE ALL'INFUORI DI ESSA AVRO' VISTO E AVRO' ASCOLTATO SULLA VITA COMUNE DELLE PERSONE E CHE NON DOVRA' ESSERE DIVULGATO, TACERO' COME COSA SACRA. CHE IO POSSA, SE AVRO' CON OGNI SCRUPOLO OSSERVATO QUESTO MIO GIURAMENTO SENZA MAI TRASGREDIRLO, VIVERE A LUNGO E FELICEMENTE NELLA PIENA STIMA DI TUTTI E RACCOGLIERE COPIOSI FRUTTI DELLA MIA ARTE. CHE SE INVECE LO VIOLERO' E SARO' QUINDI SPERGIURO POSSA CAPITARMI TUTTO IL CONTRARIO.



**GALENO**

**Galeno di Pergamo** (Pergamo, 129 – Roma, 201 circa) è stato un medico greco antico, i cui punti di vista hanno dominato la medicina occidentale per tredici secoli,



fino al Rinascimento, quando cominciarono lentamente e con grande cautela a essere messi in discussione, per esempio dall'opera di Vesalio. Dal suo nome deriva la galenica, l'arte di preparare i farmaci da parte del farmacista in farmacia.

5

**Biografia****Gioventù**

Galeno nacque nel 129 a Pergamo (oggi Bergamo, in Asia minore), una città prospera e intellettualmente vivace da una famiglia di architetti (infatti il padre e il nonno erano architetti mentre il bisnonno era studioso di geometria). La sua famiglia, di spiccata vocazione scientifica, apparteneva all'élite municipale. I suoi interessi, prima di concentrarsi sulla medicina, furono eclettici: agricoltura, architettura, astronomia, astrologia e filosofia. A partire dall'età di 14 anni il padre lo avviò a un percorso educativo prevalentemente filosofico, permettendogli di frequentare le lezioni tenute dai maestri delle quattro principali scuole filosofiche dell'epoca: platonica, stoica, aristotelica ed epicurea. Dalla sua esperienza scolastica gli derivò una certa diffidenza verso le controversie settarie in filosofia, di fronte alle quali avrebbe finito per diventare un seguace dello scetticismo di Pirrone, se l'educazione paterna non avesse previsto lo studio dei procedimenti dimostrativi tipici della geometria euclidea: questi infatti rappresentavano un sicuro punto di riferimento e una garanzia della possibilità di raggiungere delle incontrovertibili verità scientifiche.

All'età di 16 anni il padre, ispirato da un sogno, lo avviò agli studi di medicina, che intraprese senza peraltro trascurare gli studi filosofici. Ebbe come maestri l'empirico Aischiron, l'ippocratico Stratonico, allievo di Sabino, e l'anatomista Satiro, allievo di Quinto. Divenne, per quattro anni, therapeutes (con significato di addetto o socio) del dio Asclepio nel tempio locale. Dopo la morte di suo padre (148 o 149) lasciò il tempio per studiare a Smirne, a Corinto ed a Alessandria (dove consolidò la propria formazione anatomica e venne in contatto con la tradizione dei commenti

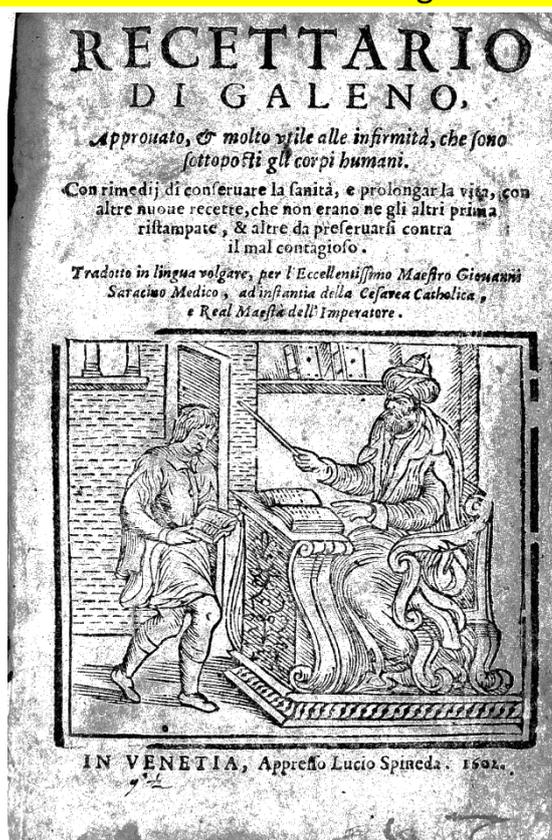


ippocratici). Studiò medicina per dodici anni. Quando tornò a Pergamo, nel 157, lavorò come medico alla scuola dei gladiatori per tre o quattro anni, durante i quali fece esperienza sui traumi e sul trattamento delle ferite, che lui, più tardi, descriverà come le finestre nel corpo.

### La vita a Roma

Dal 162 visse a Roma, dove giunse all'età di 33 anni portandovi i nuovi elementi della scienza medica di Ippocrate fra i quali la teoria umorale sulle origini della pazzia. A Roma il medico greco scrisse e operò estesamente, dimostrando così pubblicamente la sua conoscenza dell'anatomia. Nel competitivo ambiente romano, spinto da un desiderio di affermazione che giungeva fino all'eccesso di ambizione, iniziò a sfidare i rivali in ogni campo: dal capezzale del malato, agli spettacoli anatomici di vivisezione di fronte a un pubblico di intellettuali, fino alle conferenze affollate di medici affermati. Il grande successo che ottenne fu però a doppio taglio, perché da un lato si guadagnò una favorevole reputazione come medico esperto acquisendo un'ampia clientela e la stima di personaggi importanti della cerchia imperiale; dall'altro suscitò l'invidia e l'avversione di molti colleghi rivali. Uno dei suoi pazienti era il console Flavio Boeto, che lo introdusse in tribunale, dove divenne medico di corte dell'imperatore Marco Aurelio. Successivamente curò anche Lucio Vero, Commodo e Settimio Severo.

Parlava principalmente in greco, che nell'ambiente filosofico del tempo aveva maggiore diffusione del latino. Galeno nel 166 abbandonò precipitosamente la capitale per rifugiarsi a Pergamo, probabilmente per il timore di una congiura da parte di suoi rivali o per il manifestarsi a Roma della prima grande epidemia di "peste" (forse vaiolo?). Egli venne tuttavia richiamato nel 168 da una lettera di Marco Aurelio e Lucio Vero che gli ordinavano di raggiungere gli accampamenti di Aquileia per partecipare alla spedizione contro i Quadi e i Marcomanni. Galeno trascorse l'inverno presso l'esercito, su cui infieriva l'epidemia, ma infine riuscì a convincere Marco Aurelio (adducendo la volontà del dio Asclepio apparsogli in sogno) a consentirgli di tornare a Roma, dove avrebbe dovuto occuparsi della salute del giovane Commodo.



Iniziò quindi nel 169 un periodo della sua vita estremamente produttivo, infatti, alleggerito dell'impegno presso i pazienti, riuscì a dedicarsi appieno alla sua grandiosa produzione letteraria. Probabilmente visse a corte fino alla morte di Marco Aurelio, nel 180, e abbandonò il palazzo dopo l'ascesa di Commodo, che egli considerava il più crudele tiranno mai comparso nella storia. Salvo che per il breve rientro a Pergamo (166-169), Galeno trascorse tutto il resto della sua vita nella corte imperiale, scrivendo e conducendo esperimenti. Effettuò vivisezioni di numerosi animali, più che di esseri umani, per studiare la funzione dei reni e del midollo spinale. I suoi soggetti preferiti erano le scimmie. Secondo la sua stessa testimonianza impiegava 20 scrivani per annotare le sue parole. Molte delle sue opere e manoscritti furono però distrutti nel 191, dal fuoco divampato nella biblioteca del Tempio della Pace a cui egli aveva donato i suoi scritti.

La data della sua morte è fissata convenzionalmente intorno all'anno 200, basandosi su un riferimento del X secolo, il Lessico di Suda. Secondo il Tarikh al Hukam di Al-Qifti, scritto nel 1249, la morte di Galeno è fissata al 216 in Sicilia. La sepoltura avvenne, secondo quanto riportato nella sua Rihla (Viaggio) da Ibn Jubayr, presso Misilmeri in provincia di Palermo, dove il medico sbarcò durante la navigazione di ritorno verso l'Asia Minore, a causa di una grave malattia.

Il prenome Claudio, non documentato prima del Rinascimento, è forse dovuto ad un'errata decifrazione dell'espressione Cl. Galenus presente nei codici latini: Cl stava, probabilmente, per Clarissimus.

## L'ideale

L'abbondanza di riferimenti autobiografici nelle sue opere non appare solo dovuta a vanità, ma idealizzando la propria autobiografia Galeno traccia il profilo della formazione e del modo di vita del medico ideale. Gli stessi caratteri che attribuisce al



Explicat Hippocratem, nec larum praetendit vnguem;  
Eloquio factas, Thefalicosque mouet.  
Nulla est cognitio, non experientia rerum,  
Quam non attigerit, perpoliitque simul.

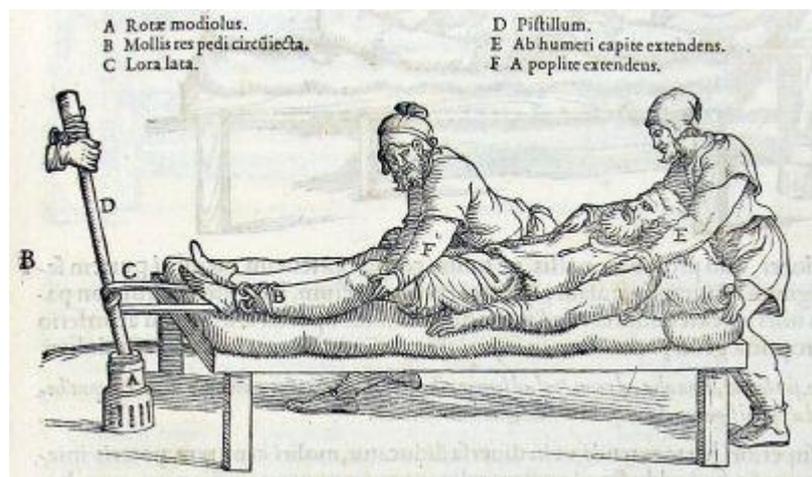
proprio profilo culturale infatti si possono ritrovare, esposti in modo sistematico, nell'opera "sul modo di individuare il miglior medico": questi infatti deve "avere profonda conoscenza della tradizione medica, dell'anatomo-fisiologia, della prognosi, dei metodi dimostrativi. Sono inoltre richiesti al medico l'amore assiduo per lo studio ("pazzia amorosa per la verità") e il disprezzo delle vanità mondane; è necessario poi che conosca le parti della filosofia essenziali per il suo modo di vita (etica, logica e fisica)". La sua biografia viene quindi proposta sia come modello ai discepoli sia come criterio di valutazione della qualità del medico.



## Profilo Intellettuale

Nel panorama intellettuale del II secolo d.C., Galeno rappresenta un caso eccezionale: per la sua collocazione a cavallo di scienza medica e filosofia, per la varietà dei suoi interessi e per la sua sterminata produzione letteraria. Galeno era dunque medico (allievo indiretto di Asclepiade il Giovane) e filosofo, e illustri pazienti come l'imperatore Marco Aurelio lo consideravano un filosofo professionale che praticava la medicina come attività marginale: "primo fra i medici", ma "unico fra i filosofi". Non si può essere un buon medico, sosteneva in uno scritto intitolato *Il miglior medico è anche filosofo se non si conoscono logica, fisica ed etica, cioè l'insieme "dell'autentica filosofia"* (che secondo Galeno è contenuta soprattutto nella tradizione platonico-aristotelica, ma anche in quella stoica).

La vastità della sua produzione letteraria riflette la varietà dei suoi interessi: egli infatti compose decine di trattati su tutti gli aspetti del sapere medico, dall'epistemologia all'anatomo-fisiologia e alla psicofisiologia, dalla diagnostica alla terapeutica e alla farmacologia. Compose una vasta serie di commenti agli scritti di Ippocrate e numerose opere polemiche contro le tendenze rivali. A tutto questo si aggiunge un ampio gruppo di trattati di argomento filosofico: di logica ed etica, su Platone, Aristotele, gli stoici, Epicuro, Favorino e altri (opere in gran parte perdute per il disinteresse filosofico delle posteriori scuole di medicina). Infine, esisteva un gruppo di scritti, alcuni di considerevole ampiezza, di critica letteraria ed erudizione linguistica, destinati ad integrare la paideia del medico colto.



## Posizioni filosofiche

Galeno rifiuta il dogmatismo delle sette filosofiche, preferendo all'adesione acritica un approccio più "scientifico", cercando quindi di distinguere ciò che è dimostrabile e tralasciando in genere questioni indecifrabili (come ad esempio se il cosmo sia generato o ingenerato). Il suo ragionevole scetticismo non gli impedisce però di nutrire qualche certezza nei campi della teologia e della psicologia: egli infatti è sicuro che il mondo sia retto da un disegno provvidenziale che ne consente una spiegazione teleologica, ed è sicuro che l'anima sia divisa in tre parti, come sostiene Platone nella Repubblica, e che l'anima insediata in un corpo sia solidale con esso, risultandogli in un certo senso "asservita".



Galeno ama a volte considerarsi platonico: benché sia lontano da varie posizioni (come le tesi cosmologiche e teologiche), in realtà accetta soprattutto la teoria della tripartizione dell'anima e della sua localizzazione somatica (espressa nel Timeo) mentre considera solo "plausibili" molte delle dottrine centrali del platonismo. Per molti aspetti, Galeno è più vicino ad Aristotele che a Platone, nonostante preferisca tacerlo, infatti di Aristotele condivide la logica (utilizza molto frequentemente il sillogismo, anche se spesso fa riferimento alla dimostrazione geometrica), l'impianto dell'epistemologia, la filosofia della natura e in particolare quella teoria degli elementi che per Galeno è fondamentale ma che preferisce attribuire ad Ippocrate. L'atteggiamento di Galeno nei riguardi degli stoici è piuttosto controverso, poiché spesso ad una dichiarata avversione si unisce una sostanziale concordanza sui temi centrali. Riguardo al finalismo provvidenzialistico infatti è concorde con la rigida versione stoica (che non ammette eccezioni dovute al caso) ed è concorde anche a proposito della concezione della sostanza naturale come continua e dotata di una sua intrinseca energia trasformativa. Si trova invece in disaccordo su varie questioni, come il monismo psicologico, la teoria delle passioni e il cardiocentrismo.

Lo stoicismo comunque appartiene, insieme con platonismo e aristotelismo, a quella delle due grandi tendenze della tradizione filosofico-scientifica che chiama "buona scuola" del continuismo, del finalismo, del razionalismo e della moralità positiva. Ad essa si contrappone la "cattiva scuola" di cui Galeno è un deciso avversario, quella



degli atomisti, che, considerando la natura composta di particelle discontinue e immutabili, la consegnano alla necessità meccanicistica e al caso, negando la provvidenza divina e i valori morali, e riducendo così la vita umana a "quella delle bestie". Questa scuola, risalente a Epicuro, ha un'influenza nefasta sulla medicina stessa.

### L'opinione riguardo alla tradizione medica

L'atteggiamento di Galeno in questo ambito è articolato principalmente su due versanti: da un lato c'è l'ippocratismo, la fisiopatologia umorale, il sapere clinico, prognostico e terapeutico, indispensabile per la pratica medica quotidiana. Dall'altro lato si situano l'anatomo-fisiologia aristotelica e soprattutto il grande patrimonio degli anatomisti Alessandrini ed Ellenistici, principalmente Erofilo, l'atteggiamento di



Galeno riguardo a Erasistrato è controverso, poiché gli riconosce talento anatomico ma rifiuta quella che considera una sua deriva antifinalistica, meccanicistica e quasi epicurea. Questi due versanti presentano difficoltà di saldatura, poiché l'anatomo-fisiologia non ha particolari applicazioni terapeutiche (tranne che in chirurgia) mentre la medicina ippocratica non ha alcun fondamento anatomico, e questa convivenza non è di semplice gestione nella medicina unificata di Galeno. Questa duplice tradizione costituisce comunque la "buona scuola" in medicina, alla quale si contrappone quella materialistica e meccanicistica, ispirata da Epicuro e da Erasistrato: di questa fanno parte Asclepiade e la setta dei metodici, come Tessalo e Temisone (situata intorno al I secolo a.C).

Secondo Galeno il grande problema della medicina consisteva appunto nella perdita di un orizzonte unitario, causata dalla divisione in scuole rivali, (come quelle filosofiche) al contrario delle scienze matematiche che apparivano molto più unite; inoltre il dissenso tra le diverse tradizioni indeboliva la medicina sotto il profilo epistemologico esponendola alle critiche degli scettici. Egli classificò le scuole presenti all'epoca in tre classi: metodica, empirica e dogmatica. Quella empirica e metodica rifiutavano la necessità dello studio dell'anatomia per il medico professionista, poiché non era necessaria per la diagnosi e la terapia delle malattie, che poteva basarsi sull'esperienza. Questo orientamento però rischiava di ridurre il livello culturale della medicina, (che Galeno avrebbe voluto pari a quello della filosofia e delle scienze maggiori) riducendola ad una semplice tecnica manuale: il caso limite di questa degradazione era rappresentato appunto dai metodici, i quali sostenevano che bastassero sei mesi per formare un buon medico (a causa di una teorizzazione della medicina estremamente semplicistica) con il risultato di aprire l'accesso all'arte medica a una folla di incompetenti.



L'anatomia effettivamente più che alla pratica clinica era utile alla dignità culturale della medicina, ed era utile anche in ambito filosofico, "per insegnare l'arte della natura operante in ogni parte del corpo". Consentendo di descrivere perfettamente il rapporto tra le strutture degli organi e le loro funzioni, l'anatomia costituiva la prova scientifica dell'esistenza di un ordine e di un senso provvidenziale del mondo, offrendo un fondamento certo alle tesi finalistiche che le filosofie potevano argomentare solo retoricamente. L'anatomia quindi poteva costituire "il principio di un teologia rigorosa", ed era quella conoscenza in grado di dare alla medicina un ruolo culturale complessivo, in una società in cui era forte il bisogno di rassicurazione sull'ordine e sul senso del mondo.

Ai razionalisti e dogmatici (Erofilei ed Erasistratei) fedeli alla tradizione della "buona scuola" medica e quindi al primato dell'anatomia, Galeno rimproverava invece la rinuncia a includere nel sapere medico la teoria dei quattro elementi primi della materia (aria, acqua, terra, fuoco) e le qualità corrispondenti ad essi (caldo/freddo, umido/secco). In questo modo essi privavano la medicina del suo fondamento "bio-fisico".

Secondo Galeno dunque unificare la medicina significava ridare orientamento unitario alla professione, cioè omogeneità nella preparazione dei medici, affidabilità delle terapie ed espulsione di ciarlatani e incompetenti; mentre sul piano epistemologico significava costruire il sapere medico su una struttura fondata di teorie coerenti, sul modello delle matematiche.

Si trattava quindi di escludere dal sapere medico il materialismo e i metodici, oltre a riunificare gli empirici, che si riconoscevano nell'eredità ippocratica, con i dogmatici, che si rifacevano all'anatomia alessandrina. Questa alleanza era necessaria anche per una ragione epistemologica, infatti secondo Galeno il sapere medico doveva essere fondato da un lato sull'evidenza razionale, dall'altro su quella empirica.

### La fisiologia di Galeno

Galeno ha tramandato la medicina ippocratica nel senso rinascimentale. Scrisse opere voluminose di filosofia e medicina, di cui restano solo 108 scritti, parte nella stesura originale greca e parte nella versione araba. Nel suo *Sugli elementi secondo Ippocrate* descrive il sistema del filosofo dei "quattro umori corporei", che sono stati identificati con i quattro elementi antichi. Ha poi sviluppato le proprie teorie partendo da quei principi e ignorando completamente le opere (latine) di Celso.

Le teorie di Galeno mettono in evidenza la creazione (in Greco φύσις, physis, "natura") fatta da un singolo creatore. Questa concezione fu un motivo importante che rese le sue teorie facilmente accettabili da studiosi di epoca successiva di formazione religiosa monoteistica: cristiana, musulmana, ebraica. Nell'opera *Il miglior medico è anche filosofo*, sostiene che un buon medico deve eccellere nelle tre principali branche della filosofia: etica, logica, fisica.



L'etica è necessaria perché l'intervento medico non deve avere il fine di produrre il massimo guadagno per chi lo realizza (magari ingannando il paziente). Spesso Galeno invitava i suoi discepoli al disprezzo del denaro.

Il medico deve essere un logico perché deve saper interpretare in maniera coerente i sintomi del paziente, inoltre la padronanza logica è fondamentale per confutare teorie senza fondamento dei colleghi.

L'importanza della conoscenza della fisica deriva dal fatto che a quel tempo le conoscenze di l'anatomia e fisiologia degli esseri viventi venivano percepite senza soluzione di continuità con quelle che riguardavano il cosmo e la terra. Conoscenza della fisica era dunque conoscenza della natura in senso lato. Gli oggetti che ci circondano sono costituiti da una physis; le piante aggiungono physis natura, gli animali una physis anima o psyche.

Sebbene Galeno dichiarò di essere all'oscuro sulla natura o sostanza dell'anima, distingue tre facoltà: razionalità con sede nel cervello, passionalità con sede nel cuore, appetitività con sede nel fegato (quest'impostazione può essere percepita assai vicina a quella odierna per l'importanza che attribuisce al cervello, per la tripartizione delle nostre facoltà, vedi psicologia). Il principio fondamentale di vita era per



lui lo pneuma (dal Greco πνεῦμα, pnèuma, "aria, alito, spirito"). Il sistema fisiologico di Galeno sostiene che il cibo venga assimilato dal corpo sotto forma di chilo (prodotto della digestione) e giunga al fegato per mezzo della vena porta; qui viene trasformato in sangue venoso e impregnato dello spirito naturale. Lo spirito naturale viene dunque portato all'interno di tutto l'organismo per mezzo della circolazione venosa.

Tale circolazione incontrerà ad un certo punto la vena cava che porta il sangue al cuore. Prima di giungere al cuore però il sangue deve essere depurato per cui passa dai polmoni dove viene liberato dalle scorie che porta con sé. Questo sangue ancora venoso, ma depurato, giunge alla parte destra del cuore e continua la sua circolazione venosa; ma una piccola parte passa, attraverso fori invisibili, alla parte sinistra dove incontra il pneuma esterno e si forma così lo spirito vitale. Lo spirito vitale viene portato in tutto l'organismo grazie alla circolazione arteriosa. Una parte del sangue in uscita dalla parte sinistra del cuore giunge al cervello, dove subisce un ulteriore arricchimento grazie allo spirito animale, che è lo spirito più alto e



permette la realizzazione delle funzioni cerebrali indispensabili per la vita dell'individuo.

Lo spirito animale nel cervello controlla movimento, percezione e sensi, lo spirito vitale nel cuore controlla il sangue e la temperatura corporea, mentre lo spirito naturale nel fegato regola alimentazione e metabolismo. Galeno ha accresciuto la sua conoscenza compiendo esperimenti con animali vivi, descritti accuratamente nella sua opera *Procedimenti anatomici*. Uno dei suoi metodi consisteva nel dissezionare pubblicamente un maiale vivo, tagliando consecutivamente le fasce dei suoi nervi finché, tagliato anche il nervo della laringe (ora conosciuto anche come nervo di Galeno), il maiale smetteva di stridere. Legò gli ureteri di animali vivi per mostrare come l'urina provenisse dai reni. Sezionò i midolli spinali per dimostrare la paralisi, e così via.

Come medico dei gladiatori studiò le ferite. Si rese conto che una lesione sui nervi esterni della colonna produce insensibilità nel tronco da quel punto in giù. Alcune delle conoscenze di Galeno sono corrette anche alla luce delle attuali conoscenze scientifiche: dimostrò che le arterie trasportano sangue (non aria, in contrasto con Erasistrato e la tradizione greca antica); effettuò i primi studi sulle funzioni dei nervi, del cervello e del cuore; sostenne inoltre che la mente era situata nel cervello e non nel cuore, a differenza di quanto affermava la tradizione aristotelica. Per quanto riguarda la circolazione sanguigna, capì che i sistemi arterioso e venoso erano intercomunicanti attraverso minuscoli vasi (ἀναστομώσεις, anastomoseis), tuttavia si sbagliò sul cuore ritenendo che il sangue potesse passare direttamente dalla parte destra a quella sinistra (questo modello di circolazione sanguigna verrà superato solo nel XVII secolo con Harvey).

Galeno seziona e viviseziona animali, rilevando le analogie tra la loro fisiologia a quella umana. Nel trattato *Sui semplici*, in ossequio alla tradizione ippocratica che sosteneva che nella natura c'è il rimedio di ogni male, parla di piante aventi funzione curativa anticipando la medicina naturalistica. Il Galenos era una soluzione di alcol ed oppio che aveva effetti analgesici su quasi tutti i mali dell'epoca. Questo preparato aveva effetti collaterali e rese dipendente dall'oppio l'imperatore Marco Aurelio. Galeno non adottò il bendaggio per bloccare le emorragie, ma perorò invece vigorosamente la pratica terapeutica del salasso (in ossequio alla sua teoria umorale) come rimedio ad una grande varietà di patologie.

### La fortuna delle sue teorie

L'autorità di Galeno egemonizzò la medicina, in tutti sensi, fino al XVI secolo. La maggior parte delle opere greche di Galeno sono state tradotte da monaci nestoriani nel centro medico e universitario della sasanide Jundishapur, in Persia. Gli eruditi musulmani le tradussero presto in arabo, assieme a quelle di molti altri classici greci, trasformando la sua opera in una delle fonti principali per la medicina



islamica e per i suoi maggiori esponenti, quali Avicenna e Rhazes. Tali opere raggiunsero dunque l'Europa occidentale sotto forma di traduzione latina dei testi arabi.

I suoi seguaci, nella convinzione che la sua descrizione fosse completa, ritennero inutili ulteriori sperimentazioni e non procedettero oltre negli studi di fisiologia e di anatomia, un campo nel quale i primi cambiamenti si vedranno solo con Vesalio. Saranno proprio le indagini anatomiche di Andrea Vesalio a dimostrare l'inesistenza nell'uomo della rete mirabile, facendo cadere uno dei cardini della sua fisiologia e dando inizio alla confutazione e al superamento del suo impianto teorico. L'avvento della iatrochimica, infine, contribuì ulteriormente al declino della medicina galenica (Con galenica si intende la preparazione di farmaci (il cosiddetto farmaco galenico) e rimedi a partire da droghe grezze o sostanze chimiche e sostanze ausiliarie, allestiti dal farmacista nel laboratorio della farmacia. Il nome proviene da Galeno, il medico antico il cui testo è rimasto a base della scienza medica per secoli).

Galeno si occupò anche di religione. A proposito, ad esempio, di ebrei e cristiani ritiene che essi siano dei filosofi, ma ritiene anche che manchino loro gli strumenti di conoscenza perché non avevano ancora elaborato il contenuto della loro fede.



**CELSO**

**Aulo Cornelio Celso** (in latino: Aulus Cornelius Celsus; 14 a.C. circa – 37 d.C. circa) è



stato un **enciclopedista e medico romano**, probabilmente nativo di Roma, dove fu scoperta una incisione su lastra che lo riguarda, anche se qualche autore sostiene fosse vissuto nella Gallia Narbonense perché cita un tipo di vitigno, marcum che Plinio afferma essere di quella zona.

15

**Biografia**

**Aulo Cornelio Celso**, vissuto probabilmente nel settantennio comprendente l'impero di Augusto e di Tiberio, secondo Plinio non fu medico di professione, ma lui stesso afferma di aver sperimentato tecniche e operazioni di **ambito medico e chirurgico**. Seguì probabilmente, nell'età giovanile, la scuola dei Sestii, che predicava l'astensione dalla vita pubblica e dalla politica. **Profondo conoscitore di Ippocrate ebbe sicuramente contatti con la medicina Alessandrina e con alcuni medici greci trasferiti a Roma**; in particolare, egli stesso riporta la sua grande stima per il grande chirurgo romano Megete e per l'oculista Evilpiade. Contraddittorio il suo rapporto con Asclepiade e il suo allievo Temisone, medici di origine greca, propugnatori di nuove idee su una medicina estranea a quella ippocratica, basata soprattutto sulla dietetica, ma anche su pratiche poco ortodosse e di dubbia efficacia.

**Il De Artibus**

Opera principale di Celso, il *De artibus* è un insieme di trattati riguardanti:

- Agricoltura
- Zoiatria
- Giurisprudenza
- Arte militare
- Filosofia
- Storia
- Medicina

Di tutta questa enciclopedia, **è giunto a noi solamente il trattato sulla medicina, che contiene tutte le conoscenze greche e romane dei suoi tempi riguardo quest'ambito.**



Nel periodo in cui Celso compose questo manuale enciclopedico la letteratura scientifica romana, che si opponeva alla tradizione del poema didascalico, era ancora agli inizi: basti pensare che, prima di Celso, soltanto Vitruvio si inserisce nel filone scientifico. Dimostrando, dunque, grande coraggio, Celso trattò di discipline pratiche assieme a discipline teoriche, ponendosi l'obiettivo di riunire tutto lo scibile in un'unica raccolta, come più tardi venne fatto anche da Plinio il Vecchio nella *Naturalis historia*.

### Il De Medicina

Esso è considerato il primo trattato completo di medicina in latino. Dopo un proemio sulla mitologia e la storia della medicina romana, Celso tratta in otto libri di diverse aree di interesse, dividendo la scienza medica in tre filoni principali: dietetica, farmacologia e chirurgia. Espone le sue conoscenze di semeiotica e igiene (libri I), dietetica (libro II), medicina interna (libro III e IV), farmacologia (libro V e VI) e chirurgia (libro VII e VIII). Nel testo compaiono numerosi esempi di sintomi, terapie e casi clinici che, sebbene non dimostrino una sua sicura appartenenza alla professione medica, sono prova della sua conoscenza profonda dei testi greci e della sua frequentazione dei valetudinaria.

### Stile e fortuna

Chiamato anche il "Cicerone della medicina", Celso utilizza un latino elegante e semplice, lodato anche da Quintiliano. Questa sua caratteristica, unita alla possibilità di apprendere in latino un'arte che tradizionalmente era tramandata in greco, provocò una grande diffusione della sua opera, tanto da dominare con la sua autorità la didattica medica romana fino all'arrivo di Claudio Galeno. Rimasto pressoché ignoto durante il Medioevo, il *De Medicina* fu riscoperto tra il 1425 e il 1427 e pubblicato a stampa per la prima volta nel 1478.



## STUDI DI ANATOMIA PATOLOGICA

L'**anatomia patologica** è una **branca specialistica dell'anatomia e della patologia che studia le malattie umane mediante esame macroscopico degli organi o microscopico dei tessuti e delle cellule. Suo fondatore è generalmente considerato, in età moderna, il medico forlivese Giovanni Battista Morgagni.**

In ambito clinico l'anatomia patologica svolge un ruolo fondamentale per la pianificazione di eventuali terapie mediche o chirurgiche fornendo diagnosi su tessuti o cellule prelevate da pazienti in cui si sospetta una malattia. L'indagine anatomopatologica permette di distinguere tra tessuti normali, infiammazione, tumori benigni e maligni e altre condizioni patologiche.

### Attività principali

#### Riscontro diagnostico (autopsia)

L'autopsia è una indagine post mortem, cioè eseguita sul cadavere, il cui fine è quello di chiarire la causa di morte ovvero la comprensione del **decorso di una malattia.** Tale pratica è un'attività relativamente poco frequente nella routine anatomopatologica ed è usata soprattutto dopo una morte per ragioni non spiegate o comunque quando il medico o l'autorità ne fanno esplicita richiesta. **Viene pure usata nel sospetto di malattia infettiva diffusiva.** La pratica autoptica rappresenta altresì un importante controllo della qualità medica-assistenziale di una struttura ospedaliera.



#### Biopsia

La biopsia è un atto medico che consiste in un prelievo di tessuti da un paziente in cui si sospetta una malattia. Il fine della biopsia è la diagnosi anatomopatologica, **fondamentale per le eventuali successive terapie mediche o chirurgiche.** La diagnosi viene posta mediante osservazione al microscopio di sottili sezioni di tessuto trattate con colorazioni istologiche routinarie (ematossilina eosina) o usando metodi speciali (istochimica e immunoistochimica) o mediante la microscopia elettronica.

#### Esame intraoperatorio

L'esame istologico o citologico intraoperatorio (estemporanea, congelatore, criostato) è l'esame condotto su tessuti prelevati durante un intervento chirurgico al fine di chiarire la diagnosi della malattia nel caso in cui questa non sia già stata posta in precedenza o nel caso in cui siano emersi, durante l'intervento, nuovi quesiti



**diagnostici.** La diagnosi anatomopatologica intraoperatoria può esitare in una modifica dell'intervento chirurgico.

### Citologia

La citologia è lo studio morfologico di cellule isolate prelevate da organi solidi o cavi mediante tecniche di agoaspirazione, lavaggio, spazzolamento o per esfoliazione. La citologia può essere di tipo diagnostico, se si sospetta già una malattia (ad es. citologia della tiroide, linfonodo, mammella, fegato, polmone, urina, liquor, liquidi di versamento delle cavità sierose) o di screening, se viene eseguita su persone apparentemente sane al fine di prevenire la possibile comparsa di una malattia (es. pap test). Il vantaggio principale della citologia rispetto alla biopsia è la minore invasività e quindi la migliore tollerabilità per il paziente. La citologia presenta tuttavia solitamente una minore sensibilità e specificità diagnostica della biopsia.

18

### Patologia molecolare

La patologia molecolare consiste nell'applicazione a fini diagnostici di tecniche di biologia molecolare. Le tecniche di patologia molecolare sono spesso caratterizzate da una altissima sensibilità e specificità, ma sono frequentemente complesse e costose. Esempi di patologia molecolare sono l'evidenziazione del DNA del micobatterio tubercolare (TBC) o del virus del papilloma umano (HPV) in biopsie o citologie. L'analisi molecolare di alcuni tumori (ad es. linfomi) può permettere un più facile riconoscimento e caratterizzazione della neoplasia.



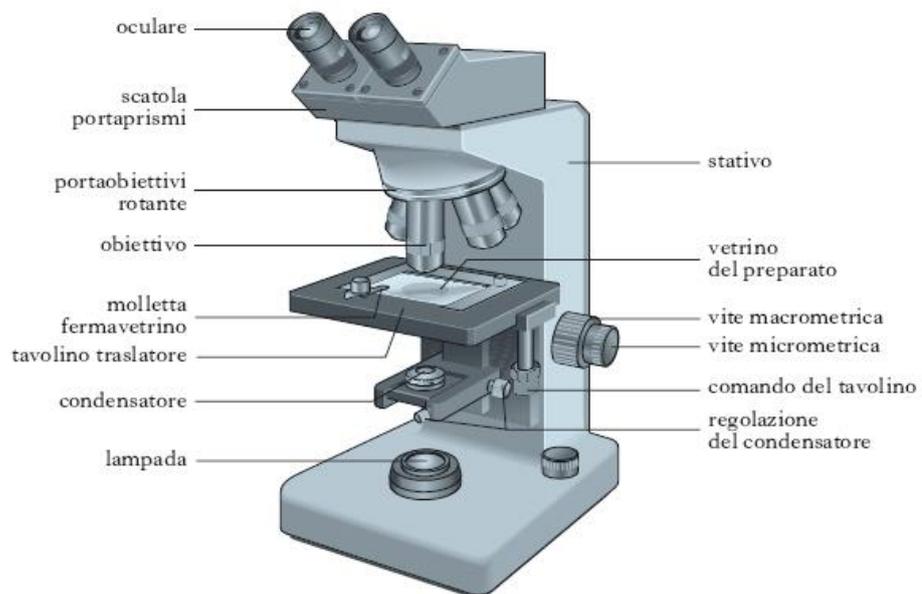
## SCOPERTA DEL MICROSCOPIO (Galileo-Antoni Van Leeuwenhoek e Robert Hooke)

Il **microscopio** (dal greco: μικρόν mikrón "piccino" e σκοπεῖν skopéin "guardare") è uno strumento che consente di ingrandire gli oggetti di piccole dimensioni. Permette di risolverne i dettagli e quindi permette una osservazione diretta ad occhio nudo (o indiretta tramite fotografia e/o altri sistemi elettronici). Il microscopio può essere di tipo ottico, basato sull'osservazione diretta dello spettro elettromagnetico visibile, oppure elettronico, basato sull'osservazione tramite fasci di elettroni, o a scansione di sonda, basato sull'esplorazione della superficie del campione con una sonda materiale, oppure di altro tipo.

I primi strumenti efficaci, nell'ambito dei microscopi di tipo ottico, vennero prodotti nei Paesi Bassi alla fine del XVI secolo, ma l'invenzione vera e propria è tuttora controversa. Galileo ne inviò uno di sua costruzione al principe Federico Cesi, fondatore dell'Accademia dei Lincei, per mostrargliene il funzionamento. Galileo definiva lo strumento un "occhialino per vedere le cose minime". Tra i primi scienziati ad utilizzare, diffondere e migliorare l'uso di questo potente strumento, a

partire dal XVII secolo, si ricordano Antoni van Leeuwenhoek, Robert Hooke e Michela Campana, Bartolomeo Panizza.

Quest'ultimo ebbe il merito di istituire il primo corso di anatomia microscopica in Italia.



### Caratteristiche generali

#### Potere di risoluzione

La risoluzione laterale di un microscopio è quella minima distanza tra due punti, che permette ancora di distinguerli; se la distanza tra i due punti è minore, essi si confondono in uno solo. Nel caso che lo strumento si basi sull'utilizzo di radiazione con una propria lunghezza d'onda associata, come i tradizionali microscopi ottici, risoluzione e lunghezza d'onda utilizzata sono parametri tra loro strettamente



correlati. Microscopi che si basano su diverse tecnologie, come ad esempio l'AFM, ovviamente rispondono a considerazioni differenti.

In prima approssimazione, e non tenendo conto di aberrazioni ottiche, possiamo considerare che la relazione che lega la risoluzione laterale ( $d$ , ovvero la distanza tra due punti tra loro risolti), la lunghezza d'onda della radiazione utilizzata e l'apertura numerica di un sistema ottico (tutto il sistema) sia:

$$d = 0,6098 \frac{\lambda}{A_N}$$

Questa relazione è generalmente nota come *principio di Abbe*.

Per un microscopio ottico in luce visibile,  $d$  raggiunge i 0,2  $\mu\text{m}$ ; il microscopio elettronico giunge a 0,1 nm.

Il potere risolutivo è il reciproco della risoluzione laterale.

### Ingrandimento

Si definisce tale il rapporto tra le dimensioni dell'immagine ottenuta e quelle dell'oggetto originale. L'ingrandimento lineare o angolare (da non confondersi con quello areale o di superficie, alle volte utilizzato), in caso di microscopi composti è dato da:

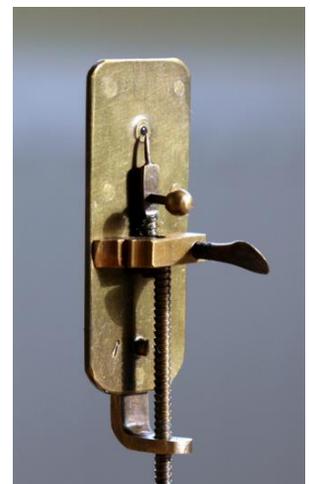
$$MA = M_o \times M_e$$

Dove  $M_o$  è l'ingrandimento dell'obiettivo, dipendente dalla sua lunghezza focale  $f_o$  e dalla distanza  $d_i$  tra il piano focale posteriore dell'obiettivo e il piano focale dell'oculare, ed  $M_e$  quello dell'oculare.

$$M_o = \frac{d_i}{f_o}$$

viene chiamato anche *lunghezza ottica* del tubo, fissa, e nei moderni strumenti ottici generalmente di 160 mm. Da notare che gli obiettivi devono essere progettati per una data lunghezza ottica di utilizzo (riportata sull'obiettivo stesso). In passato era abbastanza diffusa la misura 170 mm, mentre attualmente ha preso piede la progettazione di sistemi corretti all'infinito. Anche l'ingrandimento oculare dipende dalla sua lunghezza focale  $f_e$  e può essere calcolato dalle normali equazioni delle lenti di ingrandimento.

Quindi, per calcolare l'ingrandimento al quale si osserva un campione, si moltiplica quello proprio dell'obiettivo per quello dell'oculare. Tale ingrandimento è quello dell'immagine visibile, idealmente riportata sul piano in cui giace il campione stesso, e cioè alla distanza tra quest'ultimo e l'occhio dell'osservatore. Diversa è la situazione se l'immagine viene raccolta su di uno schermo o una lastra fotografica: in questo caso è necessario tenere conto dell'altezza dello schermo (o pellicola) rispetto all'oculare e l'ingrandimento sarà quello risultante sul negativo.



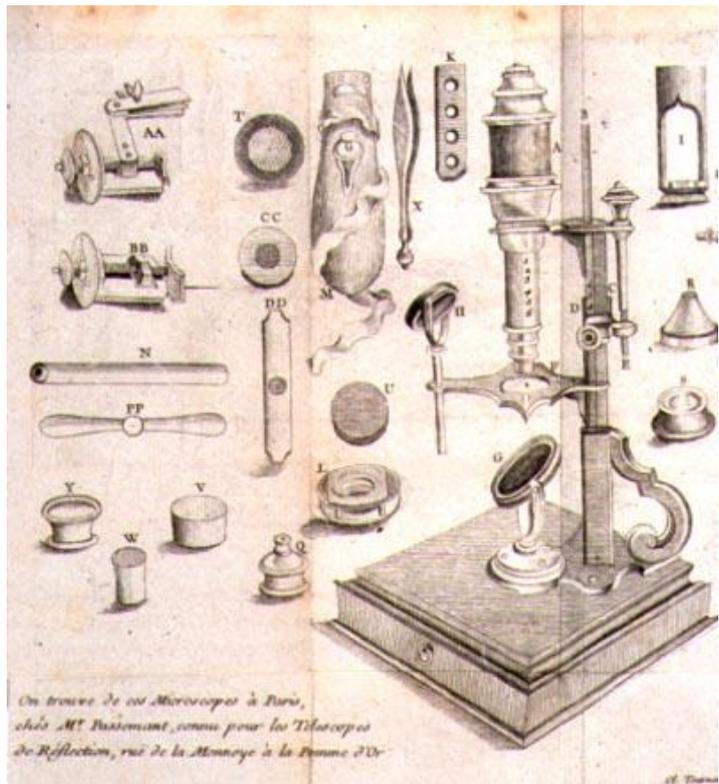
In questi casi conviene sempre usare un vetrino micrometrico, per avere un sicuro termine di paragone. Con i migliori obiettivi ed oculari e nelle ideali condizioni di illuminazione l'ingrandimento utile, senza perdita di risoluzione, del microscopio ottico può raggiungere i 1000 - 1500 diametri (1000 - 1500×).

Aumentando il tiraggio del tubo o proiettando l'immagine su di uno schermo lontano, si potrebbero raggiungere ingrandimenti molto maggiori, ma il potere risolutivo che, come abbiamo visto sopra, è funzione della lunghezza d'onda della luce visibile, non ne sarebbe in alcun modo incrementato.

## Aberrazioni

Le principali aberrazioni, difetti del sistema nel formare un'immagine nitida e risolta, che affliggono i microscopi, e le loro eventuali correzioni si possono riassumere in:

- Aberrazione sferica--> sistemi asferici
- Aberrazione cromatica--> sistemi acromatici --> sistemi apocromatici
- Astigmatismo dei fasci obliqui--> sistemi anastigmatici
- Coma--> sistemi asferici
- Curvatura di campo
- distorsione a cuscino e barilotto --> sistemi asferici



A seconda della branca di microscopia considerata, tali difetti saranno più o meno rappresentati. Ad esempio, utilizzando radiazione di una sola lunghezza d'onda, non avremo aberrazioni di tipo cromatico.

## Costituenti

Il microscopio è formato da una parte meccanica, strutturale e una parte tradizionalmente chiamata ottica, funzionale.

### Parte meccanica

La parte meccanica deve essere robusta e relativamente pesante per consentire la necessaria stabilità al sistema. Lo stativo rappresenta il corpo principale del microscopio ed ha la funzione di fare da supporto ai meccanismi di movimento e di messa a fuoco ed alla parte ottica.



La parte meccanica del microscopio alloggia anche il sistema di illuminazione, in caso di sistemi con illuminazione incorporata. Il preparato da osservare si pone sul tavolino portaoggetti, dotato di un carrello traslatore per mezzo del quale il preparato può essere spostato agevolmente eventualmente con movimenti meccanici micrometrici nelle direzioni destra-sinistra e avanti-indietro. Al di là del tavolino portaoggetti, verso l'illuminazione si trova un supporto meccanico che ospita il condensatore ed il diaframma di apertura. Ancora oltre, prima dell'illuminatore, si trova il diaframma di campo. Il microscopio deve essere dotato di un sistema molto accurato di messa a fuoco sia del preparato che del sistema di illuminazione. Il tavolino portaoggetti viene spostato verticalmente rispetto all'obiettivo tramite i comandi di messa a fuoco macrometrici e micrometrici (o alternativamente si può spostare l'ottica rispetto al tavolino). Il condensatore focalizza correttamente l'illuminazione sul preparato, il collettore focalizza la sorgente luminosa in un particolare piano ottico del condensatore.



### Parte funzionale

La parte funzionale, in genere chiamata ottica per gli strumenti basati sull'utilizzo della luce, è formata da tre o quattro sistemi di lenti e dalla sorgente, che, nei sistemi composti a radiazione trasmessa, partendo dalla base del microscopio, sono:

- la sorgente;
- il collettore della sorgente o condensatore di campo, col diaframma di campo;
- il condensatore con il diaframma di apertura;
- l'obiettivo;
- l'oculare.

L'eventuale parte di microscopio, nella quale vanno inseriti gli obiettivi multipli, che possono essere scelti in base all'ingrandimento voluto, si chiama revolver.

### Tipologie

I microscopi si dividono sommariamente, a seconda del sistema adoperato per indagare il campione, in **microscopi ottici, microscopi elettronici, microscopi a scansione di sonda, microscopi binoculari da dissezione, microscopi di altro tipo:**

- Il microscopio ottico utilizza come sorgente la luce, intesa in senso generale come radiazione elettromagnetica dal vicino infrarosso all'ultravioletto, anche se i microscopi più diffusi utilizzano proprio la radiazione visibile, ha



risoluzione tipicamente minore rispetto al microscopio elettronico, ma è generalmente economico e fornisce immagini a colori anche di organismi viventi. Con il microscopio ottico si possono ad esempio distinguere i batteri. Una descrizione a sé merita tuttavia lo SNOM (*Scanning Near-Field Optical Microscope*), descritto in seguito, che permette di raggiungere risoluzioni fino a 200 nm. In pratica migliora la visione a occhio nudo di 500 volte.

- Il microscopio elettronico a trasmissione (**TEM**) utilizza come sorgente un fascio doppio di elettroni di un certo potenziale, ha risoluzione molto maggiore di quello ottico e permette di rilevare, oltre all'immagine, anche numerose altre proprietà fisiche del campione, ma è molto complesso e costoso, deve funzionare in assenza d'aria, inoltre non fornisce immagini in vivo. Le immagini, ottenute al di fuori del campo del visibile, possono essere in bianco e nero o a *falsi colori*. Permette con i maggiori ingrandimenti di distinguere gli atomi. È quasi mille volte più potente del microscopio ottico ed ha una risoluzione che si spinge, in casi estremi, fino a 0,05 nanometri.
- Il microscopio a scansione di sonda (**SPM**) esplora il preparato in maniera analoga a quello che fa una puntina grammofonica, basandosi su diversi fenomeni fisici di scala molecolare e atomica come l'effetto tunnel e le forze di Van der Waals. Ha una risoluzione limitata, di 10 nm, ma permette rappresentazioni tridimensionali di cellule e di strutture cellulari.
- Altri tipi di microscopi sfruttano diverse radiazioni, le onde acustiche e differenti fenomeni fisici.

### Microscopio ottico

I microscopi ottici, che utilizzano le lunghezze d'onda della luce visibile, sono i più semplici e quelli di più comune utilizzo. Sono costituiti da un sistema di lenti adatto a focalizzare la luce nell'occhio o in un altro dispositivo rivelatore. L'ingrandimento tipico dei microscopi ottici, all'interno dello spettro di luce visibile, è fino a 1500x, con un limite di risoluzione teorica di circa 0,2  $\mu\text{m}$ . Tecniche più sofisticate, come la microscopia confocale a raggio laser o la vertico SMI, possono superare questo limite di ingrandimento, ma la risoluzione è limitata dalla diffrazione. L'utilizzo di lunghezze d'onda più piccole, come l'ultravioletto, è un modo per migliorare la risoluzione spaziale del microscopio ottico, così come la microscopia ottica in campo prossimo (SNOM).



### Microscopio a raggi X

Tale microscopio è basato sull'utilizzo di radiazioni X molli, come radiazioni sincrotroniche. A differenza della luce visibile, i raggi-X non si riflettono né si rifrangono facilmente, e sono invisibili per l'occhio umano, ponendo diversi problemi tecnologici. La risoluzione è intermedia tra il microscopio ottico ed elettronico, ma con diversi vantaggi nell'osservazione delle strutture biologiche.

Viene utilizzato anche per studiare le strutture di molecole e ioni presenti all'interno della cellula mediante analisi delle figure di diffrazione analogamente alla cristallografia a raggi X. Quando i raggi emessi attraversano le strutture cellulari subiscono delle diffrazioni che verranno impresse su una lastra fotografica, apparendo come delle sfocate bande concentriche. Dalla analisi della differente disposizione di tali bande si potrà determinare la distribuzione atomica delle molecole all'interno dei tessuti analizzati.



### Microscopi elettronici e ionici

Il **microscopio elettronico** "illumina" i campioni in esame, invece che con un fascio di luce visibile, con un fascio di elettroni, di lunghezza d'onda quindi più breve, e per il principio di Abbe permette di ottenere immagini con una **risoluzione maggiore**. Al contrario dei microscopi ottici utilizzano lenti magnetiche per deviare i fasci di elettroni (cariche elettriche in movimento, quindi sensibili al campo magnetico) e quindi ingrandire le immagini.

I microscopi elettronici sono molto costosi, **devono operare in assenza d'aria (sottovuoto)**, in assenza di vibrazioni e di campi magnetici. Inoltre, hanno bisogno di correnti a tensioni molto elevate (almeno 5kV) e molto stabili.

Per il medesimo principio di Abbe, diminuendo ulteriormente la lunghezza d'onda e utilizzando sempre particelle cariche, si possono avere strumenti con risoluzioni maggiori, utilizzando ad esempio ioni.

### Microscopio elettronico a scansione (SEM)

Il **microscopio elettronico a scansione**, al contrario di quello a trasmissione, **ricava l'immagine illuminando con un fascio di elettroni un oggetto anche relativamente grande (un insetto per esempio) e rilevando gli elettroni secondari riflessi**, e può quindi fornire immagini 3D. Può analizzare solo oggetti conduttori o semiconduttori. Gli oggetti organici devono quindi essere prima rivestiti con una sottile lamina metallica. Questo strumento ha la necessità di operare in condizioni di vuoto elevato: per questo è stato sviluppato il microscopio elettronico ambientale a



scansione che, libero da questo vincolo, è in grado di analizzare campioni di materiale organico controllando e modificando a piacimento le condizioni di temperatura, pressione ed umidità.

### Microscopio elettronico a trasmissione (TEM)

Il **microscopio elettronico a trasmissione** fa attraversare un campione molto sottile (da 5 a 500 nm) da un fascio di elettroni, quindi con un insieme di magneti (che funzionano come le lenti del microscopio ottico) ingrandisce l'immagine ottenuta che viene infine proiettata su uno schermo fluorescente rendendola visibile. Dà immagini della struttura **interna** dell'oggetto esaminato, al contrario del SEM che ne dà solo la superficie, ma permette di ottenere solo immagini 2D. Raggiunge i nanometri, permettendo di vedere anche le molecole più piccole.

Ulteriori miglioramenti hanno prodotto l'HRTEM (*High-Resolution Transmission Electron Microscope*), col quale è stato possibile distinguere i singoli atomi di litio in un composto.

### Microscopio elettronico ad emissione di campo

All'interno di un bulbo di vetro è fatto il vuoto. La superficie del bulbo è ricoperta da una patina fluorescente, mentre al centro è contenuta una punta di tungsteno dal diametro molto piccolo. Tra la punta e la superficie del bulbo è presente una differenza di potenziale molto alta, in modo che nei punti prossimi alla punta esista un campo elettrico molto intenso (si raggiungono valori nell'ordine dei milioni di volt al centimetro). Se la punta è carica negativamente gli elettroni di essa vengono strappati dal campo elettrico e accelerati radialmente verso lo schermo: dall'immagine ottenuta si può ricostruire la disposizione degli atomi della punta stessa con una risoluzione di circa 25 Å. L'incertezza è dovuta ad effetti di diffrazione quantistica e al moto disordinato degli elettroni, le cui velocità mantengono quindi



componenti non radiali anche dopo l'estrazione. Nel caso in cui, invece, all'interno del bulbo sia iniettato dell'elio e la punta sia caricata positivamente sono le molecole di gas (ionizzato in prossimità della punta) ad essere accelerate verso lo schermo. Siccome questi ioni sono molto più pesanti degli elettroni la lunghezza d'onda quantistica è decisamente ridotta e la risoluzione dello strumento è di circa 1 ångstrom. L'immagine prodotta sullo schermo presenta quindi chiazze scure (in prossimità degli interstizi tra due atomi) e tracce dell'arrivo delle molecole di elio (ionizzate dai nuclei). Si sono raggiunti ingrandimenti pari a 2000000x (10 volte maggiori rispetto al microscopio a scansione per effetto tunnel).



### Microscopio ionico

Il microscopio ionico si colloca sulla stessa linea teorica che permette di passare dal microscopio ottico al microscopio elettronico, ma utilizzando fasci di ioni invece che di elettroni; ricordando poi la relazione fondamentale della meccanica ondulatoria:

$$\lambda = \frac{h}{mv}$$

esposta da de Broglie nel concetto di dualismo onda-particella, è evidente che, aumentando la massa  $m$  delle particelle illuminanti il campione, diventa possibile lavorare con lunghezze d'onda associate minori, che consentono quindi, per il principio di Abbe, risoluzioni ancora maggiori.

Un esempio di microscopio ionico è dato dallo SHIM, acronimo di *Scanning Helium Ion Microscope*.

### Microscopi a scansione di sonda (SPM)

Il microscopio a scansione di sonda (SPM) esplora il preparato in maniera analoga a quello che fa una puntina grammofonica, basandosi su diversi fenomeni fisici di scala molecolare e atomica come l'effetto tunnel e le forze di Van der Waals. Ha una risoluzione limitata, di 10 nm, ma permette rappresentazioni tridimensionali di cellule e di strutture cellulari.

### Microscopio a scansione per effetto tunnel (STM)

Questo particolare tipo di microscopio consente di analizzare la superficie di un campione conduttore o semiconduttore drogato utilizzando, come sensore, una punta cresciuta su di un cristallo singolo di tungsteno e rastremata alla sommità fino allo spessore di qualche atomo: a questa punta, posta ad una distanza molto ravvicinata dal campione, viene applicato un piccolo potenziale (ad esempio dell'ordine del volt) rispetto al campione. Quando la punta è sufficientemente vicina al campione una corrente fluisce dalla punta verso il campione (o viceversa) per effetto tunnel elettronico. Poiché la corrente, a parità di tensione applicata, varia con la distanza della punta dalla superficie del campione, tramite un processo di retroazione è possibile mantenere costante tale corrente (o distanza), muovendo la punta sull'asse ortogonale alla superficie del campione con la precisione garantita da un attuatore piezoelettrico. Effettuando una scansione su tutta la superficie del campione e registrando punto per punto i valori della corrente, è possibile ricostruirne un modello tridimensionale. Mediante tale tecnica, si riesce a raggiungere precisioni molto elevate, fino a 1 Å.



### Microscopio ottico a scansione in campo prossimo (SNOM)

La microscopia ottica è stata la prima a nascere ed ancora oggi è la più popolare ed usata per via della sua semplicità ed immediatezza nell'interpretazione dei risultati. Il limite principale di questo tipo di microscopia sta nella risoluzione massima ottenibile che è strettamente legata alla diffrazione. Il cosiddetto criterio di Abbe limita infatti la risoluzione massima a circa  $0.5 \lambda / (n \sin \theta)$  per un sistema ottico avente apertura numerica  $n \sin \theta$ , che impieghi luce di lunghezza d'onda  $\lambda$ .

Per luce nello spettro visibile essa si attesta sui  $0.2 \div 0.4 \mu\text{m}$ , circa due ordini di grandezza più grande rispetto alle tecniche di microscopia moderne non ottiche. Nel 1928 E. H. Synge, in una discussione con Albert Einstein, propose lo schema di un nuovo microscopio, il microscopio ottico a scansione in campo prossimo, SNOM (*Scanning Near-Field Optical Microscope*), che superava il limite di diffrazione collocato: il campione doveva essere illuminato attraverso una piccolissima apertura avente dimensioni molto minori della lunghezza d'onda della luce impiegata, posta a distanze  $z \ll \lambda$  dalla sua superficie, nel cosiddetto campo prossimo (*near-field*); la luce raccolta da sotto il campione (nel *far-field*) contiene informazione relativa ad una piccola porzione di superficie delle dimensioni dell'apertura di illuminazione.

I primi a superare il limite di diffrazione usando luce visibile furono Pohl e altri all'IBM di Zurigo sfruttando parte della tecnologia già adoperata nel microscopio a scansione ad effetto tunnel (STM); usando radiazione a  $\lambda = 488 \text{ nm}$  ottennero risoluzioni di  $25 \text{ nm}$  ovvero di  $\lambda/20$ . L'illuminazione del campione veniva fatta focalizzando la luce di un laser su un cristallo di quarzo appuntito che guidava la luce nella parte terminale ricoperta da un film di alluminio che presentava un'apertura di qualche decina di nm dalla quale fuoriusciva la luce. Le sonde utilizzate oggi sono delle fibre ottiche monomodo appuntite con un'apertura terminale di  $50 \div 150 \text{ nm}$  e ricoperte da un sottile strato di alluminio, che serve a convogliare una maggiore quantità di luce sull'estremità per effetto punta. Le punte vengono prodotte stirando le fibre con delle apposite *micropipette pullers*, riscaldando il punto dove si vuole *rompere* mediante il fascio focalizzato di un laser a  $\text{CO}_2$ ; altre tecniche di attacco chimico di fibre ottiche in HF, consentono di formare strutture appuntite di geometria variabile e controllata.

Un film di alluminio (tipicamente uno spessore di  $1000 \text{ \AA}$ ) viene depositato per evaporazione sulla fibra in rotazione attorno al suo asse, angolata di circa  $30^\circ$  rispetto all'orizzontale, in modo da lasciare un'apertura non ricoperta di diametro variabile dai  $20$  ai  $500 \text{ nm}$ . L'impiego di punte metalliche (oro, argento) con raggi di curvatura apicali dell'ordine dei  $10 \text{ nm}$ , consente di raggiungere risoluzioni spaziali sub- $10 \text{ nm}$  nello spettro visibile. L'effetto fisico alla base di questo tipo di sonde è l'amplificazione di campo (*field enhancement*), legata da un lato alla geometria della sonda (punta, effetto parafulmine), dall'altro alle proprietà elettroniche dei



materiali (oscillazioni collettive di elettroni, *surface plasmons*) che consentono di ottenere fattori di *enhancement* fino a  $10^6$ .

### Microscopio a forza atomica (AFM)

Il microscopio a forza atomica permette di effettuare analisi non distruttive di superfici, con una risoluzione inferiore al nanometro. Una sonda di dimensioni dell'ordine del micrometro, detto *cantilever*, esplora la superficie da analizzare a brevissima distanza da essa (circa 1 nanometro = anche a 10 Ångström). Interagendo con gli atomi del campione, per effetto delle forze di Van der Waals, subisce microscopiche deflessioni che, attraverso sensibilissimi dispositivi (leva ottica ed altri), vengono tradotte nei dettagli di un'immagine topografica tridimensionale della superficie del campione. Rispetto allo *Scanning Electron Microscope* (SEM) e allo *Scanning Tunnelling Microscope* (STM), il microscopio a forza atomica ha il vantaggio di consentire analisi non distruttive, su campioni non trattati e di adattarsi anche a campioni di materiale non conduttore fornendone una reale mappa tridimensionale, a fronte di un'area ed una profondità di scansione limitate e di un tempo necessario all'indagine relativamente lungo. Tipicamente viene impiegato per esaminare macromolecole biologiche, parti di microorganismi, dispositivi a semiconduttore.



### Altre tipologie di microscopio

#### Microscopio acustico

Si tratta d'uno strumento che impiega frequenze ultrasoniche. Opera non distruttivamente, penetrando molti solidi al pari d'un ecografo. Il microscopio acustico risale al 1836, quando S. Ya. Sokolov lo propose come mezzo per produrre immagini ingrandite a mezzo di frequenze acustiche di 3 GHz. Fino al 1959, quando Dunn Fry effettuò i primo prototipi, non fu possibile costruirne alcuno. Strumenti di reale utilità applicativa arrivarono solo negli anni settanta. Attualmente sono tre le tipologie di strumenti usati:

- microscopio a scansione acustica (SAM)
- microscopio a scansione laser acustica (SLAM)



- microscopio a scansione acustica in modalità C (C-SAM), il tipo più diffuso.

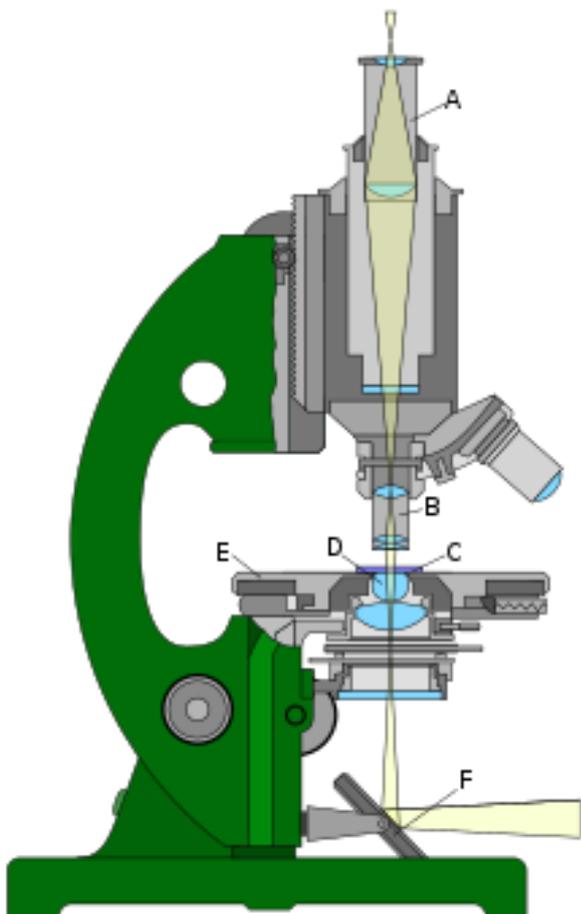
I campi d'applicazione spaziano dagli utilizzi tecnologici nei controlli di qualità di elementi meccanici ed elettronici, fino ad indagini di biologia cellulare, investigando comportamento meccanico e caratteristiche di strutture quali il citoscheletro.

### Microscopio confocale + forza atomica + riflessione interna totale in fluorescenza

I laboratori di nanoscienze NNL del CNR hanno realizzato un microscopio che nasce dall'unione di tre strumenti: un microscopio confocale laser per studiare il volume (vista dall'esterno), un microscopio a forza atomica per visualizzare i dettagli della superficie (vista dall'alto), e un microscopio a riflessione interna totale in fluorescenza, che mostra come la cellula aderisce al supporto.

Il microscopio permette una visione quanto mai completa della cellula, oltre a misurare l'elasticità della membrana cellulare, importante *marker*, che lo rende utile nella diagnosi del tumore.

Ogni strumento è capace di raggiungere risoluzioni di miliardesimi di metro. Una delle prime applicazioni sarà il test della somministrazione cellulare selettiva di antitumorali mediante nanocapsule.



Microscopio ottico composto monoculare del tipo più semplice, rappresentato schematicamente; percorso del fascio luminoso ed elementi ottici strutturali in evidenza.

La messa a fuoco, cioè la variazione della distanza preparato/obiettivo, si attua spostando il tubo ottico.

Illuminazione esterna allo strumento.

- A - Oculare;
- B - Obiettivo;
- C - Preparato;
- D - Condensatore;
- E - Tavolino portaoggetti;
- F - Specchio.



CORSO DI MEDICINA

1<sup>a</sup> lezione

**APPUNTI**





CORSO DI MEDICINA  
1<sup>a</sup> lezione

32

**Corso di Medicina 2018**

A cura di  
*Dott. Giuliano Vella*

