ISTITUTO LOMBARDO
ACCADEMIA di SCIENZE e LETTERE



Rendiconti

CLASSE DI SCIENZE MATEMATICHE E NATURALI

Vol. 155
(2021)

Istituto Lombardo
Accademia di Scienze e Lettere

MILANO
pISSN 1974-6989
eISSN 2384-986X

ISTITUTO LOMBARDO ACCADEMIA di SCIENZE e LETTERE

RENDICONTI

CLASSE DI SCIENZE MATEMATICHE E NATURALI

Vol. 155
(2021)

Istituto Lombardo Accademia di Scienze e Lettere

MILANO

ISTITUTO LOMBARDO ACCADEMIA DI SCIENZE E LETTERE

RENDICONTI

CLASSE DI SCIENZE MATEMATICHE E NATURALI

Comitato di Presidenza e di Redazione
Stefano Maiorana
Cinzia Bearzot
Carlo Enrico Bottani (Responsabile scientifico)
Paolo Mazzarello

Direttore Responsabile
Rita Pezzola

Pubblicato con il contributo di:
Politecnico di Milano
Università Cattolica del Sacro Cuore, Milano
Università Commerciale L. Bocconi, Milano
Università degli Studi dell'Insubria, Varese
Università degli Studi di Milano
Università degli Studi Milano-Bicocca
Università degli Studi di Pavia

Associato all'Unione Stampa Periodica Italiana

pISSN 1974-6989
eISSN 2384-986X
Copyright 2021

PAGEPress Publications
via A. Cavagna Sangiuliani, 5
27100 Pavia, Italy
T. +39.0382.1549020
F: +39.0382.1727454

L'ANALISI CHIMICA INCONTRA L'ARTE E L'ARCHEOLOGIA: UNA STORIA LUNGA DUE SECOLI

Nota del s.c.n.r. SILVIA BRUNI (*)

(Adunanza del 21 gennaio 2021)

SUNTO. – L'idea di applicare i metodi di analisi chimica ai materiali artistici ed archeologici nasce e si sviluppa con la chimica come scienza moderna, con esempi illustri che risalgono addirittura agli inizi del XIX secolo. L'esigenza di ridurre l'invasività delle metodiche nei confronti dei manufatti, da subito evidente, ha trovato un riscontro nei due secoli successivi grazie allo sviluppo di nuove tecniche analitiche, in particolare di tipo spettroscopico, che hanno reso possibile effettuare le analisi nel luogo stesso di conservazione delle opere. È stato altresì presto sottolineato che a questo tipo di indagini è richiesto di non ridursi a mero esercizio accademico e di avere la capacità di fornire risposte precise ai quesiti di coloro che delle opere si occupano, per ragioni di studio, conservazione o restauro. Tale capacità è certamente potenziata dalla sinergia tra l'acquisizione del dato sperimentale e l'esame delle fonti coeve all'opera, di incalcolabile importanza per l'interpretazione e la validazione del dato. Occorre infine ricordare che il parallelo sviluppo della scienza chimica ha portato all'introduzione di nuovi materiali di natura sintetica (ad esempio pigmenti e materie plastiche), di cui in breve tempo anche gli artisti si sono appropriati. Se da un lato il riconoscimento in un'opera di un materiale di cui è nota con esattezza la data della prima sintesi o della messa in commercio offre un interessante strumento di datazione "post quem", è indubbio che la varietà di tali materiali presenta ai conservatori delle opere d'arte contemporanea nuove sfide associate al loro possibile degrado, per affrontare le quali il riconoscimento della natura chimica dei componenti riveste sicuramente significativa importanza.

***

ABSTRACT. – The first examples of the application of analytical chemistry methods to artis-

(*) Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Milano, Italy.
E-mail: silvia.bruni@unimi.it

tic and archaeological materials date back to the beginning of the 19th century and follow the evolution of chemistry as a modern science. It was immediately evident that such methods had to be less invasive as possible towards the artefacts. This need was met in the next two centuries by the development of new analytical techniques, especially spectroscopic ones, that make it possible to investigate a work of art directly in its place of conservation. It was also soon highlighted that the interest of such investigations cannot be purely academic, as they should provide precise answers to scholars, conservators or restorers dealing with those works. This ability is certainly enhanced by the synergy between the acquisition of experimental data and the examination of sources contemporary to the artefact, of incalculable importance for the interpretation and validation of data themselves. Finally, it should be noted that the parallel evolution of chemistry as a science led to the introduction of new synthetic materials (such as pigments or plastics), that artists also began to use in a short time. Of course, when a material, whose date of first synthesis or commercialization is well known, is recognised in a work of art, an indirect "post quem" dating of the work is made possible. On the other hand, however, the variety of new materials poses to conservators of contemporary cultural heritage unusual challenges related to their possible degradation, and the identification of their chemical components can certainly be of great help in addressing these challenges.

1. Dal "pioniere" Humphry Davy (1778-1829) ai giorni nostri

È il 1813 quando il chimico inglese Humphry Davy parte per un viaggio in Europa, una sorta di Grand Tour, con la moglie e un giovane assistente anch'egli destinato alla fama, Michael Faraday. Prima di quella data, Davy aveva già portato un significativo contributo alla nascita della moderna elettrochimica ed aveva scoperto numerosi elementi, quali sodio, potassio, calcio, bario, magnesio, stronzio e cloro [1,2]. Nel corso del viaggio, avendo ammirato i dipinti murali dell'antica Roma e di Pompei, i cui pigmenti erano stati descritti da Teofrasto, Plinio ed altri autori, ma di cui mai si era accertata la reale composizione chimica, sviluppò il desiderio di compiere esperimenti a tale scopo su campioni prelevati dai dipinti stessi. Tra gli altri, Antonio Canova, allora curatore delle opere d'arte romana, gli accordò il permesso di effettuare i prelievi, che Davy studiò con quelli che oggi definiremmo i saggi dell'analisi chimica tradizionale, del resto i soli di cui disponesse. Ricordiamo che in tali saggi le sostanze incognite vengono trattate in opportune condizioni o con adeguati reattivi, atti a produrne delle trasformazioni caratteristiche per mezzo delle quali possono essere riconosciute. Ad esempio, gli fu possibile identificare un pigmento di color rosso vivo come cinabro (solfuro di mercurio HgS), grazie al fatto che avendolo riscal-

dato in presenza di limatura di ferro aveva osservato la formazione di mercurio metallico. O ancora, poté riconoscere un pigmento azzurro come blu egizio (silicato di calcio e rame, $CaCuSiO_4$) poiché, fuso ad alta temperatura con potassa e successivamente ripreso con acido cloridrico, aveva dato luogo alla formazione di silice e, trattato con ammoniaca, dava una soluzione di colore blu, dovuta al complesso del rame con ammoniaca ed acqua. I risultati di questi ed altri esperimenti vennero pubblicati da Davy nelle "Philosophical Transactions of the Royal Society of London" nel 1815, in un saggio dal titolo "Some experiments and observations on the colours used in painting by the ancients" che lo rende senza alcun dubbio un pioniere dell'applicazione dell'analisi chimica ai materiali artistici ed archeologici. Ciò che forse è maggiormente degno di nota è quanto Davy scrive nel suo testo, e cioè:

> "*When the preservation of a work of art was concerned, I made my researches upon mere atoms of the colour, taken from a place where the loss was imperceptible: and without having injured any of the precious remains of antiquity, I flatter myself, I shall be able to give some information not without interest to scientific men as well as to artists, and not wholly devoid of practical applications.*

(Quando era in questione la conservazione di un'opera d'arte, feci le mie indagini su meri atomi del colore, prelevati da una parte ove la perdita era impercettibile: e, senza avere danneggiato alcuno dei preziosi resti dell'antichità, mi lusingo che sarò in grado di fornire qualche informazione non senza interesse per gli scienziati così come per gli artisti, e non completamente priva di applicazioni pratiche)" [3]. Dunque, oltre due secoli fa il chimico inglese aveva già colto appieno il significato e l'utilità di questo tipo di indagini, che non possono e non devono essere semplice esercizio accademico, ma rivestono importanza per coloro che dell'arte si occupano come autori o conservatori, e, inoltre, contribuiscono al progresso della scienza grazie alle sfide presentate dal loro peculiare campo di applicazione. Come Davy stesso evidenzia nel passaggio sopra riportato, la necessità di ridurre al minimo l'invasività delle analisi è sicuramente la prima tra tali sfide, a cui l'evoluzione dei metodi analitici ha permesso in molti casi di rispondere efficacemente.

La moderna analisi chimica strumentale, spesso basata su tecniche spettroscopiche, consente infatti di indagare la composizione dei materiali studiandone la risposta ad un fascio di radiazione elettromagnetica incidente, sia essa ultravioletta (UV), visibile, infrarossa (IR) o

X. La radiazione riflessa o emessa dal materiale stesso, a seconda del tipo di fenomeno considerato, presenta uno spettro dipendente dalla composizione elementare o molecolare del campione e, non essendo richiesto per questa tipologia di misure il trattamento del campione medesimo, esse possono essere effettuate anche su oggetti integri. L'evoluzione tecnologica in termini di sorgenti e rivelatori della radiazione ha poi permesso lo sviluppo di strumentazione portatile che rende possibili analisi di fluorescenza UV-visibile, riflessione nel visibile o nell'IR, diffusione Raman o ancora fluorescenza di raggi X non solo non invasive ma attuate nel luogo di conservazione dei manufatti, ossia "in situ" (*Fig. 1*).



Fig. 1. Esempi di assetto strumentale per misure spettroscopiche FTIR, Raman, di riflettanza nel visibile e di fluorescenza ottica durante analisi in campo su diverse tipologie di manufatti artistici.

Ciò non esclude l'importanza delle analisi di laboratorio, significativa nell'ambito considerato soprattutto per quanto attiene a campioni complessi e, in specie, contenenti composti organici. Per questa tipologia di campioni, infatti, sono i metodi strumentali di tipo separativo,

ovverosia i metodi cromatografici, che permettono di giungere all'identificazione, poiché consentono appunto di separare i componenti per poi riconoscerli, essendo sufficienti a tale scopo quantità di campione davvero esigue, anche dell'ordine dei microgrammi.

Il chimico contemporaneo, dunque, può senza alcun dubbio rivestire il ruolo che in ambito anglosassone viene definito di "conservation scientist" e che in tempi recenti è stata codificato anche dal Ministero italiano per i Beni e le Attività culturali come attività di "ricerca, analisi e interpretazione dei dati relativi alla materia costitutiva dei beni culturali, ai processi di degrado della stessa, all'interazione dell'ambiente (sia di rinvenimento che di conservazione) con il bene culturale, alle tecniche di costruzione e allo stato di conservazione" [4].

2. I DATI ANALITICI E IL CONFRONTO CON LE FONTI

Enzo Ferroni, illustre chimico fiorentino che tanto dedicò le proprie competenze scientifiche alla salvaguardia del patrimonio artistico, in questo spronato anche dagli ingenti danni che tale patrimonio aveva subito a Firenze a seguito dell'alluvione del 1966, soleva mettere in guardia lo scienziato che opera in questo settore dalla considerazione dei soli dati sperimentali, senza la verifica del prezioso riscontro che le fonti possono fornire per tali dati. Ferroni scrive infatti:

> "*…Il Chimico non può limitarsi ad eseguire accurati saggi analitici […] Bisogna […] inserirsi in un contesto più ampio per un confronto sinergico interdisciplinare.*
> *Il primo stadio sta nella conoscenza dell'Opera, anche per il principio elementare che non si può intervenire – razionalmente – su ciò che non si conosce. […]*
> *L'Artista che ha raggiunto con l'esperienza l'affinamento della sua tecnica è geloso del segreto della "sua" Arte. […] Tutto ciò costituisce un grande ostacolo alla conoscenza dell'Opera.*
> *È indispensabile il contributo degli storici, con particolare riguardo a chi opera negli Archivi e può trovare riferimenti utili, per esempio negli Statuti delle Arti […], negli Archivi medievali, […], etc. …*"[5].

Nel seguito si proporranno allora tre casi di studio nei quali il confronto con le fonti ha svolto un ruolo fondamentale, andando a confortare ed arricchire il dato analitico.

2.1 Le reliquie della Basilica di Sant'Ambrogio a Milano

Nel 2005, su proposta della prof.ssa Silvia Lusuardi Siena dell'Università Cattolica di Milano, si intraprese uno studio di materiali frammentari conservati presso la sagrestia della Basilica di Sant'Ambrogio e provenienti dai sepolcri originali di Ambrogio stesso e dei martiri Gervaso e Protaso.

Occorre ricordare infatti che nel 386 d.C. il vescovo rinvenne in Milano i resti dei due martiri, a cui volle dare solenne sepoltura deponendoli in un sarcofago presso il sito della basilica. Alla morte di Ambrogio, il suo corpo venne posto in un secondo sarcofago accanto a quello dei martiri, finché nel IX secolo per volere di Angilberto II i tre scheletri furono traslati in un'urna di porfido. Quest'ultima e i due sepolcri lasciati vuoti furono riscoperti nel gennaio 1864, durante i lavori promossi nella basilica da Mons. Francesco Maria Rossi [6].

Appunto da tali sepolcri provenivano i materiali residuali sottoposti ad analisi con i moderni metodi strumentali, quali spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR), gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS) e microscopia elettronica a scansione con analisi di raggi X (SEM-EDX), che permisero di identificarli come frammenti ossei parzialmente alterati (essendo compresenti fosfato e carbonato di calcio) che conservavano però tracce di altre sostanze [7,8]. Alcuni di essi mostravano infatti una colorazione violacea, che poté essere attribuita al pregiato colorante porpora di Tiro (6,6'-dibromoindigotina), accompagnata da minuti spezzoni di fili ritorti, che risultarono costituiti da oro praticamente puro. Da altri frammenti di aspetto più spugnoso fu invece estratta e identificata mediante analisi GC-MS una resina vegetale profumata, il cosiddetto mastice, ancor oggi ricavato dalle piante di *Pistacia lentiscus* che crescono sull'isola greca di Chios e menzionato da Plinio come sostanza di pregio paragonabile a quello dell'incenso [9].

In realtà, quelle effettuate presso il laboratorio di chi scrive non furono le prime analisi condotte sui reperti dai due sarcofagi. Infatti, il 1° gennaio 1864, soltanto un mese dopo la scoperta di questi ultimi, i frammenti ivi rinvenuti vennero consegnati a padre Gallicano Bertazzi, "Chimico Direttore della Farmacia dei Fate-bene-fratelli in Milano" [6]. La descrizione fornita da padre Bertazzi ha permesso innanzitutto di stabilire che i campioni analizzati nei nostri studi recenti corrispondevano, quanto ad aspetto, a quelli provenienti dal sepolcro "in cornu evangelii", cioè quello destinato da Ambrogio ad accogliere le spoglie

dei due martiri. Anche i risultati analitici ottenuti dal chimico ottocentesco, i cui metodi erano sostanzialmente i medesimi già discussi a proposito degli studi di Davy, mostravano tale corrispondenza. Scrive infatti Bertazzi per la prima tipologia di reperti:

> "*Si ritenne che il campione fosse composto: … - di oro metallico in fili o pagliuzze ...*
> *- di …fosfato e carbonato di calce con sostanza organica animale…*",

e inoltre

> "*Il colore rosso … potrebbe essere devoluto alla decomposizione di un drappo tinto in porpora e ricamato a fili d'oro. Il colore si mantenne mentre il tessuto venne distrutto*". Per la seconda, scrive invece: "*…la sostanza spugnosa era costituita di fosfato e carbonato di calce nelle proporzioni che fanno parte delle ossa umane, ed impregnate di sostanze resinose, specialmente d'incenso…*" [6].

Cogliamo dunque da un lato una nuova dimostrazione del precoce contributo della scienza chimica alla cosiddetta archeometria, nonché della consapevolezza acquisita tempestivamente anche dai non specialisti circa l'importanza di tale contributo. Dall'altro, evinciamo come l'evoluzione dei metodi analitici ha sostanzialmente permesso non già di correggere ma di integrare i risultati degli esperimenti condotti nel XIX secolo, permettendo di giungere a una identificazione univoca in specie delle componenti organiche dei campioni, ossia il colorante e la resina vegetale, per le quali i metodi classici avevano consentito solo l'individuazione di una generica classe di appartenenza.

Un più antico documento, però, consente di avvalorare i dati analitici, con forza ancora maggiore essendo coevo della sepoltura dei Martiri. Si tratta della lettera scritta da Ambrogio stesso alla sorella Marcellina (epistola XII, citata in [6]), in cui il vescovo coì descrive il ritrovamento delle spoglie di Gervaso e Protaso:

> "*…trovammo…due uomini di maravigliosa grandezza…: tutte le ossa intere, moltissimo sangue… In breve: le ossa intere acconciammo nel loro ordine con aromi…*".

Gli "aromi" menzionati da Ambrogio corrispondono certamente alle "sostanze resinose" rintracciate nei frammenti ossei da padre Bertazzi

e di cui, oltre centocinquant'anni più tardi, si è potuta riconoscere l'esatta natura. D'altro canto, il desiderio del vescovo di rafforzare la fede in una Milano minacciata dall'eresia, celebrando solennemente la sepoltura dei martiri, trova pieno riscontro nei preziosi drappi in cui ne avvolse i resti, tinti in porpora e ricamati in oro, e anche qui è d'obbligo la citazione da Plinio, il quale a proposito della porpora afferma che

> "*…nella veste trionfale deve essere vista mescolata all'oro*" [10].

Il riscontro tra dati analitici e fonti scritte non termina però qui, essendosi riproposto nella ricognizione effettuata "in situ" nel 2018 per accertare lo stato di conservazione dei tre scheletri. Tale ricognizione, voluta dalla Parrocchia di Sant'Ambrogio, è stata coordinata dalla prof.ssa Cristina Cattaneo dell'Università degli Studi di Milano e ha visto il coinvolgimento di specialisti di molte discipline [11]. Le analisi di composizione chimica, volte a verificare, per quanto possibile in modo non invasivo, lo stato del materiale osseo e la natura di alcune apparenti alterazioni cromatiche, sono state condotte nella cripta della Basilica mediante spettroscopia FTIR con strumentazione portatile [8]. Tra i dati acquisiti, oltre all'indice di cristallinità della componente minerale delle ossa, l'idrossiapatite (sotto forma di dahllite, contenente quantità non stechiometriche di carbonato), risultato compatibile con quello di ossa archeologiche in buono stato di conservazione, si è potuto ad esempio verificare che macchie biancastre presenti in vari punti degli scheletri erano costituite da silice amorfa, risultato rassicurante circa l'innocuità di queste anomalie ma bisognoso di interpretazione quanto alla loro origine. A tal fine è stata risolutiva la relazione redatta da E. Cornalia nel 1873 [12] sull'intervento di ricostruzione dei tre scheletri effettuato dopo l'apertura dell'urna di porfido in cui erano stati traslati dai sepolcri originali: come detto più sopra, la stessa urna fu scoperta nel 1864, ma venne aperta solo alcuni anni più tardi, nel 1871, quando al suo interno furono appunto ritrovate le ossa di Ambrogio e dei Martiri, che vennero consolidate e riordinate a comporre gli scheletri. A tal proposito scrive Cornalia:

> *"… a tutte (le ossa) poi col silicato di potassa (vetro solubile di Fuchs) si compartì novella solidità."*,

essendo il vetro solubile appunto un materiale siliceo amorfo contenente ioni di metalli alcalini.

2.2 *Gli Arazzi dei Mesi (o Arazzi Trivulzio) della Raccolte Artistiche del Castello Sforzesco di Milano*

Le sostanze di natura organica che possono essere presenti in manufatti di interesse artistico o archeologico pongono sicuramente i maggiori problemi qualora le si voglia identificare con metodi di analisi non invasiva applicabili "in situ". Questa difficoltà è particolarmente evidente nel caso dei coloranti organici di origine naturale, ossia quelli utilizzati in antico per la tintura dei tessuti, oltre che in alcuni casi, accanto ai più numerosi pigmenti inorganici, anche in pittura. Infatti, la tecnica analitica più comunemente utilizzata a tal fine è la cosiddetta cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC), abbinata a un rivelatore UV-visibile o a uno spettrometro di massa, che richiede preventivamente l'estrazione della sostanza colorante da un campione di filo prelevato dal tessuto. Si è quindi voluto valutare la possibilità di applicare una tecnica spettroscopica in grado di riconoscere i coloranti direttamente nei tessuti, consentendo così indagini non necessariamente collegate a interventi di restauro, nei quali più comunemente è possibile prelevare dei campioni, e rivolte anche ad ampie collezioni in ambito museale. Tali indagini possono anche risultare mirate alla scelta di eventuali campioni per successive analisi di laboratorio.

Numerosi manufatti della collezione di oltre 50 arazzi appartenente alle Raccolte Artistiche del Castello Sforzesco di Milano sono stati dunque studiati nelle sale del museo mediante spettrofluorimetria. Gli spettri di emissione, ottenuti con eccitazione nel visibile a 435 nm (per le aree di colore rosso o giallo) e 562 nm (per le aree di colore blu), sono stati poi sottoposti ad analisi delle componenti principali (PCA) per evidenziare differenze e similarità [13]. Nella maggior parte dei casi, i filati rossi sono risultati tinti con il colorante robbia, estratto dalle radici della *Rubia tinctorum*, i blu con coloranti a base di indigotina (non consentendo l'analisi chimica una distinzione tra coloranti di tale natura ottenuti da specie vegetali diverse, quali l'indaco e il guado), i gialli nella maggior parte dei casi con miscele di coloranti, essendo l'arzica, ottenuta dalla *Reseda luteola*, sovente mescolata per ragioni economiche o di resa cromatica con altri coloranti ed in particolare con la stessa robbia [14].

Tra gli arazzi esaminati, di particolare interesse è il ciclo degli Arazzi dei Mesi, detti anche Arazzi Trivulzio dal nome del committente Gian Giacomo Trivulzio (1440-1518), i soli della collezione ad essere

stati realizzati in Italia, su cartoni del Bramantino, nella manifattura di Vigevano sotto la guida dell'arazziere Benedetto da Milano. Anche in questo caso per la tintura in rosso è stato riconosciuto l'uso di robbia, del resto assai comune negli arazzi prima dell'introduzione della cocciniglia successivamente alla scoperta dell'America [14], e, di nuovo, un documento dell'epoca suffraga il risultato analitico. Si tratta del "Libro delle Vendite del Magno Trivulzio", in sostanza il libro dei conti di Gian Giacomo Trivulzio, del 1509, anno di realizzazione degli arazzi. Ivi si legge:

> *"E adì 27 agosto L 1/7/ contanti a Maestro Benedeto per comprare borra rossa/lume de fecia/vidriolo et galeto per tenzere lanna…"*,

a testimonianza del pagamento ricevuto dall'arazziere per l'acquisto di "borra rossa" per la tintura della lana [15]. Un più tardo dizionario di arti e mestieri [16] permette di ricostruire che il termine "borra rossa" sta ad indicare pelo di capra tinto con robbia e poi utilizzato per ottenere bagni per la tintura della lana, a conferma della natura del colorante utilizzato.

2.3 I tappeti cinesi di Ningxia della Galleria Moshe Tabibnia a Milano

Si deve a Moshe Tabibnia, proprietario di una rinomata galleria milanese di arte tessile, la proposta di uno studio in cui le fonti, in questo caso di natura iconografica, suggerivano una gamma cromatica dei tappeti storici cinesi spesso anche alquanto diversa da quella che possiamo osservare oggi. Sovente, infatti, le antiche pitture cinesi mostrano tappeti a fondo rosso, come ad esempio nel "Ritratto del giovane imperatore Kangxi al suo scrittoio", dipinto su seta appartenente al Pechino Palace Museum [17]. I manufatti giunti sino a noi, invece, mostrano più frequentemente le tonalità del giallo e dell'arancio, come è il caso dei tappeti classici che sono stati oggetto del presente studio, provenienti dalla regione autonoma di Ningxia e datati dal XVII al XIX secolo.

L'analisi chimica dei coloranti tessili, condotta in questo caso con la tradizionale tecnica HPLC e con la spettroscopia Raman intensificata per effetto di superficie (SERS), affermatasi più di recente come valido metodo per questo tipo di indagini, ha evidenziato che in tutti i casi i colori di fondo, declinati nelle varianti dal salmone all'albicocca al giallo, erano stati ottenuti con il colorante rosso noto come legno di Sappan

(ricavato dalla *Caesalpinia sappan*), eventualmente in miscela con un giallo ottenuto dai fiori della *Sophora japonica* [18]. Nonostante il legno di Sappan (affine al legno del Brasile cui deve il proprio nome lo stato sudamericano) fornisca un colore rosso assai apprezzabile cromaticamente, ne è tuttavia risaputa la scarsa stabilità, in particolare alla luce. È dunque dallo sbiadimento di questa sostanza colorante che sono risultate molte delle sfumature che possiamo osservare oggi in questi manufatti e, sebbene le analisi non ci consentano di stabilire se, come hanno suggerito alcuni studiosi di arte tessile, tale scelta fosse intenzionale e addirittura dettata da ragioni filosofiche [17], certamente hanno permesso di fornire un'interpretazione dell'apparente discordanza con le antiche immagini.

3. L'evoluzione dei materiali artistici: una risorsa e una sfida

Se è vero che l'applicazione dei metodi di analisi chimica allo studio dei materiali artistici ed archeologici è nata e si è sviluppata con la chimica moderna, è altrettanto indubbio che lo sviluppo di nuovi materiali promosso da tale disciplina ha anche progressivamente ampliato la possibile composizione dei manufatti artistici, ponendo da un lato nuovi e diversi problemi legati alla conservazione di essi e dall'altro rendendo più complesso il compito di delucidare tale composizione.

3.1 Il primo pigmento "artificiale"?

Occorre precisare che manipolazioni consapevoli della materia prima finalizzate ad ottenere ad esempio determinate colorazioni sembrano essersi verificate nella storia della pittura ben prima dell'introduzione di centinaia di pigmenti e coloranti sintetici avvenuta a partire dal 1856, anno in cui William Perkin, poi celebre scienziato inglese ma allora studente diciottenne, sintetizzò in modo del tutto fortuito il primo di tali coloranti, la cosiddetta mauveina.

Nella pittura preistorica la limitata gamma cromatica, basata principalmente sul rosso e sul nero, era ottenuta con pigmenti facilmente reperibili, quali ocre e carbone. Le prime possono presentare in realtà colori diversi, in particolare rosso, quando è presente ematite a-Fe_2O_3 oltre che minerali argillosi, oppure giallo, quando invece contengono

goethite a-FeO(OH). Nel caso di ocre utilizzate in dipinti preistorici, si è in più di un caso riscontrato che l'abito cristallino dell'ematite risultava diverso da quello previsto per la forma naturale, suggerendo che essa fosse stata ottenuta dal riscaldamento intenzionale della goethite, ovvero dell'ocra gialla. Occorre sottolineare che tale trasformazione termica si verifica già a temperature non superiori a 400 °C e dunque agevolmente raggiungibili in focolari all'aperto. Grumi di pigmento rosso con queste caratteristiche, evidenziate mediante diffrazione di raggi X (XRD) da polveri e spettroscopia Raman [19], sono stati rinvenuti ad esempio nello scavo archeologico del sito libico di Takarkori (8900-5000 a.C.), condotto dalla Missione Archeologica Italo-Libica nell'Acacus e Messak (Sahara centrale), sotto la direzione di S. Di Lernia dell'Università La Sapienza di Roma. Sebbene in letteratura sia stato evidenziato che questa tipologia di ematite "disordinata" potrebbe derivare anche da fenomeni di biodegrado o di invecchiamento dell'ematite stessa, tuttavia nello scavo in oggetto si è rinvenuto tra gli altri pigmenti anche un grumo costituito al centro da goethite praticamente pura e con uno strato esterno formato ancora da goethite e da ematite disordinata, forte indizio dell'ipotesi di un processo di riscaldamento del pigmento giallo, in questo caso incompleto ma finalizzato ad ottenere il viraggio di colore [19].

3.2 Non solo pigmenti: l'analisi "in situ" dei leganti pittorici

È interessante ricordare che, naturalmente, i materiali pittorici non includono solamente i pigmenti, per quanto questi ultimi siano la componente di maggior impatto visivo, ma anche i leganti necessari per poterli stendere sul supporto, di qualunque natura esso sia. Questi materiali hanno a propria volta subito nel tempo un'evoluzione, dovuta dapprima a scelte diverse degli artisti nell'ambito dei materiali naturali disponibili e, successivamente, di nuovo all'introduzione dei materiali sintetici.

Nella pittura italiana, una fase di cambiamento significativa da questo punto di vista si è verificata tra il XV e il XVI secolo con il passaggio dall'utilizzo del legante proteico tempera, generalmente basato sul tuorlo d'uovo o sull'uovo intero, al legante lipidico olio, con l'impiego dei cosiddetti oli siccativi, tra cui quello di lino, ampiamente usato ancora oggi, ma anche ad esempio quelli di noce o di papavero. Nell'indagine dei dipinti risalenti a quella fase cronologica è dunque di

particolare interesse stabilire quale tipologia di legante fosse stata utilizzata. Il metodo analitico più comunemente utilizzato, e dotato della maggiore specificità, è rappresentato naturalmente dalla gascromatografia abbinata alla spettrometria di massa (GC-MS), che richiede il prelievo di un campione dal dipinto e l'estrazione delle componenti organiche in esso presenti [20]. La possibilità di un'analisi non invasiva ed "in situ" è offerta dalla spettroscopia di riflessione nel vicino infrarosso (NIR), regione spettrale nella quale si osservano bande di assorbimento cosiddette armoniche o di combinazione, associate ai modi di vibrazione delle molecole presenti nel campione. In particolare, la tecnica è particolarmente adeguata a sostanze lipidiche e proteiche e polisaccaridi, contenenti gruppi funzionali con legami carbonio-idrogeno, ossigeno-idrogeno e azoto-idrogeno che presentano segnali caratteristici appunto nella regione del NIR. Ciò spiega la rilevanza della tecnica nel campo delle analisi dei prodotti alimentari ed agricoli, ma anche la possibilità di applicarla all'identificazione dei leganti pittorici [21]. In occasione della mostra "Leonardo e la Madonna Litta", tenutasi al Museo Poldi Pezzoli di Milano tra la fine del 2019 e l'inizio del 2020 (celebrandosi nel 2019 il cinquecentesimo anniversario della morte del maestro) e centrata sul capolavoro appartenente al Museo dell'Ermitage di San Pietroburgo, è stato così possibile esaminate mediante tale tecnica alcuni dipinti realizzati negli ultimi due decenni del '400 dal circolo di artisti che a Milano trasse ispirazione da Leonardo e che viene perciò definito scuola leonardesca. Si è trattato in particolare della *Madonna col Bambino* (o *Madonna della Rosa*) di Giovanni Antonio Boltraffio, della *Madonna che allatta il Bambino* di scuola lombarda, e del *Cristo Bambino* di Marco d'Oggiono, appartenenti al Museo Poldi Pezzoli, della *Madonna col Bambino* di Francesco Galli (noto come Francesco Napoletano), appartenente alla Pinacoteca di Brera a Milano, e di una *Madonna col Bambino* sempre di scuola lombarda e facente parte di un'ampia collezione privata. Mentre l'opera che dà il titolo alla mostra fu realizzata a tempera, si è potuto così rilevare mediante analisi condotte direttamente nei musei o presso lo studio di restauro che in tali dipinti il legante prevalentemente utilizzato fu senz'altro l'olio, in alcuni casi di lino e in altri presumibilmente di noce, mentre in altri ancora entrambi gli oli furono probabilmente usati in strati diversi dello stesso dipinto [22].

Occorre poi attendere i primi decenni del XX secolo perché gli artisti comincino a sperimentare colori diversi da quelli tradizionali a

olio, rivolgendosi alle resine sintetiche che gradatamente venivano sviluppate e spesso utilizzando anche vernici prodotte per uso domestico e non propriamente artistico, come fecero ad esempio Jackson Pollock negli Stati Uniti e Pablo Picasso in Europa [23]. Formulazioni finalizzate all'impiego in pittura seguirono in breve tempo, e tra queste in particolare le cosiddette emulsioni, contenenti acqua come principale componente liquido. Le prime di esse erano basate su resine costituite da polivinilacetato (PVA) e furono introdotte nei tardi anni '40, mentre quelle basate su resine acriliche comparvero poco tempo dopo e, tra i colori per pittura contenenti resine sintetiche, sono divenute dominanti sul mercato.

L'analisi dei leganti nei dipinti degli anni '50 e '60 del secolo scorso riveste dunque interesse perché testimonia questa evoluzione nelle scelte degli artisti. Particolarmente utile per indagini di questo tipo non invasive e realizzabili "in situ" è certamente la spettroscopia FTIR in riflessione, un esempio del cui impiego a tale fine è fornito da uno studio condotto su alcune opere di Lucio Fontana ed Enrico Baj appartenenti alla Collezione Boschi Di Stefano di Milano [24]. Mentre nelle tre opere di Baj analizzate (*Paesaggio atomizzato* del 1957, *Personaggio nella montagna* e *Agitatevi, pietre e montagne!*, entrambi del 1958) è risultato predominante il legante olio, eccettuato l'uso di colore a base alchidica in dense macchie nere che caratterizzano questi dipinti, in due opere di Lucio Fontana appartenenti alla serie dei "Tagli", entrambe dal titolo *Concetto spaziale. Attese* e datate 1958-1960, si è potuto sicuramente identificare l'impiego di colori a base di PVA.

3.3 La datazione indiretta delle opere attraverso l'identificazione dei pigmenti

Come ricordato sopra, è a partire dalla metà del XIX secolo che la tavolozza degli artisti ha conosciuto un arricchimento sempre maggiore, grazie all'introduzione di numerosi pigmenti organici sintetici, che si affiancavano ad alcuni composti inorganici anch'essi sintetici la cui scoperta aveva avuto inizio con il blu di Prussia già nel 1706. Poiché per questi nuovi pigmenti è possibile definire in modo preciso la data della prima sintesi e l'epoca della loro commercializzazione, il riconoscimento di essi in un dipinto permette ovviamente di stabilire un termine "post quem" l'opera è stata realizzata.

Forse uno dei pigmenti maggiormente sfruttati per questa datazio-

ne indiretta è rappresentata dal bianco di titanio, oggi sicuramente il pigmento bianco più largamente impiegato anche al di fuori dell'ambito strettamente artistico. Dal punto di vista chimico si tratta di biossido di titanio TiO_2, nelle forme cristalline anatasio o rutilo. Benché il rutilo sia diffuso come minerale in natura, il bianco ottenibile dal prodotto naturale non è brillante come quello del pigmento sintetico e, di fatto, salvo limitatissime sperimentazioni, fu solo a partire dalla fine degli anni '20 del XX secolo che questo composto, ora prodotto industrialmente, cominciò ad essere introdotto nelle formulazioni per gli artisti [25]. Esso andò così a sostituire progressivamente il bianco di piombo $2PbCO_3.Pb(OH)_2$, che nonostante la sua tossicità aveva dominato la pittura antica, e il bianco di zinco ZnO, introdotto come alternativa nel XIX secolo. Per queste ragioni, la presenza del bianco di titanio in un dipinto è considerata fortemente indicativa del fatto che l'opera sia posteriore almeno al 1920 ed anche successiva qualora il composto sia nella forma rutilo la cui produzione industriale ebbe inizio negli anni '30.

Tuttavia, anche il riconoscimento di altri pigmenti, in particolare tra il grande numero di quelli organici sintetici, può fornire informazioni relativamente alla datazione e, di conseguenza, all'autenticità di un manufatto. Ad esempio, in un manifesto di stile futurista datato 1926 sono stati identificati [26] pigmenti compatibili con tale data, quali ad esempio un giallo arilide (famiglia di composti in commercio dal 1910 [27]) e un rosso naftolo (famiglia di pigmenti la cui sintesi venne effettuata per la prima volta nel 1911 [27]). Tuttavia, altri pigmenti riconosciuti nel manifesto sono il bianco di titanio nella forma rutilo, il blu di ftalocianina (posto in commercio nel 1935 [27]) e il violetto diossazina (sintetizzato per la prima volta nel 1928 [27]), la cui presenza esclude che il manifesto possa essere stato realizzato nella data indicata su di esso e suggerisce quindi che si tratti di un falso.

3.4 I materiali sintetici ed il degrado ambientale dei manufatti

Lo sviluppo di materiali sintetici da parte della moderna scienza chimica ha però, curiosamente, posto alcuni problemi proprio dal punto di vista della conservazione delle opere antiche. In numerosi musei del mondo si sono verificati ad esempio per manufatti di diversa natura, costituiti da metallo, vetro, ceramica o, ancora, carbonato di calcio, fenomeni di degrado dovuti a sostanze acide in fase gassosa rilasciate dai materiali costituenti le teche in cui i manufatti stessi erano

conservati. Truciolati e compensati infatti soprattutto in passato potevano contenere colle sintetiche in grado di rilasciare formaldeide, attentamente studiata per la sua potenziale tossicità come inquinante "indoor", ma altresì in grado di ossidarsi ad acido formico a propria volta responsabile del deterioramento dei manufatti sopra citati [28]. Un formiato di rame e sodio è stato ad esempio riconosciuto in patine azzurre di alterazione presenti sul rame dorato di alcune opere di arte trapanese barocca decorate con corallo [29].

Più in generale, l'impiego di materiali sintetici nelle opere d'arte contemporanea ha ovviamente ampliato i problemi associati alla conservazione delle opere stesse, trattandosi sovente di materiali di cui non era nota al momento dell'utilizzo la resistenza all'invecchiamento sui lunghi tempi di vita di un dipinto o di una scultura. Ne sono esempi il degrado dei "tappeti-natura" in poliuretano espanso di Piero Gilardi [30] o il caso ancora più eclatante della quasi completa distruzione della scultura di Naum Gabo "Construction in space: two cones", appartenente al Philadelphia Museum of Art e realizzata nel 1927 in acetato e nitrato di cellulosa [31].

3.5 I pigmenti "ad effetto speciale": colori fluorescenti e fosforescenti

Tra i materiali sintetici impiegati nell'arte contemporanea meritano senz'altro di essere menzionati pigmenti con particolari caratteristiche quanto alla loro interazione con la luce, che possono essere perciò definiti "ad effetto speciale".

Primi tra questi sono i pigmenti fluorescenti, basati su coloranti organici con tale proprietà dispersi in una resina trasparente, la cui produzione ebbe inizio negli anni '30 grazie ai fratelli statunitensi Robert and Joseph Switzer. Dopo essere stati utilizzati nei dispositivi di segnalazione durante la Seconda guerra mondiale, incominciarono ad essere impiegati sporadicamente anche dagli artisti attorno al 1944. In Italia se ne servì per primo Lucio Fontana nel suo "Ambiente spaziale a luce nera", installazione esposta a Milano nel 1949, intendendosi per "luce nera" la radiazione UV per esposizione alla quale si possono osservare in condizioni di buio i colori dovuti all'emissione di fluorescenza da parte di quei pigmenti. Pittori americani come Frank Stella e Andy Warhol negli anni '60 e '70, e più di recente Peter Halley e Ryan McGinness, crearono a propria volta opere contenenti colori fluorescenti, atti a mostrare la propria emissione caratteristica in luce visibile oppure in

luce UV a seconda dei casi. In Italia si deve all'artista Mario Agrifoglio (1935-2014) la fondazione della corrente "Black Light Art", alla quale è stata dedicata nel 2017 un'esposizione curata dal figlio dell'artista Mario Agrifoglio e svoltasi presso Palazzo Lombardia a Milano.

Ricordiamo che l' "effetto speciale" esibito da tali pigmenti in luce visibile, ovvero la particolare brillantezza del loro colore, è dovuto alla sovrapposizione della radiazione riflessa e della radiazione emessa da essi [32].

Accanto ai pigmenti fluorescenti, sono oggi disponibili anche pigmenti fosforescenti, in grado anch'essi di emettere radiazione a lunghezze d'onde maggiori dopo l'assorbimento di radiazione UV, ma con tempi di emissione più lunghi dopo l'irraggiamento. A differenza della classe appena trattata, in questo caso si tratta più spesso di composti inorganici, tra i quali il primo ad essere utilizzato alla fine degli anni '30 fu il solfuro di zinco drogato con rame, seguito poi dopo oltre mezzo secolo da composti di terre rare e metalli alcalino-terrosi [32].

È opportuno sottolineare che la presenza nelle opere d'arte di questo tipo di materiali pone ai conservatori ed ai restauratori ulteriori problemi, associati alle possibili alterazioni di essi, non diversamente da quanto discusso sopra in generale per i materiali sintetici, ed anche all'eventuale esigenza di preservare il messaggio estetico di tali opere nelle diverse condizioni di illuminazione, ossia sotto luce visibile così come radiazione UV [33]. L'identificazione di tali tipologie di pigmenti è dunque rilevante da questo punto di vista e anche in questo caso l'impiego di tecniche di analisi spettroscopiche non invasive ha consentito di acquisire queste informazioni direttamente nel luogo di esposizione delle opere. Le già citate spettroscopie Raman e di fluorescenza ottica, in particolare, si sono rivelate efficaci nel riconoscere i pigmenti impiegati in diversi dipinti della "Black Light Art" in occasione della mostra milanese sopra menzionata, ad includere i pigmenti convenzionali così come quelli fluorescenti e fosforescenti [34].

Ringraziamenti

L'autrice desidera ringraziare tutti coloro, curatori, archeologi e restauratori, che hanno reso possibili questi studi, ponendo quesiti e collaborando con le loro preziose conoscenze nel dare ad essi una risposta.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. L. Pearce Williams, Humphry Davy, *Scientific American*, 1960: 202: 106-120.
2. D. Knight, *Humphry Davy. Science and Power*, Cambridge University Press, Oxford, 1992.
3. H. Davy, Some experiments and observations on the colours used in painting by the ancients, *Philosophical Transactions of the Royal Society of Chemistry*, 1815: 105: 131-159.
4. Ministro per i Beni e le Attività culturali (Italia), D.M. 244 del 20 maggio 2019, *Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n. 124, 29 maggio 2019.
5. E. Ferroni, Il contributo delle scienze chimiche per la conoscenza e la conservazione preventiva, *OPD Restauro*, 1999: 11: 97-102.
6. L. Biraghi, *I tre sepolcri santambrosiani scoperti nel gennajo 1864*, Boniardi-Pogliani di Ermemegildo Besozzi, Milano, 1864.
7. S. Bruni, V. Guglielmi, Resine profumate, colori pregiati e fili d'oro nei sepolcri ambrosiani. La storia di un'analisi, la cronaca di un evento, in: *Ambrogio e la sua basilica: atti del quarto dies academicus, 31 marzo - 1 aprile 2008*. p. 155-165, Biblioteca ambrosiana, Milano, 2009.
8. S. Bruni, V. Guglielmi, I duemila anni degli scheletri dei santi raccontati dall'analisi chimica: da ori, porpora e profumi agli ultimi restauri, in: *Apparuit Thesaurus Ambrosius. Le reliquie di Sant'Ambrogio e dei martiri Gervaso e Protaso tra storia, scienza e fede*, C. Faccendini, C. Capponi editori, pagg. 42-49, Silvana, Milano, 2019.
9. Pliny the Elder, *The Natural History*, John Bostock, H.T. Riley editori, libro XII, cap. 36, Taylor and Francis, London, 1855, https://www.perseus.tufts.edu/hopper/text?doc=Perseus%3Atext%3A1999.02.0137%3Abook%3D12%3Achapter%3D35
10. Pliny the Elder, *The Natural History*, John Bostock, H.T. Riley editori, libro IX, cap. 60, Taylor and Francis, London, 1855, http://www.perseus.tufts.edu/hopper/text?doc=Perseus%3Atext%3A1999.02.0137%3Abook%3D9%3Achapter%3D60
11. C. Faccendini, C. Capponi editori, *Apparuit Thesaurus Ambrosius. Le reliquie di Sant'Ambrogio e dei martiri Gervaso e Protaso tra storia, scienza e* fede, Silvana, Milano, 2019.
12. E. Cornalia, Gli scheletri sant'ambrosiani scoperti nel 1871 in Milano. Osservazioni del Prof. E. Cornalia, in: *Archivio per l'antropologia e la etnologia*, vol. III, fasc. 2, P. Mantegazza editore, pagg. 233-252, Firenze, 1873.
13. S. Bruni, M. Longoni, S. De Meo, F. Scalzo, A. Dibenedetto, V. Guglielmi, Visible-induced spectrofluorimetry as a non-invasive tool for the in situ identification of natural dyes in historical textiles, *Dyes in History and Archaeology,* 2022: in pubblicazione.
14. J. H. Hofenk de Graaff, *The colourful past*, Archetype Publications, London, 2004
15. W. Suida, Documents related to the Trivulzio Tapestries, *Bulletin of the Needle and Bobbin Club*, 1943:27:3–39.

16. F. Griselini, M. Fassadoni, *Dizionario delle arti e de' mestieri* – Tomo decimosettimo, Modesto Fenzo, Venezia, 1775, https://books.google.it/books?id=dODP34y5X5QC&printsec=frontcover&hl=it#v=onepage&q&f=false
17. M. Tabibnia, Motivazioni di un progetto, in: *Intrecci cinesi – Antica arte tessile XV-XIX secolo*, Moshe Tabibnia, Milano, 2011.
18. E. De Luca, G. Poldi, M. Redaelli, C. Zaffino, S. Bruni, Multi-technique investigation of historical Chinese dyestuffs used in Ningxia carpets, *Archaeological and Anthropological Sciences*, 2017: 9: 1789–1798.
19. S. di Lernia, S. Bruni, I. Cislaghi, M. Cremaschi, M. Gallinaro, V. Guglielmi, A. M. Mercuri, G. Poggi, A. Zerboni, Colour in context. Pigments and other coloured residues from the Early-Middle Holocene site of Takarkori (SW Libya), *Archaeological and Anthropological Sciences*, 2016: 8: 381–402.
20. Si veda ad esempio: A. Andreotti, I. Bonaduce, M. P. Colombini, G. Gautier, F. Modugno, E. Ribechini, Combined GC/MS Analytical Procedure for the Characterization of Glycerolipid, Waxy, Resinous, and Proteinaceous Materials in a Unique Paint Microsample, *Analytical Chemistry*, 2006: 78: 4490–4500.
21. M. Vagnini, C. Miliani, L. Cartechini, P. Rocchi, B. G. Brunetti, A. Sgamellotti, FT-NIR spectroscopy for non-invasive identification of natural polymers and resins in easel paintings, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009: 395: 2107–2118.
22. A. Galli, M. Gargano, L. Bonizzoni, S. Bruni, M. Interlenghi, M. Longoni, A. Passaretti, M. Caccia, C. Salvatore, I. Castiglioni, M. Martini, Imaging and spectroscopic data combined to disclose the painting techniques and materials in the fifteenth century Leonardo atelier in Milan, *Dyes and Pigments*, 2021: 187: 109112.
23. T. J. S. Learner, *Analysis of Modern Paints*, The Getty Conservation Institute, Los Angeles, 2004.
24. M. Fratelli, M. Bestetti, S. Bruni, S. Caravà, V. Guglielmi, S. Minotti, G. Poldi, I. Saccani, A. Tibiletti, Pittura italiana 1950-1960: materiali, metodi esecutivi e questioni conservative. Il progetto diagnostico su alcune opere di Enrico Baj e Lucio Fontana della Collezione Boschi Di Stefano, *Dall'olio all'acrilico, dall'impressionismo all'arte contemporanea. Atti del 7° Congresso internazionale Colore e Conservazione*, V. E. Selva Bonino editore, Milano, 13-14 novembre 2015, Il Prato, 2016.
25. N. Eastaugh, V. Walsh, T. Chaplin, R. Siddall, *Pigment Compendium: A Dictionary and Optical Microscopy of Historic Pigments*, Elsevier, Amsterdam, 2008.
26. L. Bonizzoni, S. Bruni, E. De Luca, V. Guglielmi, L'analisi della composizione dei colori come metodo indiretto per la datazione di un manifesto futurista", abstract in *Atti del convegno "Science for Contemporary Art", AIAR,* Ferrara, 1 – 4 marzo 2011.
27. S. Quillen Lomax, T. Learner, A review of the classes, structures, and methods of analysis of synthetic organic pigments, *Journal of the American Institute for Conservation*, 2006: 45: 107-125.
28. M. R. Raychaudhuri, P. Brimblecombe, Formaldehyde oxidation and lead corrosion, *Studies in Conservation*, 2000: 45: 226-232.

29. A. M. Bava, S. Caglio, G. Poldi, I. Villafranca Soissons, Il restauro della collezione di coralli del Banco Popolare, in: *Rosso Corallo. Arti preziose della Sicilia barocca*, C. Arnaldi di Balme, S Castronovo editori, pagg. 55-65, Silvana Editoriale e Fondazione Torino Musei, Cinisello Balsamo (MI), 2008.
30. A. Rava, La conservazione di opere in poliuretano espanso. Il lavoro di Piero Gilardi, *Kermes*, 2015: 98: 14-22.
31. K. Sutherland, C. Schwarzinger, B. A. Price, The application of pyrolysis gas chromatography mass spectrometry for the identification of degraded early plastics in a sculpture by Naum Gabo, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2012: 94: 202-208.
32. A. Nurhan Becidyan, *The Chemistry & Physics of Special Effect Pigments & Colorants "What They Are and How They Are Used"*, AESA NY-NJ Section Lecture Series, United Mineral & Chemical Corporation, New, York, 2014.
33. S. Francone, S. Bruni, C. Zaffino, K. Galli, V. Guglielmi, M. Boscacci, The issue of metamerism in Mario Agrifoglio's paintings. Identification of fluorescent pigments through Raman spectroscopy to define a methodology for retouching, *Postprints RECH 4- Croatia*, A. Bailão, S. Sustic editori, Split (Croatia), 20-21 ottobre 2017, pagg. 212-216, University of Split, Academy of Arts, Split, 2017.
34. S. Bruni, V. Guglielmi, Raman Spectroscopy for the Identification of Materials in Contemporary Painting, in: *Raman Spectroscopy in Archaeology and Art History vol. 2*, P. Vandenabeele, H. Edwards editori, pagg. 157-173, The Royal Society of Chemistry, London, 2019.

RILEVANZA DEL SESSO NELLA MALATTIA DA COVID-19: QUANDO UN CROMOSOMA IN PIÙ FA LA DIFFERENZA!

Nota del s.c. LIDIA LARIZZA (*)

(Adunanza del 4 febbraio 2021)

SUNTO. – Meta-analisi di dati epidemiologici globalizzati di pazienti SARS-CoV-2 positivi ricoverati in unità di terapia intensiva nel 2020 hanno indicato il sesso maschile tra i fattori di rischio di evoluzione grave, talvolta fatale della malattia, come già segnalato da precedenti infezioni da coronavirus. L'inattivazione del cromosoma X (XCI), un meccanismo epigenetico che nelle cellule somatiche femminili rende uguale la dose dei geni X-linked tra i due sessi e i vantaggi per le donne del mosaicismo dei geni immuno-relati presenti in alta densità sul cromosoma X e dell'espressione aumentata rispetto al maschio dei geni che sfuggono all'inattivazione, hanno portato ad un crescente riconoscimento della biologia unica del cromosoma X per spiegare la più robusta risposta immunitaria delle femmine. Nell'ambito di ricerche volte a dimostrare il contributo di geni X-linked coinvolti nella risposta immunitaria a differenze sesso-specifiche nella malattia da COVID-19 è stata quantificata a livello di singole cellule plasmacitoidi dendritiche femminili l'espressione di *TLR7*, un gene chiave dell'immunità innata che codifica un recettore della famiglia Toll-like, "sensore" dell'RNA virale endosomale di SARS-CoV-2. Lo studio ha confermato l'"escape" di *TLR7* all'inattivazione che consente nelle donne aumentati livelli di mRNA di *TLR7* e di interferoni, potenti antivirali, da parte delle cellule dendritiche che ne sono tra i maggiori produttori. L'importanza dell'integrità della via segnaletica attivata da TLR7 è dimostrata da uno studio olandese di due coppie di fratelli (età media 26 anni, nessuna preesistente condizione medica) da famiglie non relate, ricoverati per insufficienza respiratoria da malattia COVID-19 grave in unità di terapia intensiva, uno dei quali poi deceduto per shock settico. Il sequenziamento dell'intero esoma dei pazienti ha identificato varianti patogenetiche "da perdita di funzione" del gene *TLR7* e studi funzionali sulle loro cellule mononucleate del sangue periferico stimolate in vitro con un agonista di TLR7 hanno dimostrato significativa diminu-

(*) IRCSS Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italy.
E-mail: l.larizza@auxologico.it

zione dei trascritti *TLR7*-specifici e di quelli di diversi geni per gli interferoni, rispetto ai genitori e ai controlli. Benché le rare mutazioni di *TLR7* non possano giustificar il sex bias dei maschi per la malattia grave da COVID-19, la loro identificazione contribuisce alla comprensione della sua patogenesi indicando il recettore Toll-like 7 come nodo cruciale per il riconoscimento di SARS-CoV-2 e l'inizio della risposta immunitaria volta a neutralizzare il virus e a prevenire lo sviluppo dell'infezione.

***

ABSTRACT. – Meta-analysis of epidemiological world-wide reports of SARS-CoV-2 patients requiring mechanical ventilation in intensive care units highlighted the male sex as a risk factor for severe, often fatal evolution of COVID-19 disease, as signaled by previous coronavirus infections. X chromosome inactivation (XCI), an epigenetic mechanism used by female somatic cells to equalize the dosage of X-linked genes between the sexes and the female advantage with mosaicism of the numerous immune-related genes and the increased expression of those escaping XCI determined a growing recognition of the unique biology of the X chromosome to account for females more robust immune response. In the wake of studies aimed at establishing the contribution of immune-regulatory X-linked genes to sex-specific differences of COVID-19 disease, the expression of *TLR7*, a gene of innate immune response encoding a member of Toll-like family receptors sensing the SARS-CoV-2 endosomal RNA, has been quantified in human female plasmacytoid dendritic cells which are high producers of interferons, acting as powerful viral inhibitors. The study confirmed that *TLR7* escapes XCI promoting higher TLR7 mRNA and higher interferon mRNA at the single-cell level. The relevance of TLR7 signaling has been highlighted by a Dutch study exploring the presence of genetic variants among young men with severe COVID-19 which identified pathogenic *TLR7* variants in two pairs of brothers (mean age 26 years) without medical history admitted to intensive care units due to SARS-CoV-2 acute respiratory syndrome, one of whom deceased due to septic shock. Whole exome sequencing of the patients identified "loss of function variants" of the X-chromosomal *TLR7* and functional studies on their peripheral blood mononucleate cells after in vitro stimulation with a TLR7 agonist showed significant reduction of *TLR7*-specific mRNA and decreased mRNA expression of various interferon type I genes as compared to family members and controls. While rare mutations in *TLR7* are unlikely to be a major drive of severe COVID-19 disease, their identification begins to unravel the molecular underpinning of COVID-19 infection highlighting TLR7 receptor as a critical node in recognizing SARS-CoV-2 and initiating an early immune response to clear the virus and prevent the development of COVID-19.

PREMESSA

Il tema oggetto di questa nota, rilevante con l'emergere della medicina personalizzata, riguarda l'identificazione di meccanismi genetici, legati alla biologia unica del cromosoma X, che possono contribuire alle differenze tra maschi e femmine nella risposta immunitaria al nuovo β coronavirus designato SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) e al decorso clinico della malattia respiratoria indicata

come malattia da COVID-19 che rappresenta la sua più frequente complicazione letale. Il sesso biologico ha componenti ormonali e genetiche: gli ormoni influiscono nel periodo della vita riproduttiva, i determinanti genetici, nel corso di tutta la vita. Differenze tra i sessi si possono manifestare nella suscettibilità all'infezione, nel controllo del virus da parte del sistema dell'immunità innata e adattativa e nell'equilibrio tra infiammazione e riparazione tissutale nella risoluzione dell'infezione.

1. Aumentata probabilità di decorso sfavorevole della malattia da COVID 19 e sesso maschile: dati epidemiologici

La relazione tra sesso maschile e aumentata probabilità di evoluzione sfavorevole della malattia da COVID-19 è emersa dalle analisi epidemiologiche nel primo semestre 2020, in linea con quanto osservato per le infezioni da coronavirus risultanti nella MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome) nel 2002 [1] e nella SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome) nel 2012-13 [2]. Uno studio inglese di meta-analisi dei dati di oltre un milione di pazienti COVID-19 accessibili alla fine del primo semestre 2020 attraverso report forniti disaggregati per il sesso di 90 diverse nazioni o stati US, ha evidenziato che, benché maschi e femmine abbiano rischio equivalente di infezione, i maschi hanno rispetto alle femmine probabilità di ricorso a terapia intensiva di quasi tre volte e più alta probabilità di morte [3]. Lo stesso messaggio emerge da uno studio americano che analizzando dati da 38 nazioni stima una CFR (Case Fatality Rate) media nei maschi 1.7 quella delle femmine (*Fig. 1A*) e stratificando per 12 paesi la CFR per fasce di età, conferma che la mortalità cresce in entrambi i sessi con l'età, ma sopra i 30 anni i maschi hanno una CFR significativamente maggiore delle femmine (*Fig. 1B*) [4]. Lo studio dei campioni serici di una piccola coorte di pazienti COVID-19 ha identificato differenze sesso-specifiche nelle popolazioni di cellule dell'immunità e nei livelli di citochine del siero correlate alla gravità della malattia [5, 6]. Ulteriori analisi retrospettive di pazienti COVID-19 indicano come predittivi di decorso avverso marker di laboratorio relativi allo stato infiammatorio, quali la proteina C reattiva (CRP), i cui valori sono più elevati nei maschi che nelle femmine[7]. Benché la comprensione dei patomeccanismi innescati dal dimorfismo sessuale rimane ancora frammentaria, il bias per il sesso maschile appare un fenomeno esteso a tutto il mondo e si presenta come variabile che può influenzare il decorso cli-

nico e la mortalità e fornire informazioni per la gestione del paziente traducibili in strumenti terapeutici mirati. Strategie di trattamento sesso-specifiche sono applicate raramente nella routine clinica delle patologie umane al di fuori del settore oncologico. Il contributo di determinanti genetici che agiscono in concerto con fattori ormonali e la dinamica con cui influenzano differenze sesso-specifiche nel decorso della malattia da COVID-19 sono temi di intensa investigazione e la loro comprensione potrà guidare gli interventi di sanità pubblica e biomedici.

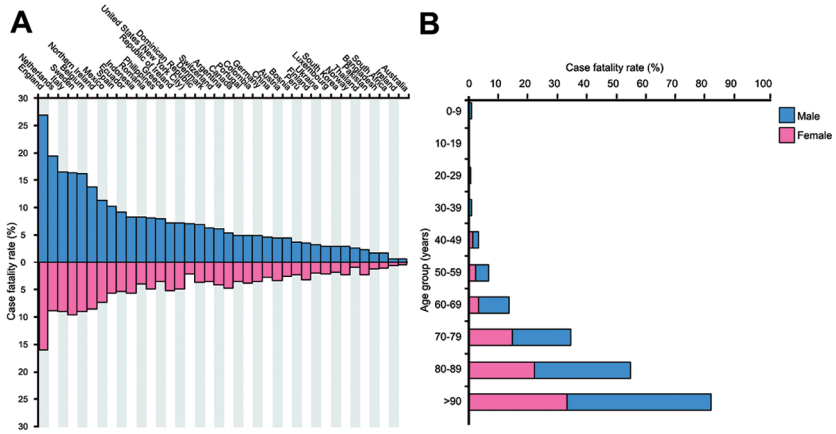


Fig. 1. Probabilità di morte (CFR=Case Fatality Rate) da COVID-19 in base al sesso. A) in 38 paesi; B) stratificazione della CFR in base all'età in 12 dei paesi considerati. La CFR, calcolata come numero di morti diviso il numero totale di casi per ciascun sesso moltiplicato per 100 è più elevata per i maschi in 37 nazioni (A). La CFR aumenta per entrambi i sessi con l'età, ma sopra i 30 anni i maschi hanno una CFR significativamente maggiore delle femmine (B). Modificata da: *Scully et al., Nat Rev Imm 2020,20 (7): 442* [4].

2. I cromosomi del sesso nell'uomo e l'inattivazione del cromosoma X nelle femmine

L'assetto cromosomico di maschi e femmine è paragonabile per le 22 coppie di cromosomi, denominate autosomi e differisce nella coppia dei cromosomi del sesso, XX nella femmina e XY nel maschio (*Fig. 2A*). I cromosomi X e Y si sono evoluti da una coppia ancestrale di cromosomi simili agli autosomi circa 300 milioni di anni fa. La ricombinazione durante la gametogenesi maschile è stata soppressa nel tempo dando luogo a enorme divergenza tra X ed Y tranne che per le regioni omologhe alle loro estremità terminali denominate PAR1 e PAR2 (Pseudo Autosomal Regions) che consentono l'appaiamento tra X ed Y nella sper-

matogenesi e la loro corretta segregazione nei gameti. La femmina è il sesso omogametico e alla meiosi produce cellule uovo tutte con il cromosoma X, mentre il maschio matura 50% di spermatozoi con l'X e 50% con l'Y: il meccanismo XY della determinazione del sesso garantisce attraverso l'assortimento random dei gameti alla fecondazione il mantenimento del rapporto sessi 1:1 nel corso delle generazioni.

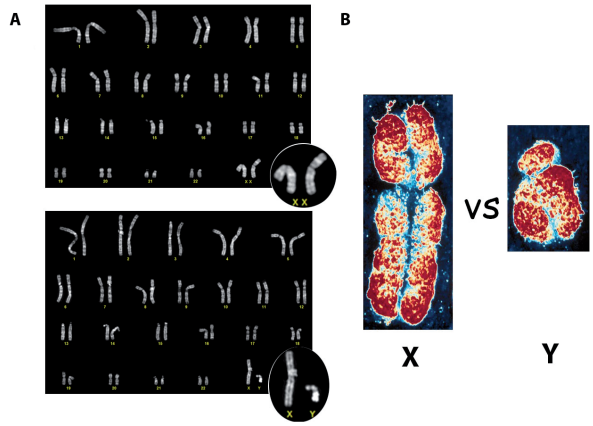


Fig. 2. I cromosomi del sesso. A) Cariotipo in bande Q (QFQ) umano normale femminile (in alto) e maschile (in basso) costituito da 22 coppie di cromosomi omologhi uguali nei due sessi (autosomi) e dalla coppia di cromosomi del sesso, XX nella femmina e XY nel maschio (negli ovali). B) i cromosomi X ed Y in un'immagine di microscopia elettronica a scansione (SEM) visualizzano le marcate differenze di dimensione fisica: 156 Mb (milioni di basi) dell'X contro 59 Mb dell'Y a cui corrisponde un alto contenuto genico per l'X (> 1500 geni) e solo circa 60 geni per l'Y.

I cromosomi X e Y sono drammaticamente diversi (*Fig. 2B*): l'X è un cromosoma di media dimensione: ha una lunghezza fisica di 156 milioni di basi o Megabasi (Mb) e rappresenta circa il 5% del DNA cellulare totale: contiene 852 geni che codificano proteine, di cui quasi un centinaio relati alle funzioni immunitarie, e 665 geni che non hanno istruzioni per codificare proteine, ma sono trascritti in RNA. Da notare che sul cromosoma X mappa il 10% dei geni di regolazione di tutto il genoma, che comprendono geni per lncRNA (long non coding RNA) e miRNA (micro RNA), molti dei quali implicati nel controllo della risposta immunitaria. Il cromosoma Y ha una lunghezza fisica di 59 Mb, rappresenta il 2% del DNA totale ed è povero di geni: ne contiene meno di 100, molti esclusivi del cromosoma Y come SRY (Sex determining Region of the Y), primo determinante della mascolinità e geni relati alla spermatogenesi, e mantie-

ne funzionali solo 20 dei circa 600 geni che un tempo condivideva con il cromosoma X. Le differenze tra X ed Y, legate ai meccanismi di determinazione del sesso nei mammiferi, si sono evolute nel corso di molti milioni di anni. L'ineguaglianza genetica tra X e Y, che determinerebbe espressione dei geni del cromosoma X in doppia dose nella femmina rispetto al maschio, viene compensata da un meccanismo che ne assicura livelli equivalenti di espressione tra i due sessi attraverso l'inattivazione di uno dei due cromosoma X della femmina (*X Chromosome Inactivation* o *XCI*) nei mammiferi (uomo compreso): si tratta di un meccanismo epigenetico che continua ad affascinare generazioni di genetisti da quando nel 1961 la ricercatrice inglese Mary Lyon l'ha ipotizzato basandosi su studi di femmine di topo con mantello a chiazze, eterozigoti per un gene mutante del cromosoma X che controlla il colore del pelo [8].

Durante l'embriogenesi precoce, nell'uomo allo stadio di blastocisti tardiva, tra l'impianto dell'uovo fecondato e il termine del primo mese di gravidanza (quando l'embrione è costituito da circa 5.000 cellule) uno dei due cromosomi X di un embrione femmina scelto a caso, paterno (Xp) o materno (Xm) è inattivato e tutte le cellule discendenti si conformano alla decisione presa dalla cellula progenitrice. La femmina è quindi un mosaico di 2 popolazioni cellulari per l'X inattivo: circa il 50% di cellule inattivano Xp e circa il 50% Xm (*Fig. 3A*) [9]. Quando ci sono alleli diversi (forme alternative dello stesso gene che occupano posizioni corrispondenti sui cromosomi omologhi) ovvero le femmine sono eterozigoti per geni legati all'X (X-linked), nel caso sia presente una variante deleteria (mutazione) o svantaggiosa/vantaggiosa (polimorfismo) nelle portatrici l'effetto di tale variante sarà manifesto solo in metà anziché in tutte le cellule, a differenza del maschio, che ha un solo cromosoma X, in cui l'effetto si manifesterà in tutte le cellule. Questa "diversità fenotipica" conferisce un primo vantaggio delle femmine rispetto ai maschi che ha rilevanza nella risposta immunitaria, considerando che un alto numero di geni immuno-relati mappano sul cromosoma X umano. Una diversità aggiuntiva può verificarsi per inattivazione preferenziale o "skewed": il processo per cui uno dei due cromosomi X è preferenzialmente silenziato in >75% delle cellule per motivi stocastici o per selezione contro la popolazione cellulare che ha attivo un cromosoma X con una variante che conferisce svantaggio proliferativo. L'inattivazione non random può dare vantaggio alle donne eterozigoti perché può portare alla selezione di cellule "wild-type" rispetto alle cellule mutanti. Il meccanismo di inattivazione o silenziamento del secondo cromosoma X della femmina (con l'eccezione delle regioni PAR1 e

PAR2 che sfuggono all'inattivazione) compensa la dose genica dell'X tra i due sessi: la femmina 46 XX mantiene un cromosoma X attivo come il maschio che ne ha solo uno e silenzia l'altro cromosoma X, che si evidenzia all'interfase come masserella eterocromatica alla periferia del nucleo, il cosiddetto corpo di Barr (dal nome del suo scopritore nel 1949). Nel caso di aneuploidie del cromosoma X è mantenuto attivo sempre e solo un cromosoma X e tutti gli X in eccesso sono inattivati e compaiono come corpi di Barr in interfase (regola dell'n-1), il che rende conto delle relativamente ridotte conseguenze fenotipiche di queste aneuploidie rispetto a quelle che coinvolgono autosomi (*Fig. 3B*).

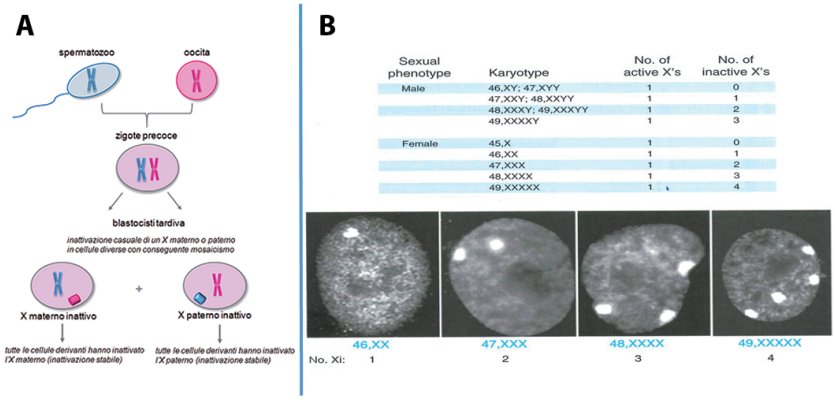


Fig. 3. Ipotesi di Mary Lyon (1961) sull'inattivazione del cromosoma X. A) durante l'embriogenesi precoce uno dei cromosomi X a caso (paterno o materno) di una femmina è inattivato (eterocromatizzato) e tutte le cellule discendenti si conformano alla decisione presa, configurando la femmina come mosaico di due popolazioni cellulari per l'X inattivo (Modificata da: *Strachan T, Read A, Genetica Molecolare Umana, Zanichelli, 2016, pag. 418)* [9]. B) La femmina normale 46 XX mantiene un cromosoma X attivo come il maschio che ne ha solo uno e silenzia l'altro cromosoma X che compare come masserella eterocromatica alla periferia del nucleo (corpo di Barr dal nome dello scopritore). Le patologie risultanti da aneuploidie del cromosoma X (45 XO e X extranumerari in maschi e femmine) hanno relativamente ridotte conseguenze fenotipiche perché l'X mancante è soggetto ad inattivazione e gli X in eccesso sono inattivati secondo la regola dell 'n-1 (inattivati tutti i cromosomi X meno uno).

Il meccanismo molecolare dell'inattivazione del cromosoma X (XCI) benchè intensamente investigato ha ancora punti enigmatici ma una sua trattazione è al di là dello scopo di questa nota. Riinvio quindi ad una review esaustiva [10] *e* mi limito qui a menzionare il gene "master" di questo processo epigenetico, XIST (**X** **I**nactive **S**pecific **T**ranscript) localizzato nella regione di 200 Kb del cromosoma X definita XIC (X Inactivation

Center) (*Fig. 4A*) [11]. XIST é espresso solo dal cromosoma X che verrà inattivato, avvia la fase iniziale di "conta" nelle cellule dell'embrione XX del numero di cromosomi X rispetto alla ploidia, effettua la "scelta" di quale dei due cromosomi X sia da inattivare e opera la "diffusione" in cis dello stato di inattivazione dal sito in cui è espresso mediante rivestimento o "coating" del cromosoma X che diverrà inattivo reclutando complessi repressivi che determinano ipoacetilazione degli istoni, introduzione di varianti istoniche, metilazione dei promotori genici con stabilizzazione della struttura eterocromatica (*Fig. 4A*). Centinaia di loci genici strettamente associati sono simultaneamente e stabilmente silenziati e tale condizione è mantenuta attraverso le divisioni mitotiche.

L'ipotesi di Mary Lyon ha aperto un campo paradigmatico per l'epigenetica all'intersezione della biologia dello sviluppo e la genetica che nel tempo ha mostrato sempre più rilevanza medica (gestione del paziente) e terapeutica.

3. Geni del cromosoma X che sfuggono all'inattivazione: geni immuno-relati e diversa suscettibilità di maschi e femmine a malattie infettive

L'inattivazione del cromosoma X non è né "*uniforme*" né "*completa*" ed è noto da quasi due decadi [12] che alcuni geni sfuggono a XCI e risultano espressi sia dall'X attivo che da quello inattivo, con un livello =>10% rispetto all'X attivo: questi geni presentano quindi livelli di espressione più alti, anche se non doppi, nelle femmine rispetto ai maschi. Recentemente un importante studio che ha utilizzato approcci innovativi di analisi di espressione (RNA Seq) su cellule singole e molteplici tessuti, integrati da analisi genomiche ha rivelato che circa 1/3 dei geni X-linked continuano ad essere espressi dall'X inattivo: di questi la metà sfuggono all'inattivazione in tutti gli individui e tessuti analizzati ("escapees regolari"), mentre l'altra metà sono riattivati in modo variabile tra individui e tipi cellulari ("escapees facoltativi") [13] (*Fig. 4B*). Nell'uomo i geni che sfuggono all'inattivazione sono raggruppati in domini che possono raggiungere dimensioni di megabasi e sono preferenzialmente localizzati sul braccio corto del cromosoma X perché questa regione è quella che più recentemente nel corso dell'evoluzione si è diversificata dall'Y [12]. Se i geni che sfuggono all'inattivazione sono implicati nella suscettibilità e/o decorso clinico di malattie, la variabilità tra individui e tessuti nel livello di espressione potrà influenzare la prevalenza sesso-specifica della patologia.

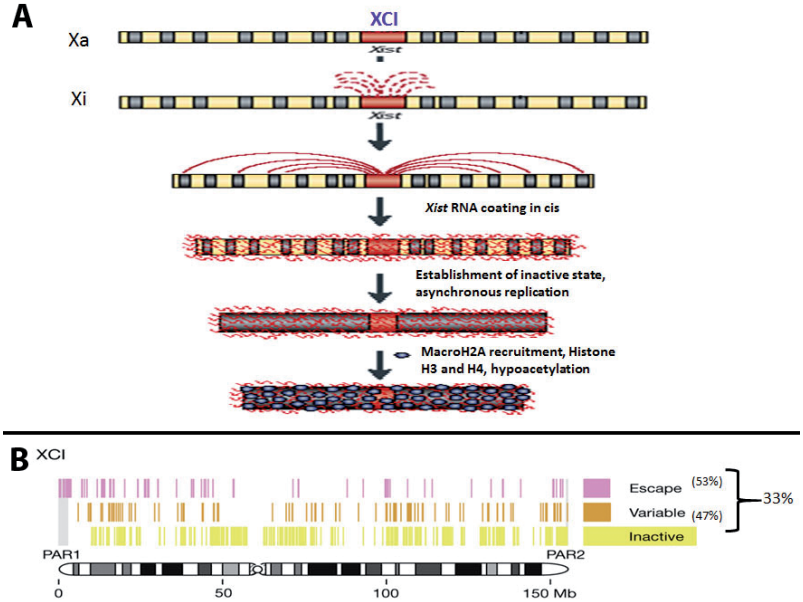


Fig. 4. Il processo epigenetico dell'inattivazione del cromosoma X. A) Il gene master del processo, *XIST* (*X* Inactive *S*pecific *T*ranscript), localizzato in una regione denominata centro di inattivazione dell'X (XIC) è trascritto sull'X che diventerà inattivo in un lungo RNA non codificante (lncRNA) che effettua un "coating" in cis del cromosoma e recluta, in cooperazione con altri lncRNA, complessi repressivi che introducono modificazioni a livello degli istoni e dei promotori genici che ne determinano lo stato inattivo. Questo é caratterizzato da replicazione asincrona rispetto al restante DNA genomico e dal silenziamento di centinaia di loci genici strettamente associati (Modificata da *Avner P, Heard E, Nat Rev Genet. 2001, 2(1):59-67* [11]. B) *Inattivazione incompleta del cromosoma X*: idiogramma del cromosoma X umano che a parte le regioni PAR1 e PAR2 dovrebbe essere tutto inattivato, come indicato dalle barrette gialle. In realtà circa 1/3 dei geni sfugge all'inattivazione: l' "escape" è completo tra individui e tessuti per la metà dei geni (barrette porpora), mentre è variabile tra individui e tessuti nella restante metà dei geni (barrette ocra). Dati estrapolati da *Tukiainen T et al., Nature 2017, 550:244-248*. [13]

Per quanto riguarda le infezioni è noto da tempo che ci sono diversità tra i sessi nella risposta immunitaria al patogeno e nella riparazione tissutale, che influenzano l'evoluzione della patologia. Ad es. i maschi sono più suscettibili alle infezioni acute delle femmine [14]. Inoltre la prevalenza dell'epatite A e della tubercolosi è notevolmente più elevata negli uomini e la carica virale è più elevata nei pazienti maschi con il virus dell'epatite C e dell'immunodeficienza (HIV). Al contrario le donne effettuano una clearance più veloce dei patogeni, montano una risposta

contro i vaccini dell'influenza stagionale due volte più efficace degli uomini, ma proprio per la loro risposta immunitaria più robusta sono anche più suscettibili a malattie autoimmuni [15, 16]. I meccanismi attraverso cui SARS-CoV-2 provoca una malattia più grave nei maschi che nelle femmine rimangono da decifrare.

Per tutte le infezioni la risposta da parte dell'ospite è allestita da cellule dell'immunità innata e adattativa che agiscono in sinergia ad una serie di mediatori chimici del siero (*Appendice A*) (*Fig. 5*).

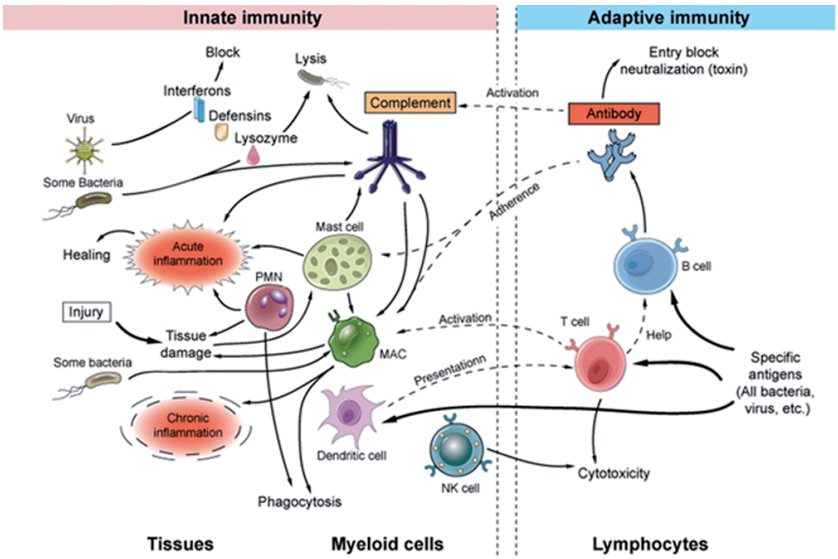


Fig. 5. Cellule dell'immunità innata e adattativa. A) Cellule e proteine del siero che intervengono nella *risposta immunitaria innata* verso un patogeno utilizzando meccanismi di difesa ad azione immediata presenti indipendentemente dall'agente estraneo e con specificità limitata a strutture comuni a gruppi di patogeni. Neutrofili, macrofagi, mastcellule, cellule Natural Killer e cellule plasmacitoidi dendridiche in sinergismo a mediatori serici dell'infiammazione, lisano le cellule infettate e fagocitano le particelle infettive. B) Le cellule dell'*immunità adattativa o acquisita*, linfociti T e B reagiscono ad un'ampia varietà di microbi e sostanze estranee riconoscendole con specificità e "memoria", ovvero la capacità di rispondere a ripetute esposizioni dello stesso "antigene" mediante gli anticorpi prodotti. La maggior parte degli effetti dell'immunità adattativa sono esercitati attraverso l'interazione degli anticorpi con il complemento e i fagociti dell'immunità innata, e delle cellule T con i macrofagi (linee tratteggiate) (vedi *Appendice A*).

Benché esista un dimorfismo dei cromosomi sessuali uomini e donne devono rispondere alle stesse sfide immunologiche. L'infiammazione viene considerata un'arma a doppio taglio: perché da un

lato è richiesta per il controllo e l'eliminazione di patogeni esterni, dall'altro una risposta infiammatoria eccessiva può portare a disfunzione d'organo o shock settico. Un'omeostasi immunologica ottimale si ha quando il patogeno è rimosso con alta efficienza e si evita il danno tissutale dell'ospite. Questa bilancia immunologica è diversa tra maschi e femmine. Il dimorfismo sessuale nella risposta immunitaria è presente anche negli individui sani e si evidenzia sia nei numeri di popolazioni di cellule immuno-relate che nelle concentrazioni di citochine del siero [17]. Le donne hanno un numero maggiore di cellule B, e di neutrofili, livelli serici più elevati di IgM, anticorpi che non hanno ancora effettuato il cosiddetto cambio di classe (switch isotipico), e un numero maggiore di cellule T CD4+. Gli uomini hanno numeri più alti di cellule T CD8+ e Natural Killer (*Fig. 6A,B*). Vi sono differenze tra i sessi nella produzione di citochine, con maggiori livelli di interferon di tipo 1 (IFNα) e di IL-10 nelle donne (*Fig. 6B*). Determinanti genetici contribuiscono alle differenze tra i sessi nella risposta immunitaria attivata dalla presenza di un patogeno. Nell'uomo le cellule della risposta immunitaria hanno un solo allele X-linked che può essere adeguato, ipo- o iper-responsivo in una certa condizione patologica. Nelle femmine che hanno due cromosomi X, nel caso di geni polimorfici nella popolazione, le cellule dell'immunità innata possono differire negli alleli parentali X-linked il che consente diversa capacità di regolazione ed attivazione. Inoltre esistono geni importanti per la risposta immunitaria che sfuggono alla XCI e sono espressi nelle femmine sia dall'X attivo, che da quello inattivo e geni che possono essere riattivati in cellule che partecipano alla risposta immunitaria ("escapees facoltativi") come dimostrato di recente per l'X inattivo delle cellule B e T "naive" (non ancora entrate in contatto con antigeni) [18]. Ci sono crescenti dimostrazioni che i linfociti umani e murini non mantengono l'inattivazione del cromosoma X con la stessa fedeltà di altre cellule somatiche suggerendo che si sono evoluti meccanismi che portano a rilassare il silenziamento dell'X inattivo per aumentare l'espressione di geni implicati nella risposta immunitaria per combattere le infezioni [19]. Se geni X-linked possono essere espressi in modo variabile su entrambi gli alleli nelle cellule dell'immunità, si avrà un'aumentata diversità della risposta immune. Tutto ciò fornisce un sistema più flessibile che si adatta meglio alla pato-fisiologia dinamica durante la risposta infiammatoria e spiega la più robusta risposta immunitaria delle femmine e la loro maggiore predisposizione a sviluppare malattie autoimmuni [15, 16]. Ai determinanti genetici si aggiungono nel corso della vita riproduttiva gli ormoni, estrogeni e testosterone che influenzano la risposta immunitaria innata e adattativa in presenza di patogeni sia attraverso

vie segnaletiche mediate da recettori presenti su cellule immunocompetenti che attraverso la presenza di elementi di risposta nei promotori di numerosi geni immuno-relati (*Fig. 6C*). Il profilo di espressione differenziale tra maschi e femmine contribuisce al bias per il sesso maschile evidenziato da studi epidemiologici in molte malattie infettive causate da agenti virali quali l'epatite A e B, l'Epstein Bar, il West Nile virus e i coronavirus della SARS e della MERS [17].

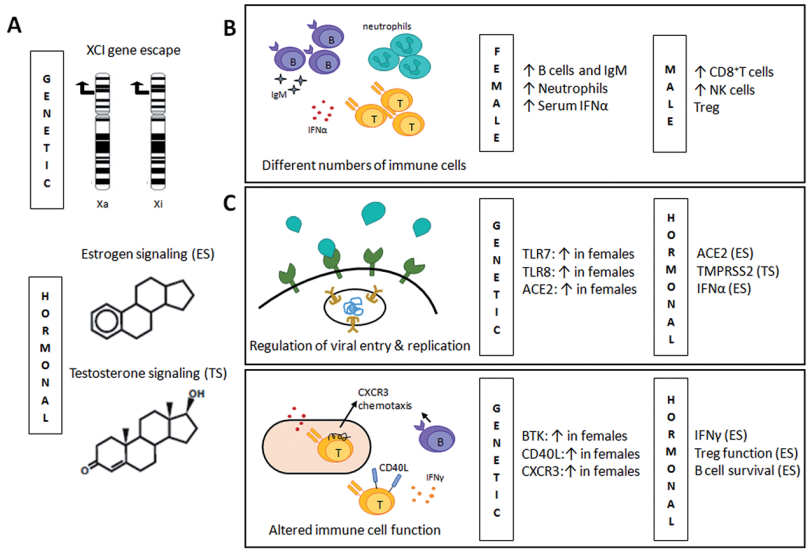


Fig. 6. Contributo di fattori genetici e ormonali a risposte immunologiche differenziali tra maschi e femmine. A) "Escape" di geni X-linked all'inattivazione del cromosoma X. B) Diverso numero di cellule e mediatori del siero coinvolti nella risposta immunitaria in maschi e femmine. *Legenda:* cellule B (viola), neutrofili (turchese), cellule T (arancio), IFNα (puntini rossi). C) Esempi di alterazioni dell'espressione genica innescate da fattori genetici e/o ormonali che portano a risposta immunitaria "sex biased". *Legenda:* virus (turchese), recettore cellulare per il virus (verde), TLR7 e TLR8 endosomali (arancio), RNA virale (filamenti bleu), cellule B (viola), cellule T (arancio), CD40L (azzurro su linfociti T), CXCR3 (puntini porpora), IFNɤ (puntini arancio). Modificata da: *Forsyth KS, Anguera MC, Curr Opin Physiol. 2021, 19:62-72* [17].

4. Il Cromosoma X e geni immuno-relati

La *Fig. 7* mostra una selezione di geni immuno-relati posizionati sull'idiogramma del cromosoma X umano. La probabilità di sfuggire all'inattivazione (completa o variabile tra individui e tessuti) varia tra i

geni e tra le diverse regioni cromosomiche. Nella regione del braccio corto dell'X (Xp22) prona a sfuggire all'inattivazione *TLR7*, *TLR8*, *ACE2* e *CYBB* hanno espressione biallelica nelle femmine. *TLR7* e *TLR8 (*Toll Like Receptor 7 e 8*),* geni con ruolo chiave nella risposta immunitaria innata, che rappresenta la prima linea di difesa dell'organismo, codificano recettori della famiglia Toll-like che riconoscono patogeni virali tra cui l'RNA a singolo filamento di COVID-19 in seguito al cui legame promuovono la produzione di citochine pro-infiammatorie, quali l'interferon di tipo 1 (vedi oltre).

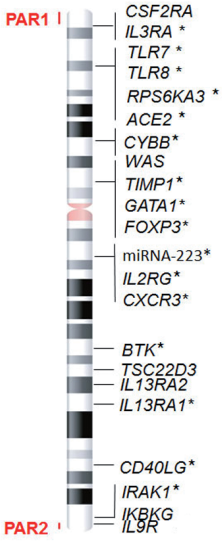


Fig. 7. Selezione di geni del cromosoma X che influenzano la risposta immunitaria. Il cromosoma X contiene circa 1100 geni e tra essi un centinaio influenzano direttamente o indirettamente l'immunità innata e adattativa. I geni asteriscati sono noti per sfuggire completamente o incompletamente l'inattivazione a cui soggiace la maggior parte del cromosoma X tranne le regioni PAR1 e PAR2. L'espressione biallelica di questi geni in cellule immunocompetenti contribuisce al sex bias dei maschi a malattie infettive così come al sex bias delle femmine a parecchie malattie autoimmuni.

ACE2 (Angiotensinogen Converting Enzyme 2) è cruciale per la patogenesi di COVID-19 perché il tropismo cellulare del virus si basa sull'interazione della proteina Spike, contenuta nelle strutture che formano la corona di SARS-CoV-2, con il recettore cellulare ACE2 che insieme alla serinproteasi TMPRSS2, determina un riarrangiamento

conformazionale che provoca la fusione delle membrane e quindi l'infezione [20]. Inoltre *ACE2* ha nel promotore elementi di risposta agli estrogeni che ne influenzano l 'espressione per cui anche per questo le donne in età riproduttiva hanno la potenzialità di produrne una maggior quantità rispetto ai maschi. L'aumentata espressione di *ACE2*, porta di ingresso del virus COVID-19 nelle cellule umane, dovrebbe causare una maggior gravità dell'infezione nelle donne, che però non si osserva clinicamente [4]. Studi recenti indicano che le donne esprimono livelli di ACE2 più elevati dei maschi in vari tessuti, inclusi il polmone e gli endoteli e sono protette da tali elevati livelli perché ACE2 regola negativamente l'angiotensinogeno che promuove danno polmonare e disfunzione vascolare, mostrando quindi ridotta suscettibilità a grave malattia polmonare e altre complicanze vascolari causate dall'infezione (*Fig. 8*) [17].

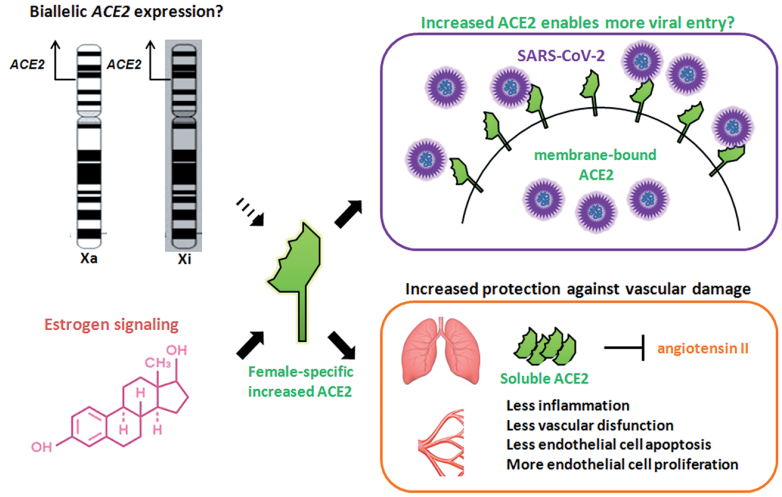


Fig. 8. Effetti diversi dell'espressione biallelica di ACE2 nella suscettibilità a SARS-CoV-2 e gravità della malattia da Covid-19. Il gene *ACE2* sfugge all'inattivazione dell'X ed è quindi espresso biallelicamente nelle donne oltre ad essere influenzato positivamente dagli estrogeni. Poiché il recettore ACE2 sulla membrana cellulare costituisce la porta di ingresso di COVID-19 nelle cellule umane ci si potrebbe attendere una maggior gravità dell'infezione nelle donne, contraddetta però dalle osservazioni cliniche. La forma solubile di ACE2 è un inibitore dell'angiotensina II, che promuove disfunzione vascolare e infiammazione a livello di vari tessuti, tra cui i polmoni. Livelli elevati di ACE2 sarebbero protettivi riducendo il rischio di danno polmonare ed evoluzione grave della malattia. Modificata da: *Forsyth KS , Anguera MC, Curr Opin Physiol. 2021;19:62-72* [17].

Proseguendo nell'esemplificazione di geni dell'X implicati nella risposta immunitaria e che sfuggono a XCI, *CYBBP* (cytochrome b-245 beta polypeptide) (*Fig. 7*) codifica per subunità catalitiche dell'enzima responsabile della produzione di superossidi da parte dei fagociti durante il burst ossidativo: le sue mutazioni sono responsabili della malattia granulomatosica cronica fatale nei maschi perché il mancato killing dei patogeni provoca infezioni ricorrenti e sepsi. Nella regione Xp11 con bassa probabilità di sfuggire a XCI mappano geni caratterizzati da espressione variabile da parte del cromosoma X inattivo, quali *TIMP1* (tissue inhibitor of metalloproteinase 1) che codifica un membro di una famiglia di proteine coinvolte nella risposta alle infezioni e allo shock settico e *FOXP3* (Fork head Box P3) per un fattore di trascrizione chiave per l'attivazione delle cellule T (*Fig. 7*). Il braccio lungo del cromosoma X che rappresenta la regione più conservata sotto il profilo evolutivo, contiene geni sensibili al dosaggio e strettamente sottoposti a XCI. Ci sono però regioni dove risiedono geni immuno-relati che sfuggono all'inattivazione in linfociti B e T maturi e per vantaggio funzionale diventano nelle donne iperespressi nei tessuti coinvolti nella risposta immunitaria: tra questi diversi geni per recettori di citochine (*ILR2G, IL13RA2, IL13RA1*) e chemochine, quale ad esempio *CXCR3* per chemochine con il motivo CXC, *BTK* (Bruton Tyrosine kinase) il cui prodotto è fondamentale per il differenziamento e attivazione dei linfociti B, *CD40L* che codifica una proteina (ligando di CD40) membro della famiglia del TNF (Tumor Necrosis Factor) che attiva il recettore delle cellule T necessario per la proliferazione delle cellule B, e *IRAK1* (Interkeukin Receptor Associated Kinase 1), coinvolta nella via segnaletica dei recettori toll-like (*Fig. 7*).

Uno studio recente che utilizza una piattaforma tecnologica avanzata ha dimostrato un'ampia eterogeneità nell'"escape" da XCI di *TLR7* e altri quattro geni dell'X (*RPS6KA3, CYBB, BTK e IL13RA1*) a livello di singole cellule plasmacitoidi dendritiche (pDC). La percentuale di pDC con espressione biallelica dei geni analizzati è risultata variabile nello stesso individuo dal 5.6% al 37.3%. E'stato dimostrato a livello di singola cellula che all'espressione biallelica corrisponde un livello maggiore di RNA messaggero di *TLR7* e di diversi geni per interferoni di tipo I: questa condizione fa sì che l'esposizione a interferon aumenti significativamente con un meccanismo di feedback autocrino e

paracrino la produzione di interferoni, i più potenti antivirali noti, da parte delle cellule dendritiche (*Fig. 9*) a conferma del contributo di geni del cromosoma X alle differenze tra i sessi nella risposta immunitaria innata [21].

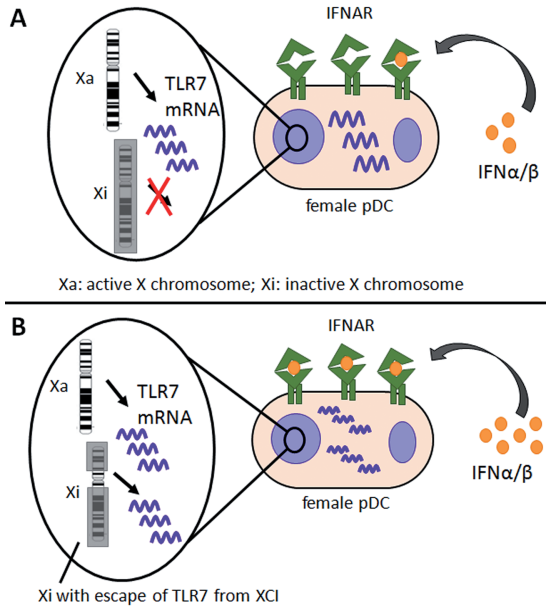


Fig. 9. Eterogeneità nell'"escape" dall'inattivazione del cromosoma X del gene dell'immunità innata TLR7 *in cellule plasmacitoidi dendritiche femminili.* Sono schematizzate due popolazioni cellulari coesistenti in cellule pDCs della stessa donna: cellule in cui *TLR7* è espresso solo dall'X attivo e cellule in cui *TLR7* sfugge all'inattivazione. Lo studio a livello di singole pDCs dell'mRNA *TLR7*-specifico ne rileva una maggiore quantità in cellule con espressione biallelica in cui è promossa maggior quantità di mRNA per interferoni (IFNα/β) e produzione di tali interferoni significativamente più elevata rispetto a cellule con espressione monoallelica. Ciò può innescare un meccanismo autocrino-paracrino basato sulla presenza del recettore per gli interferoni (IFNAR) sulla membrana di pDCs che porta ad una produzione maggiore nelle femmine. Modificata da: *Hagen SH et al Cell Rep. 2020,33(10):108485*[21].

5. Mutazioni del gene dell'immunità innata *TLR7* in giovani maschi con malattia COVID-19 grave

L'implicazione di TLR7 come nodo critico nel riconoscimento di COVID-19 e l'inizio della risposta immunitaria per ottenere la clea-

rance del virus e prevenirne la diffusione è dimostrata da uno studio olandese finalizzato ad esplorare varianti di geni associati alla risposta immune in maschi giovani (età inferiore ai 35 anni) ricoverati per COVID-19 in unità di terapia intensiva [22]. Da notare che 3.5% (399/11.430) dei pazienti ospedalizzati per COVID-19 in Olanda al maggio 2020 aveva età inferiore a 35 anni e che per questo gruppo di età 6 dei 7 pazienti deceduti erano maschi. Lo studio riguarda due coppie di fratelli da famiglie non relate (età media =26 anni) senza comorbidità ricoverati per grave COVID-19 tra fine marzo e metà aprile 2020 in unità di terapia intensiva, uno dei quali deceduto dopo 10 giorni per shock settico. Da notare che tutti e 4 i pazienti al ricovero in unità di terapia intensiva hanno presentato agli esami di laboratorio valori elevatissimi per proteina C reattiva, un marker di infiammazione riconosciuto come predittivo di decorso sfavorevole di polmonite da COVID-19 [7]. Il sequenziamento di nuova generazione dell'esoma (l'intera porzione del genoma codificante proteine) ha evidenziato nei tre maschi sopravvisuti varianti patogenetiche "da perdita di funzione" nel gene *TLR7*. Come appare dall'analisi degli alberi genealogici (*Fig. 10*) la madre dei due fratelli affetti della prima famiglia è portatrice sana di una variante del gene *TLR7,* che trasmette ad entrambi i figli i quali essendo maschi la portano in emizigosi e manifestano il suo effetto in tutte le cellule. I maschi della seconda famiglia condividono una variante di *TLR7* di presunta origine materna (*Fig. 10A*) La variante che segrega nella famiglia 1 è una delezione di 4 basi nell'esone 3 di *TLR7* che fa slittare la cornice di lettura a triplette del codice genetico e porta ad esposizione di un codone di stop della traduzione a valle con predizione di una proteina tronca, mentre la variante della seconda famiglia è una mutazione missenso in una regione del gene altamente intollerante alla variazione, che porta a sostituzione di un singolo aminoacido della proteina recettoriale TLR7, indicata come deleteria dai tools bioinformatici predittivi (*Fig. 10B*). Studi funzionali confermano che entrambe le mutazioni sono da "perdita di funzione". Difatti dopo stimolazione in vitro con un agonista di TLR7 (imiquimod) dei linfociti del sangue periferico dei pazienti non si rileva espressione di mRNA *TLR7*-specifico a differenza dei genitori dei pazienti e dei controlli (*Fig. 11A*). Nelle cellule mononucleate dei pazienti la via segnaletica dell'interferon è downre-

golata, come si evidenzia dalla espressione dei trascritti dei geni *IRF7*, *ISG15* e *IFNB1* e dalla produzione di interferon ɤ significativamente diminuite nelle cellule mononucleate dei pazienti stimolate in vitro con imiquimod rispetto a genitori e controlli (*Fig. 11B,C,D,F*). Il signaling indotto dal legame di TLR7 con l'RNA a singolo filamento di SARS-CoV-2 endosomale produce in condizioni fisiologiche effetti a valle che culminano nella trascrizione di geni stimolati dall'interferon e nella produzione di interferoni (*Fig. 12A*), mentre la disfunzionalità del recettore TLR7 a seguito della mutazione determina il blocco /riduzione di tali effetti (*Fig. 12B*).

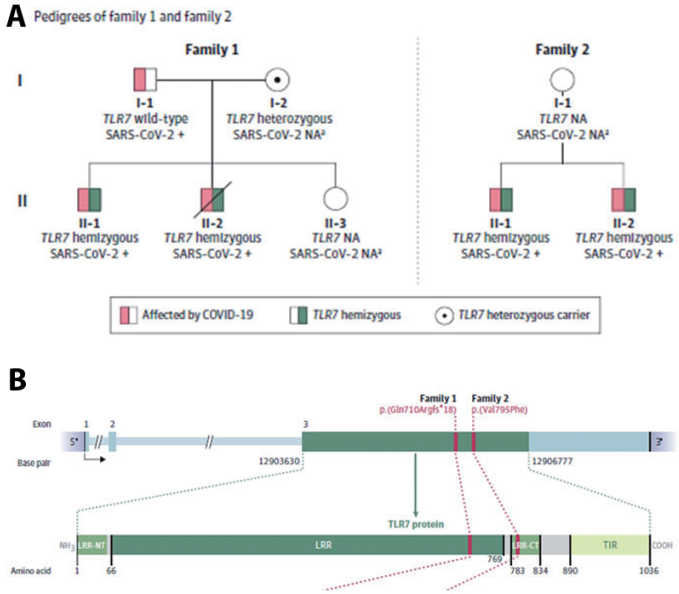


Fig. 10. Identificazione di varianti patogenetiche di TLR7 *in 4 pazienti maschi con grave malattia da COVID-19 appartenenti a due famiglie non relate.* A) Pedigree delle due famiglie: i quadrati indicano i maschi e i cerchi le femmine. La riga diagonale sul simbolo indica che l'individuo è deceduto. I simboli sono divisi in due parti: l'emiquadrante rosa indica che il soggetto è affetto da COVID-19, l'emiquadrante verde indica la presenza di una mutazione di *TLR7* in emizigosi (i maschi hanno un unico cromosoma X). Il punto all'interno del simbolo della madre dei due affetti della prima famiglia indica che essa è una portatrice sana della mutazione di *TLR7* trasmessa ad entrambi i figli. Anche i maschi della seconda famiglia condividono una variante patogenetica di *TLR7*. B) Mutazioni di *TLR7* in ciascuna famiglia a livello del DNA e della proteina. Modificata da: *van der Made CI et al., JAMA. 2020;324(7):663-673*[22].

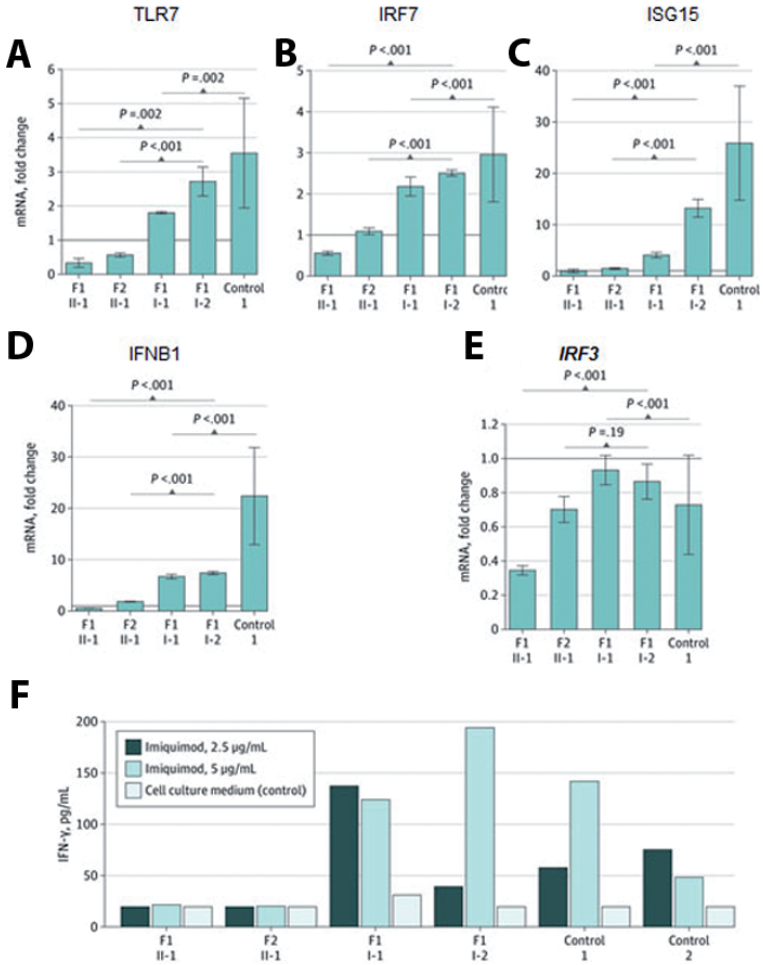


Fig. 11. Determinazione delle risposte degli interferon (IFN) di tipo I e II alla stimolazione con un agonista di TLR7 *in cellule mononucleate del sangue periferico di pazienti con COVID-19 grave e varianti da perdita di funzione di* TLR7 *e controlli.* A) Livelli di espressione del trascritto (mRNA) di *TLR7* negli affetti (II-1) della prima e seconda famiglia (F1 e F2) rispetto ai genitori (F1) e a controlli sani dopo stimolazione in vitro per 4 hr con imiquimod (5mg/mL) di TLR7. B), C), D) Livelli di espressione di mRNA dei geni, relati a IFN tipo I, *IRF7* (Interferon Regulatory Factor 7), *ISG15* (Interferon Stimulated Gene 15) e *IFNB1* (Interferon beta 1) e E) *IRF3* (Interferon Regulatory Factor 3) indotti da imiquimod 5mg/mL rispetto a controlli negativi. F) Produzione di IFN-ɤ dopo stimolazione con imiquimod per 7 giorni rispetto a cellule di controlli non stimolate. Modificata da: *van der Made CI et al., JAMA. 2020;324(7):663-673*[22].

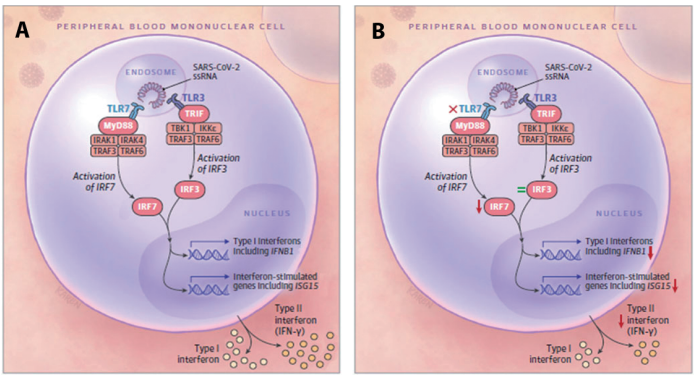


Fig. 12. Via segnaletica del recettore TLR7 in cellule mononucleate del sangue periferico. A) Il signaling di TLR7 è attivato dal suo legame all'RNA a singolo filamento (ssRNA) di SARS-CoV-2 all'interno di endosomi. Gli effetti a valle sono trasdotti dalla proteina adattatrice MyD88, le tirosinchinasi associate IRAK1 e IRAK4 e le ubiquitinligasi TRAF3 e TRAF6. Segue l'attivazione del fattore 7 di regolazione dell'interferon, codificato dal gene *IRF7,* che traslocando nel nucleo induce la trascrizione di geni dell'interferon di tipo I che includono *IFNB1* per l'interferon beta 1 e i geni stimolati dall'interferon (*ISG*s) tra cui *ISG15.* In parallelo il recettore TLR3 agisce anch'esso come sensore dell'RNA virale endosomale e attiva la specifica proteina adattatrice TRIF, le associate chinasi e ligasi che attivano il fattore 3 di regolazione dell'interferon (codificato da *IRF3)* che trasloca nel nucleo dove la sua attività di induzione della trascrizione dei geni per IFN tipo I confluisce con quella di TLR7. B) La deficienza/disfunzione di TLR7 conseguente a mutazioni geniche (indicata dalla crocetta rossa) deprime la regolazione dei geni effettori *IRF7*, *IFNB1* e *ISG15* (freccette rosse all'ingiù) e la produzione di IFNs. L'attività di TLR3 rimane inalterata (indicato dal segno =). Modificata da: *van der Made CI et al., JAMA. 2020;324(7):663-673*[22].

La presenza di mutazioni rare nello stesso gene in soggetti con una inusuale presentazione di COVID-19 (malattia grave in giovani maschi precedentemente sani) è statisticamente improbabile si sia verificata per caso. Benché le mutazioni descritte per la loro rarità non giustificano il sex bias dei maschi nella malattia da COVID-19 grave e potenzialmente letale, esse implicano TLR7 come nodo critico nel riconoscimento di COVID-19 e l'inizio della risposta immunitaria precoce per ottenere la clearance del virus e prevenirne la diffusione. Studi di sequenziamento dell'intero esoma volti ad identificare varianti rare e comuni di *TLR7* e di altri geni dell'immunità innata del cromosoma X potranno districare il rapporto causa-conseguenze e definire il contributo della biologia unica del cromosoma X nell'evoluzione grave dell'infezione di SARS-CoV-2, generando strumenti per guidare gli interventi terapeutici atti a prevenire o trattare la patologia.

BIBLIOGRAFIA

1) Karlberg, J., Chong, D. S. & Lai, W. Y. Do men have a higher case fatality rate of severe acute respiratory syndrome than women do? Am. J. Epidemiol. 159, 229–231 (2004).
2) Alghamdi, I. G. et al. The pattern of Middle East respiratory syndrome coronavirus in Saudi Arabia: a descriptive epidemiological analysis of data from the Saudi Ministry of Health. Int. J. Gen. Med. 7,417–423 (2014).
3) Peckham H, de Gruijter NM, Raine C, Radziszewska A, Ciurtin C, Wedderburn LR, Rosser EC, Webb K, Deakin CT. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU admission. Nat Commun. 2020 Dec 9;11(1):6317. doi: 10.1038/s41467-020-19741-6. PMID: 33298944.
4) Scully EP, Haverfield J, Ursin RL, Tannenbaum C, Klein SL. Considering how biological sex impacts immune responses and COVID-19 outcomes. Nat Rev Immunol. 2020 Jul;20(7):442-447. doi: 10.1038/s41577-020-0348-8. Epub 2020 Jun 11. PMID: 32528136; PMCID: PMC7288618.
5) Takahashi T, Ellingson MK, Wong P, Israelow B, Lucas C, Klein J, Silva J, Mao T, Oh JE, Tokuyama M, Lu P, Venkataraman A, Park A, Liu F, Meir A, Sun J, Wang EY, Casanovas-Massana A, Wyllie AL, Vogels CBF, Earnest R, Lapidus S, Ott IM, Moore AJ; Yale IMPACT Research Team, Shaw A, Fournier JB, Odio CD, Farhadian S, Dela Cruz C, Grubaugh ND, Schulz WL, Ring AM, Ko AI, Omer SB, Iwasaki A. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. Nature. 2020 Dec;588(7837):315-320. doi: 10.1038/s41586-020-2700-3. Epub 2020 Aug 26. PMID: 32846427; PMCID: PMC7725931.
6) Takahashi T, Iwasaki A. Sex differences in immune responses. Science. 2021 Jan 22;371(6527):347-348. doi: 10.1126/science.abe7199. PMID: 33479140.
7) Scully EP, Gupta A, Klein SL. Sex-biased clinical presentation and outcomes from COVID-19. Clin Microbiol Infect. 2021 Apr 1:S1198-743X(21)00162-2. doi: 10.1016/j.cmi.2021.03.027. Epub ahead of print. PMID: 33813116; PMCID: PMC8015344.
8) Lyon M. Gene Action in the X-chromosome of the Mouse (Mus musculus L.) Nature 190, 372 - 373 (22 aprile 1961).
9) Strachan T & Read A, Genetica Molecolare Umana (prima Edizione Zanichelli condotta sulla quarta Edizione Americana, Maggio 2012), Pag. 418.
10) Galupa R, Heard E. X-Chromosome Inactivation: A Crossroads Between Chromosome Architecture and Gene Regulation. Annu Rev Genet. 2018 Nov 23;52:535-566. doi: 10.1146/annurev-genet-120116-024611. Epub 2018 Sep 26. PMID: 30256677.
11) Avner P, Heard E. X-chromosome inactivation: counting, choice and initiation. Nat Rev Genet. 2001 Jan;2(1):59-67. doi: 10.1038/35047580. PMID: 11253071.
12) Carrel L, Willard HF. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. Nature. 2005 Mar 17;434(7031):400-4. doi: 10.1038/nature03479. PMID: 15772666.
13) Tukiainen T, Villani AC, Yen A, Rivas MA, Marshall JL, Satija R, Aguirre M,

Gauthier L, Fleharty M, Kirby A, Cummings BB, Castel SE, Karczewski KJ, Aguet F, Byrnes A; GTEx Consortium; Laboratory, Data Analysis &Coordinating Center (LDACC)—Analysis Working Group; Statistical Methods groups—Analysis Working Group; Enhancing GTEx (eGTEx) groups; NIH Common Fund; NIH/NCI; NIH/NHGRI; NIH/NIMH; NIH/NIDA; Biospecimen Collection Source Site—NDRI; Biospecimen Collection Source Site—RPCI; Biospecimen Core Resource—VARI; Brain Bank Repository—University of Miami Brain Endowment Bank; Leidos Biomedical—Project Management; ELSI Study; Genome Browser Data Integration &Visualization—EBI; Genome Browser Data Integration &Visualization—UCSC Genomics Institute, University of California Santa Cruz, Lappalainen T, Regev A, Ardlie KG, Hacohen N, MacArthur DG. Landscape of X chromosome inactivation across human tissues. Nature. 2017, 550:244-248. doi: 10.1038/nature24265.

14) Chamekh M, Casimir G. Editorial: Sexual Dimorphism of the Immune Inflammatory Response in Infectious and Non-infectious Diseases. Front Immunol. 2019 Feb 5;10:107. doi: 10.3389/fimmu.2019.00107. PMID: 30804936; PMCID: PMC6371857.

15) Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. Nat Rev Immunol. 2016 Oct;16(10):626-38. doi: 10.1038/nri.2016.90. Epub 2016 Aug 22. PMID: 27546235.

16) Schurz H, Salie M, Tromp G, Hoal EG, Kinnear CJ, Möller M. The X chromosome and sex-specific effects in infectious disease susceptibility. Hum Genomics. 2019 Jan 8;13(1):2. doi: 10.1186/s40246-018-0185-z. PMID: 30621780; PMCID: PMC6325731.

17) Forsyth KS, Anguera MC. Time to get ill: the intersection of viral infections, sex, and the X chromosome. Curr Opin Physiol. 2021 Feb;19:62-72. doi: 10.1016/j.cophys.2020.09.015. Epub 2020 Oct 13. PMID: 33073073; PMCID: PMC7553007.

18) Syrett CM, Anguera MC. When the balance is broken: X-linked gene dosage from two X chromosomes and female-biased autoimmunity. J Leukoc Biol. 2019 Oct;106(4):919-932. doi: 10.1002/JLB.6RI0319-094R. Epub 2019 May 24. PMID: 31125996; PMCID: PMC7206452.

19) Wang J, Syrett CM, Kramer MC, Basu A, Atchison ML, Anguera MC. Unusual maintenance of X chromosome inactivation predisposes female lymphocytes for increased expression from the inactive X. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Apr 5;113(14):E2029-38. doi: 10.1073/pnas.1520113113. Epub 2016 Mar 21. PMID: 27001848; PMCID: PMC4833277.

20) Wang Q, Zhang Y, Wu L, Niu S, Song C, Zhang Z, et al. Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. Cell.2020; May 14;181(4):894-904.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.03.045. Epub 2020 Apr 9. PMID: 32275855; PMCID: PMC7144619.

21) Hagen SH, Henseling F, Hennesen J, Savel H, Delahaye S, Richert L, Ziegler SM, Altfeld M. Heterogeneous Escape from X Chromosome Inactivation Results in Sex Differences in Type I IFN Responses at the Single Human pDC

Level. Cell Rep. 2020 Dec 8;33(10):108485. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108485. PMID: 33296655; PMCID: PMC7833293.

22) van der Made CI, Simons A, Schuurs-Hoeijmakers J, van den Heuvel G, Mantere T, Kersten S, van Deuren RC, Steehouwer M, van Reijmersdal SV, Jaeger M, Hofste T, Astuti G, Corominas Galbany J, van der Schoot V, van der Hoeven H, Hagmolen Of Ten Have W, Klijn E, van den Meer C, Fiddelaers J, de Mast Q, Bleeker-Rovers CP, Joosten LAB, Yntema HG, Gilissen C, Nelen M, van der Meer JWM, Brunner HG, Netea MG, van de Veerdonk FL, Hoischen A. Presence of Genetic Variants Among Young Men With Severe COVID-19. JAMA. 2020 Aug 18;324(7):663-673. doi: 10.1001/jama.2020.13719. PMID: 32706371; PMCID: PMC7382021.

APPENDICE A
Immunità innata e adattativa

Immunità innata: sistema caratterizzato da meccanismi di difesa preesistenti all'infezione e per questo non dotati di specificità, ma di rapidità di azione. Costituisce la prima linea di difesa contro agenti patogeni chimici, fisici e biologici.

Cellule immunità innata: riconoscono molecole comuni a classi di microbi diversi e non hanno memoria. Rispondono ai patogeni lisando cellule infettate e fagocitando le particelle infettive e rilasciando segnali. Comprendono Neutrofili, Mastcellule, Macrofagi, Cellule Natural killer (NK) e Cellule plasmacitoidi dendritiche (pDC).

NK: grandi linfociti granulari capaci di distruggere cellule infettate da virus senza precedente esposizione o presentazione.

pDC: così chiamate per la forma ramificata derivano dalle cellule staminali ematopoietiche del midollo osseo. Appartengono alla categoria delle cellule che presentano l'antigene (APC o Antigen Presenting Cells): possono internalizzare l'antigene e processarlo per la presentazione ai linfociti T o mantenerlo sulla loro superficie in forma nativa disponibile ai linfociti B specifici per quell'antigene. Secernono grandi quantità di interferon di tipo 1 in risposta a infezioni virali.

Tutti i fagociti agiscono in concerto con mediatori plasmatici che includono, oltre al **sistema del complemento** le **Citochine,** proteine che fungono da segnali di comunicazione tra le cellule del sistema immunitario e tra queste e i diversi organi e tessuti e le **Chemochin**e, proteine segnaletiche coinvolte nella chemiotassi di cellule della risposta immunitaria nell'area di infiammazione.

Immunità adattativa: sistema caratterizzato dall'adattamento a ciascun agente patogeno e conseguente risposta specifica che necessita di più tempo per agire rispetto all'immunità innata. Si distingue in immunità umorale e cellulo-mediata a seconda che il patogeno sia esogeno o endogeno.

Cellule dell'immunità adattativa: nel caso di patogeni e tossine extracellulari sono attivati i **linfociti B** che secernono allo stadio di plasmacellule anticorpi specifici che legano e neutralizzano lo specifico antigene. Dopo l'incontro con l'antigene alcune cellule B antigene-specifiche entrano nei centri germinativi di organi linfoidi e cambiano il dominio costante dei loro geni per le immunoglobuline deter-

minando una maggiore affinità per quello specifico antigene. Sono anche generate cellule "memoria" a lunga vita in grado di rispondere rapidamente nel caso di un secondo assalto da parte dello stesso patogeno.

Nel caso di antigeni endogeni sono attivati i **linfociti T** che si dividono in helper, citotossici e soppressori. Gli **helper**, sottotipo di linfociti CD4+, riconoscono gli antigeni esposti sulla superficie di cellule deputate alla "presentazione" dell'antigene, secernono citochine che attivano i fagociti a distruggere i microorganismi che hanno inglobato e coadiuvano i linfociti B nella produzione di anticorpi. I **citotossici** CD8+ riconoscono antigeni esposti sulla membrana di cellule infettate e le lisano e i **soppressori** o **Treg,** sottotipo di linfociti CD4+, modulano la risposta immunitaria all'infezione sopprimendo le cellule T autoreattive in periferia.

L'immunità innata e adattative agiscono in cooperazione bidirezionale per generare una risposta più mirata ed efficace.

UNO SGUARDO ALL'INTERNO DEL CORPO UMANO: LA SPETTROSCOPIA OTTICA TEMPO RISOLTA PER LA DIAGNOSTICA CLINICA NON-INVASIVA

ANTONIO PIFFERI (*)

Nota presentata dal m.e. Sandro de Silvestri
(Adunanza del 4 febbraio 2021)

SUNTO. – L'ottica diffusa studia la propagazione della luce in mezzi fortemente diffondenti (es. tessuti biologici). Le tecniche tempo-risolte, che misurano la distribuzione di tempi di volo dei fotoni nel mezzo, consentono di separare il contributo dell'assorbimento (legato alla composizione chimica) dallo scattering (prodotto dalla microstruttura). Inoltre, all'aumentare del tempo di volo del fotone è possibile indagare il tessuto a profondità crescenti. Queste due proprietà, unite all'intrinseca non-invasività della tecnica, sono molto interessanti per applicazioni cliniche, quali la diagnosi del tumore al seno, la visualizzazione dell'attività cerebrale, l'analisi funzionale e metabolica dei tessuti biologici in profondità. La tecnologia ha subito uno sviluppo impressionante, passando da sistemi laser di laboratorio a dispositivi miniaturizzati indossabili. Per garantire l'affidabilità delle informazioni ricavate *in vivo* è necessaria la collaborazione internazionale per stabilire protocolli obiettivi di validazione, in vista di una sempre maggiore diffusione della metodica, dalla clinica all'uso domestico.

***

ABSTRACT. – Diffuse optics studies the propagation of light in highly scattering media (*e.g.* biological tissues). Time-resolved techniques – which measure the time-of-flight distribution of photons in the medium – permit to separate the contribution of absorption (linked to chemical composition) from scattering (produced by microstructure). Furthermore, for increasing photon time-of-flight, larger tissue depths are reached. These two properties, combined with the intrinsic non-invasiveness of the technique, are very interesting for clinical applications, such as diagnosis of breast cancer, imaging of brain activity, mon-

(*) Dipartimento di Fisica, Politecnico di Milano, Italy.
E-mail: antonio.pifferi@polimi.it

itoring the functional and metabolic state of biological tissues in depth. The technology has undergone impressive growth, moving from laboratory laser systems to miniature wearable devices. To grant the reliability of the information obtained *in vivo*, international collaboration is needed to set objective validation protocols, in view of a growing diffusion of the method, from clinical diagnostics to home care.

1. Introduzione

L'ottica diffusiva (Diffuse Optics – DO) è una branca della fisica che studia la propagazione della luce in mezzi fortemente diffondenti, quali ad esempio i tessuti biologici nella regione spettrale del visibile e del vicino infrarosso [1]. Questi materiali sono caratterizzati da un coefficiente di diffusione (scattering) molto maggiore rispetto al coefficiente di assorbimento, con la conseguenza che i fotoni si propagano nel materiale seguendo un percorso irregolare. L'ottica diffusiva è particolarmente interessante in ambito di diagnostica clinica in quanto tecnica totalmente non-invasiva che consente di ottenere informazioni relative alla composizione chimica (spettri di assorbimento) e alla microstruttura (spettri di scattering) a profondità di alcuni cm all'interno del corpo umano.

Esistono diverse metodiche per lo studio dell'ottica diffusiva in materiali biologici. In generale, viene iniettata della radiazione luminosa (quasi sempre prodotta da laser) in uno o più punti del mezzo, e vengono raccolti i fotoni che riemergono sulla superficie in uno o più punti ad una certa distanza dal punto di iniezione (distanza sorgente-rivelatore). La distribuzione dei fotoni riemessi può essere studiata in funzione della distanza sorgente rivelatore – Spatial Domain (SD) [2] – della frequenza di modulazione dell'intensità della sorgente laser – Frequency Domain (FD) [3] – del tempo di volo del fotone nel mezzo – Time Domain (TD) [4]. In questa Nota verrà analizzata esclusivamente la tecnica TD, che offre la migliore informazione sul mezzo (§ 2) a fronte di una maggiore complessità strumentale (es. sistemi laser impulsati, rivelazione al singolo fotone e risoluzione temporale alle decine di ps).

Nel seguito, verrà prima discussa la Fisica dell'ottica diffusa (§ 2), poi verranno mostrati alcuni esempi di applicazioni in ambito biomedicale (§ 3), in seguito sarà presentata l'evoluzione della tecnologia utilizzata per le misure e le prospettive di sviluppo (§ 4). Completeranno la Nota una discussione delle problematiche di standardizzazione a livello internazionale (§ 5) e le conclusioni finali (§ 6).

2. Fisica dell'Ottica Diffusa

I coefficienti di assorbimento (μ_a) e di scattering (μ'_s) in un mezzo fortemente diffondente possono essere interpretati, rispettivamente, come l'inverso del libero cammino medio tra due eventi di assorbimento o di scattering elastico. La descrizione della propagazione del fotone si basa sull'Equazione del Trasporto Radiativo (RTE), comune a diversi fenomeni di trasporto di particelle (*e.g.* astrofisica, ottica dell'atmosfera, fisica del reattore nucleare) [5], [6]. La RTE esprime un bilancio energetico in un piccolo elemento di volume dV riferito ad un numero n di fotoni per unità di volume che si propaga in un mezzo diffondente lungo la direzione $\mathbf{\Omega}$:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = -v\mathbf{\Omega} \cdot \nabla n - v\mu_a n - v\mu_s n + v\mu_s \int_{4\pi} p(\mathbf{\Omega}' \cdot \mathbf{\Omega}) n d\mathbf{\Omega}' + s \qquad (1)$$

Il primo termine a destra dell'uguale rappresenta la variazione spaziale di densità di fotoni lungo la direzione $\mathbf{\Omega}$ in uscita dal volumetto; il secondo e terzo termine la perdita di fotoni per effetto di assorbimento o scattering verso un'altra direzione; il quarto termine è il contributo dei fotoni che entrano in dV con direzione finale di propagazione $\mathbf{\Omega}$ provenendo da una direzione diversa $\mathbf{\Omega'}$ con probabilità di deviazione $p(\Omega' \cdot \Omega)$; s è un termine di sorgente (ad esempio fotoni iniettati in dV da una fibra ottica).

Sotto opportune ipotesi (ad esempio $\mu_a \ll \mu_s$, elevato numero di interazioni di scattering per perdere memoria della direzione di incidenza) è possibile ricavare l'Equazione della Diffusione [4], [7], [8] che congloba l'informazione sulla distribuzione degli angoli di scattering $p(\Omega' \cdot \Omega)$ nel coefficiente di scattering ridotto $\mu_s' = \mu_s (1 - g)$), ove g è il coseno medio degli angoli di scattering. Sotto queste condizioni, è possibile ricavare l'espressione della distribuzione di probabilità (Riflettanza) dei tempi di riemissione di un fotone sulla superficie di un mezzo omegeneo semi-infinito ad una distanza ρ dal punto di iniezione:

$$R(r,t) \propto \psi_B(\mu'_s, t) t^{-5/2} exp(-\frac{3\rho^2 \mu'_s}{4vt}) exp(-\mu_a v t) \qquad (2)$$

dove t è il tempo di propagazione del fotone, v la velocità della luce nel mezzo e ψ_B (μ_s', t) un termine che dipende dalle condizioni al contorno del mezzo in esame.

Due sono le proprietà più rilevanti della tecnica TD rispetto ad altre metodiche in uso nella DO [9]. La prima si evince direttamente dall'Eq. 2, ossia la possibilità di separare μ_a da μ_s' in base al differente effetto sulla propagazione temporale del fotone. Con riferimento alla *Fig. 1*, mentre lo scattering aumenta la larghezza e ritardo della curva di riflettanza risolta in tempo (destra), l'assorbimento ne influenza la pendenza asintotica (sinistra). Questa proprietà è stata mostrata nel caso omogeneo, ma anche in geometrie eterogenee, tipiche dei tessuti biologici, il differente effetto dei due parametri ottici sul tempo di volo del fotone consente di separare i due coefficienti, che sono legati, rispettivamente, alla composizione del tessuto (assorbimento) ed alla microstruttura (scattering).

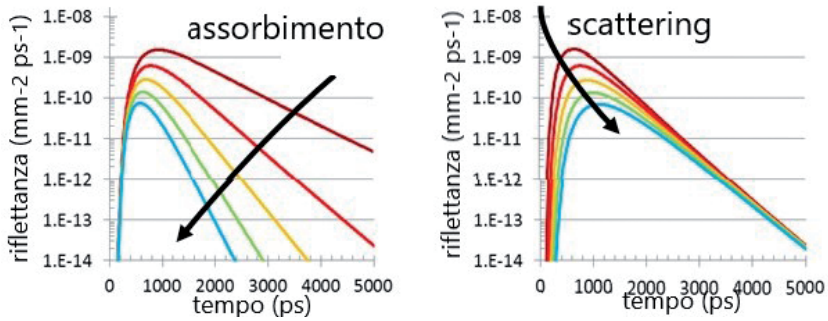


Fig. 1. Distribuzione di probabilità dei tempi di volo dei fotoni riemessi alla superficie di un mezzo diffusivo ad una certa distanza dal punto di iniezione. L'assorbimento influenza prevalentemente la coda esponenziale della distribuzione, mentre lo scattering ritarda la posizione temporale del picco.

La seconda proprietà è la capacità della misura TD-DO di individuare regioni diverse, esplorate dal fotone lungo il cammino in funzione del tempo di volo complessivo. Fotoni con un tempo di volo elevato (*late*) hanno esplorato mediamente più in profondità il tessuto rispetto ai fotoni rilevati a tempi brevi (*early*). E' possibile ipotizzare una sorta di "ecografia ottica", dove il tempo di volo del fotone codifica la profondità massima raggiunta.

3. Applicazioni in Biomedicina

La grande attrattiva dell'ottica diffusa nella diagnostica clinica risiede nell'intrinseca non-invasività della luce a bassa potenza e nella

capacità di estrarre informazioni composizionali e funzionali in profondità dal tessuto biologico. Le classiche tecniche non invasive di diagnostica medica sono basate in genere su informazioni morfologiche (esempio raggi X, ultrasuoni, risonanza magnetica). Più difficile, invece, risalire ad informazioni metaboliche, funzionali o sulla composizione chimica. Nel seguito verranno analizzati tre casi paradigmatici per comprendere vantaggi e limitazioni delle tecniche ottiche.

3.1 Diagnostica e prevenzione del tumore al seno

Il tumore al seno è la tipologia di cancro più comune nelle donne e la seconda causa di morte dopo le malattie cardiovascolare in diversi paesi [10]. L'incidenza del tumore al seno in Europa è di circa 1 donna su 8. D'altra parte, il cancro alla mammella è tra i tipi di tumore che maggiormente possono beneficiare di diagnosi precoce e terapia. Un tumore maligno rivelato in fase precoce (nodulo <2 cm e senza coinvolgimento dei linfonodi) porta ad una quasi completa guarigione (remissione della patologia a 5 anni del 90-95%) [11]. La combinazione di tecniche chirurgiche focalizzate e di un ampio spettro di terapie personalizzate consente di aggredire il tumore in maniera molto efficace, con grande vantaggio anche per la qualità di vita della paziente.

Un primo ambito di possibile utilizzo dell'ottica diffusa riguarda la diagnosi di lesioni maligne alla mammella e la loro discriminazione rispetto a innocue lesioni benigne [12]. *Fig. 2* mostra le immagini di una mammella compressa, ottenute con l'ottica diffusa in geometria di trasmittanza a varie lunghezze d'onda, confrontate con la corrispondente immagine di mammografia X (nei riquadri in alto a sinistra). La tecnica ottica consente di stimare la composizione della lesione sospetta in termini di contenuto di emoglobina ossigenata (HbO_2) e deossigenata (Hb), acqua, lipide e collagene. Queste informazioni sono mancanti nelle tecniche diagnostiche di primo livello (mammografia X, ultrasuoni) e possono consentire di differenziare una lesione maligna da una lesione benigna, sulla base, ad esempio, del maggior contenuto di sangue e di collagene. Per contro, la risoluzione spaziale è molto limitata (nell'ordine di mezzo cm) per effetto della diffusione della luce, e quindi la metodica ottica deve essere necessariamente affiancata ad altre tecniche classiche morfologiche per l'individuazione della lesione sospetta.

Una seconda prospettiva attraente è l'utilizzo della DO per l'individuazione di coorti di popolazione a rischio di sviluppare il tumore alla

mammella. Grazie all'enorme tasso di successo del trattamento in fase precoce, l'identificazione delle donne a maggior rischio consente di mantenerle sotto controllo con tecniche d'elezione e di intervenire tempestivamente ai primi segnali. Chiaramente queste procedure non sono sostenibili per l'intera popolazione. Studi clinici su centinaia di pazienti in collaborazione tra il Politecnico di Milano e l'Istituto Europeo di Oncologia hanno evidenziato una forte correlazione tra una opportuna combinazione di parametri ottici e la densità mammografica [13], che è un indice noto di rischio di tumore al seno (con un aumento dell'incidenza di 4-6 volte nel seno denso [14], [15]. Ancora più interessante l'osservazione, in uno studio clinico retrospettivo effettuato con le tecniche ottiche tempo risolte, che nelle mammelle con contenuto di collagene particolarmente elevato si riscontra una percentuale più elevata di lesioni maligne [16]. Se confermato su studi più estesi, questo risultato potrebbe portare ad una migliore individuazione delle classi di donne a rischio con una diagnosi personalizzata più efficace.

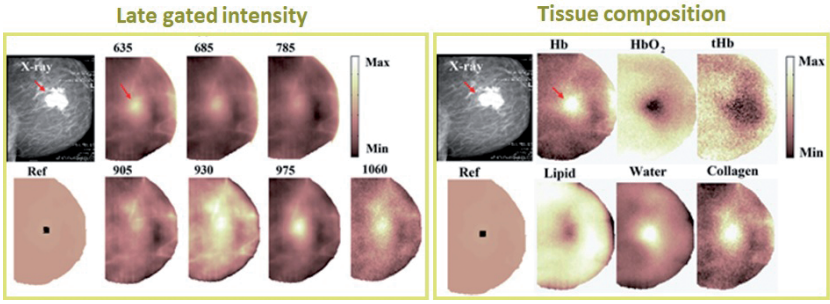


Fig. 2. Mammografie ottiche da cui si evidenzia la presenza di una lesione tumorale. L'attenuazione del segnale ad un elevato tempo di volo (pannello di sinistra - Late gated intensity) è correlato al coefficiente di assorbimento a diverse lunghezze d'onda. Dal coefficiente di assorbimento è possibile ricavare l'immagine della composizione dei principali assorbitori tissutali (emoglobina ossigenata e deossigenata, lipidi, acqua, collagene) da cui è possibile indagare la natura della lesione (pannello di destra - Tissue composition). In entrambi i pannelli è riportato, per riferimento, la corrispondente immagine mammografica a raggi X (riquadro in alto a sinistra).

Un terzo ambito di utilizzo della DO è il monitoraggio della terapia neoadiuvante del tumore alla mammella. Per migliorare l'efficacia terapeutica, le pazienti in attesa di intervento di mastectomia possono essere sottoposte a cicli di chemioterapia che hanno dimostrato portare a vantaggi in termini di riduzione delle recidive e limitazione dell'inter-

vento chirurgico. Non tutte le pazienti, però, rispondono positivamente, ed in alcuni casi il trattamento, oltre al disagio per la paziente, rende più difficoltoso il lavoro del chirurgo. Da studi iniziali è stato verificato che la DO consente di predire l'efficacia della terapia neoadiuvante, anche subito dopo le prime sedute di chemioterapia [17], [18]. Questo consentirebbe di pianificare meglio il trattamento, limitandolo ai casi di effettivo beneficio. Ancora più attraente l'ipotesi di modificare il tipo di terapia neoadiuvante in funzione della risposta della paziente monitorata dalla DO.

3.2 Imaging dell'attività funzionale del cervello

Quando una zona del cervello viene attivata in maniera prevalente per compiere una funzione impegnativa richiama sangue ossigenato (risposta emodinamica). Di conseguenza, localmente, aumenta la concentrazione di HbO_2 a scapito della Hb. Poiché le due forme di emoglobina presentano un differente spettro di assorbimento, operando una misura TD-DO a due lunghezze d'onda separate (es. 670 nm e 830 nm) dal coefficiente di assorbimento è possibile risalire alla diversa concentrazione delle due specie di emoglobina e quindi rilevare la variazione di ossigenazione [19]. Inoltre, si sfrutta la seconda proprietà della TD-DO (il tempo di volo del fotone codifica la profondità nel tessuto) per raggiungere in profondità la corteccia cerebrale a partire da una misura di riflettanza non-invasiva, appoggiando la coppia sorgente-rivelatore sulla cute esterna, come per l'elettroencefalogramma.

Fig. 3 mostra l'andamento temporale della concentrazione di Hb e HbO_2 ricavata tramite la misura TD-DO (pannello a destra) nella corteccia motoria in seguito ad un esercizio di *finger tapping* (il soggetto, nell'intervallo compreso tra le due barre verticali, esegue un particolare tamburellamento con le dita) [20], [21]. L'attivazione di questa area motoria durante l'esercizio produce un aumento di HbO_2 e una riduzione di Hb (linee spesse) che non si osserva in assenza di esercizio (linee sottili). La misura è confermata dalla contemporanea co-registrazione del segnale di risonanza magnetica funzionale (fMRI – immagine a sinistra) che fornisce, però, solo la traccia relativa al segnale BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*) che dipende dalle proprietà diamagnetiche della Hb. Rispetto alla fMRI, la tecnica ottica (spesso indicata in analogia come fNIRS) presenta, come nel confronto con la mammografia X, una risoluzione spaziale molto peggiore. Per contro,

fornisce indicazioni anche sulla componente ossigenata dell'emoglobina e può essere utilizzata anche con strumenti indossabili, in ambienti non costretti e su soggetti (es. bambini) poco indicati per misure con risonanza magnetica.

Questa metodica può essere di grosso aiuto in studi sulla comprensione del funzionamento del cervello, per applicazioni in psicologia e pedagogia, nella riabilitazione del cervello in seguito a traumi, nella diagnostica dell'epilessia e più in generale per studi di neuroscienze. Poiché il tessuto cerebrale si danneggia quando alle cellule viene a mancare l'ossigeno per anche solo 5 minuti, l'ossigenazione cerebrale è un parametro vitale che occorre monitorare in situazioni estreme. In questo ambito, la prima proprietà della TD-DO esposta sopra (la capacità di separare assorbimento da scattering in base al differente effetto sulla distribuzione dei tempi di volo dei fotoni) consente una corretta quantificazione di m_a che è molto importante per ricavare in maniera assoluta l'ossigenazione del tessuto cerebrale. La tecnica ottica può essere impiegata, ad esempio, nei complessi interventi di cardiochirurgia, durante l'anestesia generale per verificare la corretta ossigenazione del cervello, nei bimbi nati pre-termine in cui l'immaturo sviluppo dei polmoni o una ventilazione non adeguata può produrre gravissimi danni a lungo periodo [22].

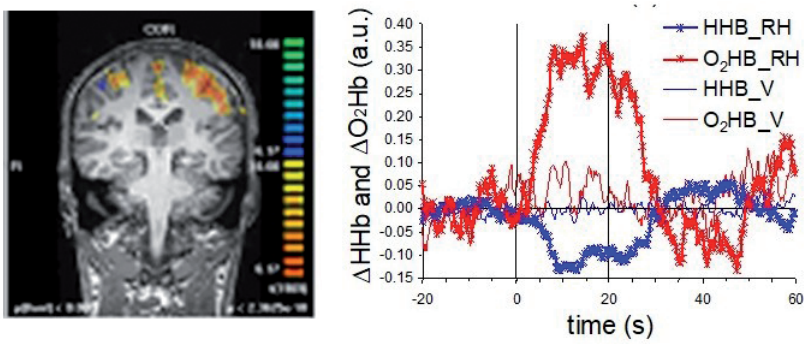


Fig. 3. Il riquadro a destra riporta l'evoluzione temporale della concentrazione di emoglobina ossigenata (O_2Hb) e deossigenata (HHb) nella corteccia cerebrale durante l'esecuzione di un esercizio motorio con le dita (linee spesse). Le due righe verticali misurano l'inizio e la fine del compito motorio. Per raffronto, sono rappresentate anche le tracce dei due componenti con il soggetto a riposo (linee sottili). Il riquadro a destra mostra l'immagine di risonanza magnetica funzionale (fMRI) coregistrata durante lo stesso esercizio che mostra l'attivazione nella regione motoria. La tecnica ottica fornisce informazioni simili alla fMRI con risoluzioni spaziali peggiori, ma con una maggiore portabilità e maneggevolezza della strumentazione.

3.3 Spettroscopia non-invasiva di tessuti biologici in vivo

Un ultimo ambito di applicazione per la tecnica TD-DO che vorremmo presentare è relativo alla spettroscopia diffusa *in vivo* sull'uomo su ampia banda spettrale. Lo spettro di assorbimento del tessuto biologico può fornire informazioni sulla composizione interna, sul metabolismo, oltre che sullo stato funzionale (come nell'esempio del cervello discusso sopra). *Fig. 4* mostra gli spettri di assorbimento misurati sull'addome in volontari sani. La tecnica TD-DO consente di evidenziare differenze dovute alla diversa geometria e composizione dei tessuti [23]. Il tessuto adiposo è stato a lungo considerato come un semplice deposito di lipidi. Recentemente, invece, sta emergendo chiaramente il suo ruolo come organo, che può portare ad una ottimale gestione dell'energia e del metabolismo piuttosto che a processi infiammatori e patologici.

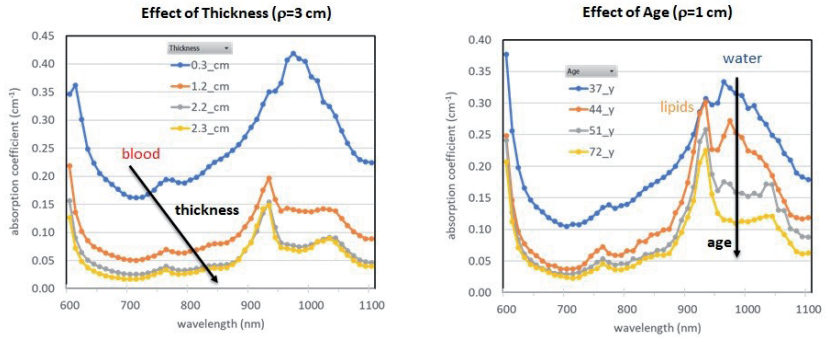


Fig. 4. Spettri di assorbimento dell'addome di volontari sani. Si evidenziano l'assorbimento dell'emoglobina deossigenata nella regione <700 nm, il picco dei lipidi a 930 nm, il contributo dell'acqua nella regione attorno ai 980 nm, e il contributo dell'emoglobina ossigenata con uno spettro molto allargato nella regione 800-1000 nm, oltre alla risalita verso i 600 nm. La tecnica TD-DO consente di osservare marcate differenze tra i vari soggetti in funzione di parametri quali lo spessore dello strato adiposo (riquadro di sinistra) o l'età (riquadro di destra) e potrebbe essere utilizzata in studi sull'effetto dell'alimentazione o dello stile di vita sulla composizione e metabolismo dei tessuti.

Un campo in forte crescita è lo studio dell'impatto dell'alimentazione e dello stile di vita sull'insorgenza di patologie. Seguendo la nota massima "*prevenire è meglio che curare*", diverse patologie potrebbero essere evitate, o per lo meno alleviate, con uno stile di vita sano. La ricerca sta cercando di correlare molteplici informazioni (genetiche e

biochimiche, epidemiologiche, cliniche, da studi su animale) per arrivare ad una comprensione più profonda dei fattori che innescano o rallentano la degenerazione patologica e più specificamente sugli interventi comportamentali più efficaci. In questo contesto c'è la necessità di individuare metodiche totalmente non invasive che consentano di fornire informazioni sullo stato dei tessuti in studi su volontari o su pazienti sottoposti a particolari regimi alimentari o di esercizio fisico e in prospettiva per il monitoraggio domestico o ambulatoriale di parametri metabolici e tissutali. La tecnica TD-DO si presenta come ottimo candidato per fornire in maniera semplice, rapida e non invasiva parametri tissutali non facilmente ottenibili con altre metodiche.

4. Evoluzione tecnologica

I sistemi di misura basati sulla tecnica della TD-DO hanno subìto nel corso degli ultimi decenni un impressionante progresso in termini di riduzione degli ingombri e dei costi a fronte di un potenziamento delle prestazioni. Questa crescita è riconducibile in ultima istanza all'innovazione dei componenti (sorgenti laser, rivelatori, elettronica a singolo fotone), trainati dalla ricerca e produzione su larga scala in ambito di telecomunicazioni e sistemi per alte energie. Nel seguito verranno ripercorsi gli stadi di sviluppo della tecnologia, con conseguente abbattimento di barriere sull'utilizzo nelle applicazioni, e le prospettive future.

4.1 Prima Generazione – Sistemi di laboratorio

I primi sistemi TD-DO sviluppati negli anni '90 erano stazioni di laboratorio, spesso ospitate presso Facility Laser, che occupavano un'intera stanza [24]. La difficoltà principale consisteva nella generazioni di impulsi laser di breve durata (ps) ad alto tasso di ripetizione (MHz) e con la possibilità di accordare la lunghezza d'onda di emissione. Veniva richiesto l'utilizzo di laser a Titanio in Zaffiro operanti su larga banda spettrale con mode-locking attivo (*Fig. 5*), oppure la generazione di supercontinuo in cuvetta tramite utilizzo di laser impulsati amplificati di elevata potenza. L'elettronica di rivelazioni era basata su delicati fotomoltiplicatori a *microchannel plate* piuttosto che costose *streak camera* collegate a catene elettroniche analogiche da banco per conteggio a singolo fotone correlato nel tempo (TCSPC) mutuate dal-

l'elettronica per applicazioni nucleari. Con questi sistemi sono stati effettuati i primi studi sulla fisica della TD-DO e ricavati i primi spettri *in vivo* di tessuti biologici (*Fig. 5*) [25], [26].

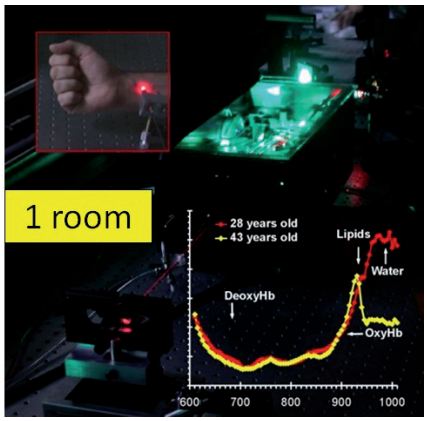


Fig. 5. Sistemi TD-DO di prima generazione, basati su sorgenti laser di laboratorio in regime di mode-locking e fotomoltiplicatori a microchannel plate con sensibilità al singolo fotone. Con questi sistemi sono stati ottenuti i primi spettri di assorbimento e scattering \textit{in vivo} su tessuti biologici.

4.2 Seconda Generazione – Prototipi clinici

Un grosso passo avanti è stato realizzato con l'introduzione di sorgenti laser compatte a semiconduttore operanti in modalità di \textit{gain switching} con potenze medie accettabili (alcuni mW). Questo progresso, unito alla disponibilità di rivelatori più compatti e robusti ed anche di schede integrate per TCSPC, ha consentito di realizzare prototipi per TD-DO contenuti in *rack* da 7 pollici montati su ruote che potevano essere facilmente trasportati ed utilizzati in ospedale. Questo avanzamento ha permesso di effettuare studi clinici su pazienti, quali ad esempio quelli sulla mammografia ottica (*Fig. 6*) che è stata tra le prime applicazioni studiate [27].

4.3 Terza Generazione – Dispositivi indossabili

Il terzo salto tecnologico è consistito nella forte riduzione degli ingombri e dei consumi, che ha portato alla realizzazione di dispositivi compatti indossabili ed alimentati a batteria. In questo caso è risultato

cruciale l'adattamento di una nuova tipologia di rivelatore, il *Silicon Photomultiplier* (SIPM) sviluppato inizialmente per la fisica delle alte energie o sistemi di *Positron Emission Tomography* (PET), per cui è stato dimostrato il funzionamento in regime di singolo fotone con ottima risoluzione temporale [28]. I nuovi dispositivi TD-DO indossabili hanno aperto l'utilizzo in ambienti aperti, su soggetti in movimento (*Fig. 7*) [29]. Inoltre, il costo limitato dei sistemi può prefigurare l'impiego per studi di *hyperscanning*, in cui si valuta la sincronizzazione e relazione tra le attività cerebrali di soggetti interagenti in un esercizio comune [30].

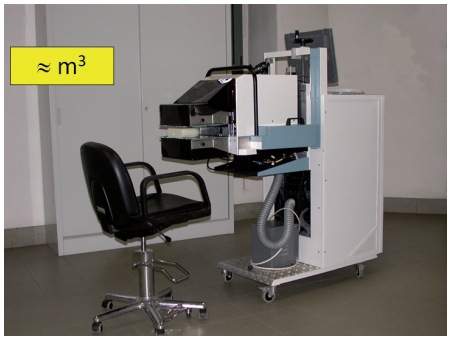


Fig. 6. Sistemi TD-DO di seconda generazione, basati su laser a semiconduttore e fotomoltiplicatori compatti. La possibilità di alloggiare tutta la strumentazione all'interno di rack montati su ruote ha consentito lo sviluppo di prototipi adatti a studi clinici (nella foto un mammografo ottico sviluppato dal Politecnico di Milano).



Fig. 7. Sistemi TD-DO di terza generazione, basati su diodi laser con elettronica di pilotaggio integrata e rivelatori Silicon Photomultiplier *(SIPM) operanti in regime di singolo fotone. Con questi componenti innovativi è stato possibile realizzare dispositivi compatti, indossabili, wireless ed alimentati a batteria, compatibili con prove su soggetti in libero movimento.*

4.4 Quarta Generazione – Moduli integrati

L'ultimo salto tecnologico consisterà nell'integrazione di tutto il sistema TD-DC in un unico blocchetto monolitico con dimensioni del cm. Il punto cruciale è la possibilità di alloggiare direttamente la sorgente e il rivelatore sul *probe* a contatto con la pelle evitando l'utilizzo di fibre ottiche o *bundle* con forte miglioramento dell'operatività e della quantità di luce raccolta. Nell'ambito del progetto europeo SOLUS (http://www.solus-project.eu), in fase di completamento, è stato realizzato uno *smart optode* che incorpora 8 distinte sorgenti laser, 1 rivelatore SIPM a larga area con elevatissima sensibilità e l'elettronica di TCSPC. Come prima applicazione proposta, 8 di questi nuovi optodi sono stati integrati in una sonda ecografica (*Fig. 8*) che consentirà la contemporanea misura dell'immagine ad ultrasuoni e della tomografia ottica dei componenti tissutali per la diagnosi del tumore al seno.

L'ulteriore sviluppo di questa tecnologia potrebbe addirittura portare a dispositivi integrati sullo *smartphone* per il monitoraggio domestico dello stato di salute o per la telemedicina.

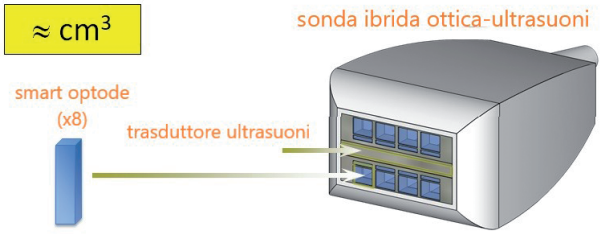


Fig. 8. Sistemi TD-DO di quarta generazione, basati su sorgenti laser e rivelatori SIPM direttamente alloggiati sulla sonda a contatto con il tessuto. Con questa tecnologia è stata realizzata nell'ambito del progetto europeo H2020 SOLUS (n.731877) una sonda ibrida ottica-ultrasuoni, che ospita un totale di 8 sistemi TD-DO indipendenti (smart optode). Il dispositivo è in grado di coregistrare l'immagine ad ultrasuoni e la tomografia ottica della concentrazione dei componenti tissutali. Verrà impiegato in uno studio clinico sulla diagnosi del tumore alla mammella presso l'ospedale San Raffaele di Milano.

5. Standardizzazione

La tecnica di misura TD-DO applicata in vivo per la diagnostica clinica deve confrontarsi con l'elevata variabilità biologica tra individui diversi, come pure con la fluttuazione fisiologica dei parametri ottici per effet-

to, ad esempio, della respirazione, del battito, o della variazione di pressione sanguigna. Peraltro, lo stesso strumento è affetto da un certo grado di incertezza nella misura dovuto ai componenti e alle limitazioni delle tecniche in uso. Spesso questi due fattori non sono separati, col risultato di una riduzione del significato statistico degli studi effettuati e della comprensione dei risultati.

Nell'ultimo decennio, in particolare nell'ambito di progetti di ricerca sovranazionali finanziati dalla Commissione Europea, è in corso un forte processo per quantificare le prestazioni della strumentazione al fine di separare la variabilità biologica da quella strumentale, ed indirizzare lo sviluppo tecnologico verso sistemi sempre più performanti ed accurati. E' stato elaborato un processo in sei fasi, che consistono in: 1) traduzione del problema clinico in un paradigma fisico, 2) definizione di protocolli concordati a livello internazionale per la quantificazione dei parametri rilevanti dal punto di vista clinico, 3) realizzazione di sistemi modello tessuto-equivalente (*phantom*) per riprodurre in laboratorio la problematica clinica, 4) confronto multi-laboratorio di strumenti diversi sugli stessi protocolli, 5) confronto multilaboratorio in studi clinici, 6) elaborazione di standard industriali per garantire una qualità elevata dei dispositivi medicali. Questo processo richiede certamente un forte grado di cooperazione e confronto a livello internazionale, che peraltro è sempre stato alla base dei progressi in diversi settori della fisica, quali, ad esempio, la fisica delle alte energie.

6. Conclusioni

In conclusione, la tecnica di ottica diffusa nel dominio del tempo offre enormi potenzialità per indagare il corpo umano in maniera totalmente non-invasiva, fornendo informazioni composizionali, funzionali e metaboliche non facilmente ottenibili con altre metodiche cliniche non invasive. Le applicazioni più promettenti spaziano dalla diagnosi, prevenzione e cura del tumore al seno, alla visualizzazione dell'attività cerebrale, fino al monitoraggio di parametri fisiologici legati allo stile di vita e all'alimentazione per la prevenzione delle patologie. La tecnologia sta avanzando in direzione di sistemi sempre più compatti ed integrati che potrebbero prefigurare un utilizzo ambulatoriale o domiciliare dei dispositivi. Occorre però uno sforzo di collaborazione a livello internazionale per individuare e quantificare i parametri oggettivi che

individuano la prestazione dello strumento, per affrancare lo sviluppo tecnologico dall'enorme variabilità biologica che può celarne l'efficacia in tanti studi clinici. Grazie all'intrinseca non-invasività e alla ricchezza di informazioni che può veicolare dall'interno del corpo umano, la luce potrebbe diventare un efficace strumento per monitorare lo stato di salute nella nostra vita quotidiana.

7. Interessi concorrenti

L'autore è co-fondatore della start-up PIONIRS S.r.l. che ha sviluppato l'ossimetro tissutale mostrato in *Fig. 7*.

BIBLIOGRAFIA

[1] T. Durduran, R. Choe, W. B. Baker, and A. G. Yodh, "Diffuse optics for tissue monitoring and tomography," *Rep. Prog. Phys.*, vol. 076701, 2010.

[2] A. Kienle, L. Lilge, M. S. Patterson, R. Hibst, R. Steiner, and B. C. Wilson, "Spatially resolved absolute diffuse reflectance measurements for noninvasive determination of the optical scattering and absorption coefficients of biological tissue," *Appl. Opt.*, vol. 35, no. 13, p. 2304, May 1996.

[3] J. B. Fishkin, P. T. C. So, A. E. Cerussi, S. Fantini, M. A. Franceschini, and E. Gratton, "Frequency-domain method for measuring spectral properties in multiple-scattering media : methemoglobin absorption spectrum in a tissuelike phantom," *Appl. Opt.*, vol. 34, no. 7, pp. 1143-1155, 1995.

[4] S. L. Jacques, "Time resolved propagation of ultrashort laser pulses within turbid tissues," *Appl. Opt.*, vol. 28, no. 12, 1989.

[5] A. Ishimaru, *Wave propagation and scattering in random media*. Wiley-IEEE Press, 1999.

[6] J. J. Duderstadt and W. R. Martin, "Transport theory.," *trth*, 1979.

[7] M. S. Patterson and B. W. Pogue, "Mathematical model for time-resolved and frequency-domain fluorescence spectroscopy in biological tissues.," *Appl. Opt.*, vol. 33, no. 10, pp. 1963-74, Apr. 1994.

[8] M. S. Patterson, B. Chance, and B. C. Wilson, "Time resolved reflectance and transmittance for the non-invasive measurement of tissue optical properties.," *Appl. Opt.*, vol. 28, no. 12, pp. 2331-6, Jun. 1989.

[9] A. Pifferi, D. Contini, A. D. Mora, A. Farina, L. Spinelli, and A. Torricelli, "New frontiers in time-domain diffuse optics, a review," *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, no. 9, p. 091310, Jun. 2016.

[10] P. D. Sasieni, J. Shelton, N. Ormiston-Smith, C. S. Thomson, and P. B. Silcocks, "What is the lifetime risk of developing cancer: The effect of adjusting for multiple primaries," *Br. J. Cancer*, vol. 105, no. 3, pp. 460-465, Jul. 2011.

[11] R. L. Siegel, K. D. Miller, H. E. Fuchs, and A. Jemal, "Cancer Statistics, 2021," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 71, no. 1, pp. 7-33, Jan. 2021.
[12] D. Grosenick, H. Rinneberg, R. Cubeddu, and P. Taroni, "Review of optical breast imaging and spectroscopy," *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, no. 9, p. 091311, Jul. 2016.
[13] P. Taroni *et al.*, "Noninvasive assessment of breast cancer risk using time-resolved diffuse optical spectroscopy," *J. Biomed. Opt.*, vol. 15, no. 6, 2010.
[14] E. Amir, O. C. Freedman, B. Seruga, and D. G. Evans, "Assessing women at High Risk of Breast Cancer : A Review of Risk Assessment Models," *J Natl Cancer Inst*, vol. 102, pp. 680-691, 2010.
[15] L. Yaghjyan, G. Colditz, L. Collins, and et al., "Mammographic breast density and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women according to tumor characteristics," *J Natl Cancer Inst*, vol. 103, no. 15, pp. 1179-1189., 2011.
[16] P. Taroni *et al.*, "Is collagen an independent risk factor for breast cancer?," in *Optics InfoBase Conference Papers*, 2016.
[17] A. Cerussi *et al.*, "Predicting response to breast cancer neoadjuvant chemotherapy using diffuse optical spectroscopy," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 104, no. 10, pp. 4014-4019, 2007.
[18] D. Roblyer *et al.*, "Optical imaging of breast cancer oxyhemoglobin flare correlates with neoadjuvant chemotherapy response one day after starting treatment," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 108, no. 35, pp. 14626-14631, Aug. 2011.
[19] F. F. Jöbsis, "Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters," *Science (80-.).*, vol. 198, no. 4323, pp. 1264-1266, Dec. 1977.
[20] A. Torricelli *et al.*, "Simultaneous acquisition of time-domain fNIRS and fMRI during motor activity," in *Optics InfoBase Conference Papers*, 2007.
[21] A. Torricelli *et al.*, "Time domain functional NIRS imaging for human brain mapping.," *Neuroimage*, vol. 85 Pt 1, pp. 28-50, Jan. 2014.
[22] A. M. Plomgaard *et al.*, "The SafeBoosC II randomized trial: Treatment guided by near-infrared spectroscopy reduces cerebral hypoxia without changing early biomarkers of brain injury," *Pediatr. Res.*, vol. 79, no. 4, pp. 528-535, 2016.
[23] P. Lanka *et al.*, "Non-invasive investigation of adipose tissue by time domain diffuse optical spectroscopy," *Biomed. Opt. Express*, vol. 11, no. 5, p. 2779, May 2020.
[24] S. Andersson-Engels, R. Berg, A. Persson, and S. Svanberg, "Multispectral tissue characterization with time-resolved detection of diffusely scattered white light," *Opt. Lett.*, vol. 18, no. 20, pp. 1697-1699, Oct. 1993.
[25] R. Cubeddu, A. Pifferi, P. Taroni, A. Torricelli, and G. Valentini, "Noninvasive absorption and scattering spectroscopy of bulk diffusive media: An application to the optical characterization of human breast," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 74, no. 6, 1999.
[26] A. Pifferi, A. Torricelli, P. Taroni, D. Comelli, A. Bassi, and R. Cubeddu, "Fully automated time domain spectrometer for the absorption and scattering characterization of diffusive media," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 78, no. 5, 2007.
[27] A. Pifferi, P. Taroni, A. Torricelli, F. Messina, R. Cubeddu, and G. Danesini,

"Four-wavelength time-resolved optical mammography in the 680-980-nm range," *Opt. Lett.*, vol. 28, no. 13, 2003.

[28] E. Martinenghi *et al.*, "Spectrally Resolved Single-Photon Timing of Silicon Photomultipliers for Time-Domain Diffuse Spectroscopy," *IEEE Photonics J.*, vol. 7, no. 4, Aug. 2015.

[29] M. Lacerenza *et al.*, "Wearable and wireless time-domain near-infrared spectroscopy system for brain and muscle hemodynamic monitoring," *Biomed. Opt. Express*, vol. 11, no. 10, 2020.

[30] T. Nozawa, Y. Sasaki, K. Sakaki, R. Yokoyama, and R. Kawashima, "Interpersonal frontopolar neural synchronization in group communication: An exploration toward fNIRS hyperscanning of natural interactions," *Neuroimage*, vol. 133, pp. 484-497, Jun. 2016.

LE API DI VIRGILIO, SOMMO POETA ED ETOLOGO *ANTE LITTERAM*

PAOLO FONTANA (*)

Nota presentata dal s.c. Giuliano Gasperi
(Adunanza del 25 marzo 2021)

SUNTO. – Il poeta Virgilio è legato alle api da miele sia per la sua biografia che per le sue opere. Vengono analizzati e interpretati alcuni versi delle principali opere di Virgilio, le *Bucoliche*, le *Georgiche* e l'*Eneide*, dimostrando una chiara familiarità del poeta con questi insetti. Nelle *Bucoliche* le api rivestono un ruolo simbolico come anche nell'*Eneide*, dove però il loro ruolo è tutt'altro che marginale. Per quanto riguarda il IV libro delle *Georgiche*, viene reinterpretato in chiave bio-etologica quanto Virgilio scrive sui fenomeni inerenti alla sciamatura, dimostrando come egli abbia avuto modo di osservare direttamente alcuni fenomeni della vita dell'alveare ancora oggi scarsamente investigati dal punto di vista scientifico. Da questo punto di vista il poeta Virgilio può essere dunque considerato un etologo ante litteram. Viene poi fatto un confronto tra alcune immagini sulle api presenti nelle opere di Virgilio e quanto, relativamente a questi insetti, si ritrova nella *Divina Commedia* di Dante Alighieri.

***

ABSTRACT. – The poet Virgil is linked to honey bees both for his biography and for his literary works. Some verses of Virgil's main works, the *Bucolics*, the *Georgics* and the *Aeneid*, are analyzed and interpreted, demonstrating a clear familiarity of the poet with these insects. In the *Bucolics*, honey bees play a symbolic role as well as in the *Aeneid*, where however their role is anything but marginal. As for the fourth book of the *Georgics*, what Virgil writes on the phenomena inherent to swarming is reinterpreted in a bio-ethological key, demonstrating how he had the opportunity to directly observe some phenomena of the life of the beehive still today poorly investigated from a scientific point of view.

(*) Fondazione Edmund Mach, Centro Trasferimento Tecnologico, Unità Protezione delle piante agroforestali e apicoltura, Pergine Valsugana (TN), Italy.
E-mail: paolo_api.fontana@fmach.it

The poet Virgil can therefore be considered an ethologist ante litteram. A comparison is then made between some images on honey bees present in Virgil literary works and what, in relation to these insects, is found in Dante Alighieri's *Divine Comedy*.

1. Premessa

Per il loro ruolo ecologico ed agronomico ed ovviamente per la squisitezza ed il grande valore nutrizionale e medicinale dei loro prodotti, le api da miele ricevono la simpatia, l'ammirazione ed anche la preoccupazione delle persone a causa dell'ormai universamente noto problema del loro declino a causa di fattori legati più o meno all'azione umana. Nel passato alle api venivano accordati anche altri simbolismi e a destare meraviglia per questi insetti era anche la loro organizzazione sociale. Le tracce di diversa matrice lasciate dai cacciatori e raccoglitori della preistoria testimoniano come l'uomo abbia interagito con le colonie di questi insetti da tempi remoti. Le più antiche evidenze di questo rapporto, datate a ben 13.000 anni fa (Paleolitico), sono legate all'uso della cera, ritrovata come fissante dell'ocra in oltre 200 pietre variamente dipinte rinvenute sull'Altopiano di Asiago, nel celebre *Riparo Dalmeri*[1]. Molte poi sono le raffigurazioni databili al neolitico che dipingono la cosiddetta "caccia alle api". Il fatto che questa attività umana sia il soggetto di numerose raffigurazioni di epoca neolitica, potrebbe testimoniare l'importanza data dall'uomo a questa speciale caccia, che forse aveva anche implicazioni di tipo spirituale[2]. La meraviglia dell'uomo per le api, il loro significato simbolico e spirituale non si è affievolito con la comparsa dell'apicoltura, probabilmente di poco posteriore all'avvento dell'agricoltura[3].

Sono proprio le parole del poeta Virgilio quelle più spesso usate nei secoli per descrivere la straordinarietà delle api; le troviamo nell' incipit del IV libro delle *Georgiche*:

Protinus aerii mellis caelestia dona exsequar

E continuerò parlando del miele che cade dal cielo come un dono divino

---

1 Dalmerj et al. 2002, 7-11; Fontana & Angeli 2020, 97-98; Fontana 2021, 264-265.

2 Fontana 2021, 265.

3 Fontana 2021, 306-307.

Virgilio (*Fig. 1*) è dunque legato indissolubilmente alle api anche se, come si vedrà, viene spesso stigmatizzato solo come il cantore delle api, negando ogni valenza scientifica e tecnica al suo scritto più importante su questo tema e cioè il libro IV delle *Georgiche*.



Fig. 1. Virgilio in cattedra tra due muse in un mosaico pavimentale di anonimo mosaicista dell'Africa Proconsolare e databile all'inizio del III secolo d.C.; Tunisi, Museo Nazionale del Bardo.

2. Le api nella letteratura latina

Se le citazioni sulle api mellifere sono molto frequenti nella letteratura latina di ogni tipo, dalla poesia ai testi giuridici[4], le informazioni più rilevanti su questi insetti si trovano ovviamente nelle opere dedicate all'agricoltura e quindi all'apicoltura o alla storia naturale. Gran parte di questi testi, talvolta enciclopedici, di letteratura latina, sono noti solo per il nome dell'autore e il titolo o per brevi frammenti in opere di altri autori. Le opere che si sono conservate più o meno integralmente e che sono

4 Floris & Fontana 2020, 56.

state spesso pubblicate nei secoli successivi fino ad oggi, coprono un arco temporale molto vasto e cioè tra il III secolo a.C. e il VI secolo d.C. In queste opere l'approccio naturalistico e quello tecnico sono spesso mescolati a elementi mitologici. Gli autori di queste fondamentali opere e i rispettivi titoli sono, in ordine cronologico:

- Catone il Vecchio, *De agri cultura*.
- Varro, *De re rustica*.
- Virgilio, *Georgica*.
- Columella, *De re rustica*.
- Plinio il Vecchio, *Naturalis Historia*.
- Claudio Eliano, *Περὶ ζῴων ἰδιότητος*/*De natura animalium*,
- Palladio, *Opus agriculturae* o*De re rustica*.
- Cassiano Basso, *Geoponica*.

Alcuni di questi testi[5] che dedicano spazi molto diversi al mondo delle api e dell'apicoltura sono destinati ai proprietari di fondi rustici, altri invece spaziano in nozioni naturalistiche o mitologiche. Le nozioni tecniche sono spesso tratte da altre opere e sono quindi in genere concordanti. Riguardano ad esempio i siti più idonei dove collocare le api, le migliori tipologie di arnie, la difesa delle api dai nemici naturali e la produzione del miele. Gli aspetti biologici come l'anatomia o la struttura sociale delle api derivano in genere da testi più antichi, da cui tutti gli autori latini hanno attinto, e fanno ampiamente riferimento alle opere cosiddette "biologiche" di Aristotele e soprattutto al *De Generatione animalium*, all'*Historia animalium* e al *De partibus animalium,* opere che fino al XVII secolo saranno sempre il riferimento principale per tutti gli studi zoologici. Negli autori latini e soprattutto in Columella e Plinio il Vecchio, non mancano però alcune osservazioni originali sulla biologia delle api, come non mancano in Virgilio.

3. Le api nella biografia di Virgilio

Il poeta Virgilio nacque ad Andes (Mantova) nel 70 a.C. e morì a Brindisi nel 19 a.C. È uno dei massimi poeti romani ed è l'autore di tre tra le più famose opere della letteratura latina: le Bucoliche, le

[5] Picchi 2013.

Georgiche, e l'Eneide. La sua intera vita è concentrata nell'epitaffio che, secondo la leggenda, lui stesso avrebbe dettato in punto di morte:

> *Mantua me genuit, Calabri rapuere, tenet nunc / Parthenope; cecini pascua, rura, duces*
>
> Mantova mi generò, la Calabria mi rapì, e ora mi tiene Napoli; cantai i pascoli, le campagne, i condottieri

Per capire il legame tra Virgilio e le api bisogna esaminare la sua biografia. Il padre di Virgilio, anche lui di nome Vergilius Maro, era un piccolo proprietario terriero che aveva raggiunto una certa agiatezza mediante diverse attività come l'artigianato, l'allevamento di bestiame e l'apicoltura. Virgilio era nato non lontano da Mantova e precisamente nel villaggio di Andes, individuato oggi con Pietole, una località del comune di Borgo Virgilio. Il luogo natale di Virgilio va dunque collocato tra i corsi dei fiumi Mincio e Po, a pochi km di lontananza da Ostiglia, luogo citato da Plinio il Vecchio (*Naturalis Historia*, libro XXI, 43) come sito caratterizzato da una apicoltura molto fiorente e basata anche su un particolare nomadismo fluviale[6]. La famiglia di Virgilio era dunque anche una famiglia di apicoltori e, anche se non sappiamo da quante generazioni praticassero questa attività, questo dato ci può far comprendere come l'allevamento delle api potesse permettere, nel I secolo a.C., la creazione di una certa sicurezza economica, permettendo al giovane Virgilio (il futuro poeta) di accedere all'insegnamento dei migliori docenti dell'epoca[7]. Poiché l'attività apistica, almeno stando agli scritti relativi all'agricoltura del suo tempo, era gestita in prima persona dal proprietario del fondo ed era fortemente sconsigliato demandarla alla servitù, possiamo supporre che Virgilio abbia potuto sperimentare in prima persona una reale intimità col mondo delle api e dell'apicoltura. Questa intimità con le api, anche da un punto di vista simbolico, si evince non solo dalle sue opere letterarie ma anche da un interessante episodio della sua vita, raccontato da uno dei suoi primi biografi e cioè il cosiddetto Pseudo-Donato. Lo Pseudo-Donato racconta come il giovane Virgilio, poeta in cerca di affermazione, avesse lasciato, senza firmarla, una sua poesia sulla porta di casa di un potente patrizio romano. Un poeta rivale di Virgilio, un certo Batillo, che cercava di farsi accreditare presso la stessa nobile famiglia, si

---

6 Fontana 2021, 343-346.

7 Conway 1915; Fontana 2019, 462-463; Fontana 2021, 381.

era attribuito il componimento anonimo. Virgilio, senza perdersi in sterili polemiche, affisse tre volte alla stessa porta la frase "Sic vos non vobis", suscitando la curiosità dei padroni di casa. Allora Virgilio diede compimento alla frase misteriosa presentando questi versi:

Hos ego versiculos feci tulit alter honores
Sic vos non vobis nidificatis aves
Sic vos non vobis vellera fertis oves
Sic vos non vobis mellificatis apes
Sic vos non vobis fertis aratra boves

Ho scritto io questi piccoli versi e un altro si è preso l'onore
Così voi, ma non per voi, fate il nido uccelli
Così voi, ma non per voi, producete la lana pecore
Così voi, ma non per voi, producete il miele api
Così voi, ma non per voi, portate l'aratro buoi

Con questi eleganti versi il Sommo Poeta intendeva affermare che il poeta non scrive versi per ricevere lodi e ricompense, e quindi è del tutto inutile appropriarsi di meriti poetici altrui, dato che le poesie sono di chi le legge. Da questo episodio e dai versi di Virgilio, quello riferito alle api, *Sic vos non vobis mellificatis apes*, è divenuto un tipico motto latino, molto spesso citato come se fossero le api a pronunciarlo (*Fig. 2*):

Sic nos non nobis mellificamus apes

Così come noi api non produciamo il miele per noi stesse



Fig. 2. Sic nos non nobis mellificamus apes. Illustrazione allegorica del XVII secolo.

Anche l'abbreviazione di questa versione, *non nobis*, ha sempre avuto grande successo tra gli apicoltori[8].

4. Le api nelle Bucoliche e nell'Eneide

Nelle opere attribuite con certezza a Virgilio, le api compaiono, oltre che nel libro IV delle Georgiche, anche nelle Bucoliche e nell'Eneide. Nelle Bucoliche, composte a Napoli tra il 42 e il 39 a.C., le api vengono usate come paragone per dare un'idea di superlativo, di infinito. Nella Egloga V, al posto di dire "per sempre", il poeta descrive la grande predilezione che mostrano le api per i fiori del timo:

dum iuga montis aper, fluvios dum piscis amabit,
dumque thymo pascentur apes, dum rore cicadae,
semper honos nomenque tuum laudesque manebunt.

Finché il cinghiale amerà i gioghi del monte, finché il pesce
i fiumi e finché le api si nutriranno di timo, finché le cicale
di rugiada, sempre l'onore ed il nome tuo e le lodi rimarranno.

Nell'Egloga X Virgilio, per esprimere l'infinita insaziabilità dell'amore, la paragona all'instancabile passione delle api per i fiori:

Pan deus Arcadiae venit, quem vidimus ipsi
sanguineis ebuli bacis minioque rubentem.
«Ecquis erit modus?» inquit. «Amor non talia curat.
Nec lacrimis crudelis Amor nec gramina rivis
nec cytiso saturantur apes nec fronde capellae.»

Venne Pan, dio dell'Arcadia, che vedemmo
rosseggiante di sanguigne bacche di sambuco e di minio.
"Quale sarà la misura?" disse "Amore non si cura
di simili cose. Amore crudele non si sazia di lagrime,
né le erbe dei rivi, né le api del citiso, né le caprette di fronde"

Si potrebbe pensare che il poeta Virgilia, citando il Timo o il Citiso lo abbia fatto per motivi poetici, magari metrici o semplicemente per non dire genericamente fiori e dare una ennesima dimostrazione

8 Fontana 2020, 105-106 e 2021, 234.

della sua arte. Possiamo invece vedere in queste precise citazioni botaniche, anche se apparentemente marginali, la descrizione di un comportamento fondamentale per la biologia degli apoidei e delle api da miele in particolare ovvero la cosiddetta costanza fiorale[9]. Un'ape bottinatrice, infatti, durante i suoi voli e spesso per giorni e giorni, visita sempre i fiori di una stessa specie, garantendo così un'efficiente impollinazione.

Più complesso e cruciale è il ruolo che Virgilio affida alle api nell'Eneide, poema epico composto fra Napoli e Roma negli ultimi dieci anni della sua vita (tra il 29 e il 19 a.C.). Questi insetti compaio infatti in due punti cardine del racconto dedicato al mito dell'eroe troiano Enea. Nel libro VI, Enea visita il regno dei morti per interrogare il padre Anchise (morto durante l'"Odissea" dei Troiani) sul futuro suo e della sua stirpe. Giunto presso il fiume Lete, Enea osserva una moltitudine di anime che vagano sulle acque allo stesso modo in cui le api volano ronzando su una distesa di fiori:

Interea videt Aeneas in valle reducta
seclusum nemus et virgulta sonantia silvae,
Lethaeumque domos placidas qui praenatat amnem.
hunc circum innumerae gentes populique volabant:
ac veluti in pratis ubi apes aestate serena
floribus insidunt uariis et candida circum
lilia funduntur, strepit omnis murmure campus.

Intanto Enea vede nella valle solitaria
un bosco appartato ed i rami della selva risuonanti
ed il fiume Lete che bagna le tranquille dimore.
Attorno ad esso volavano innumerevoli popoli e stirpi:
e come nei prati quando le api nella serena estete
si posano sui fiori colorati e si riversano attorno
ai candidi gigli: tutta la pianura echeggia per il mormorio.

Enea non riesce a interpretare la scena ed è il padre Anchise a illuminarlo: sono le anime destinate a ricevere un nuovo corpo e a reincarnarsi che, bevendo le acque del fiume Lete, si ristorano e ricevono l'oblio necessario ad iniziare una nuova vita:

9 Fontana 2021, 52.

animae, quibus altera fato corpora debentur, Lethaei ad fluminis undam
securos latices et longa oblivia potant…

[Sono] le anime, a cui per fato sono dovuti nuovi corpi, presso l'onda del fiume Lete bevono liquidi sicuri e lunghi oblii …

Ma è nel VII canto dell'Eneide che le api assumono un ruolo centrale nella storia di Enea e nella fondazione di quella discendenza da cui nascerà Roma. Enea, giunto nel Lazio, aveva chiesto in moglie la figlia del vecchio re Latino, Lavinia, precedentemente promessa in sposa a Turno, bellicoso re dei Rutuli. All'unione tra Lavinia e Turno si opposero però due prodigi. Uno di questi eventi prodigiosi, particolarmente determinante, è uno sciame di api posatosi sul lauro piantato al centro della reggia di Latino (*Fig. 3*). La promessa di nozze viene quindi annullata ed Enea poté sposare Lavinia, fondando la stirpe romana mediante la fusione dei due popoli (un particolare che vedremo è presente anche nella biologia delle api e che, come vedremo, viene descritto da Virgilio nelle Georgiche):

Laurus erat tecti medio in penetralibus altis
sacra comam multosque metu servata per annos,
quam pater inventam, primas cum conderet arces,
ipse ferebatur Phoebo sacrasse Latinus,
Laurentisque ab ea nomen posuisse colonis.
huius apes summum densae mirabile dictu
stridore ingenti liquidum trans aethera vectae
obsedere apicem, et pedibus per mutua nexis
examen subitum ramo frondente pependit.
continuo vates externum cernimus inquit
adventare virum et partis petere agmen easdem
partibus ex isdem et summa dominarier arce

C'era un alloro in mezzo al palazzo negli alti cortili;
conservato sacro per la chioma con devozione per molti anni,
che si diceva lo stesso padre Latino aveva
consacrato ad Apollo, trovatolo, fondando le prime rocche,
da esso aveva dato il nome ai coloni Laurenti.
Le api giunte numerose, mirabile a dirsi, nel limpido
etere con ingente ronzio occuparono la sua sommità,
ed uno sciame improvviso, intrecciate le zampe tra loro,
pendette da un ramo frondoso.
Subito l'indovino "Un uomo straniero, disse,
vediamo arrivare con un esercito
da quella stessa parte di dove vengono le api
e dominare la sommità della rocca"



Fig. 3. Raffigurazione della scena del prodigio dello sciame d'api del VII canto dell'Eneide di Virgilio. Incisione commissionata ad un anonimo artista tedesco da Johannes (Hans) Grüninger (1455–1533) e per la prima volta utilizzate per illustrare il Virgilio di Sebastian Brant (Strasburgo, 1502).

il *Pio* Enea è l'eroe che cerca un nuovo inizio, *è alla ricerca di un luogo da chiamare patria*[10] e anche in questo senso, uno sciame di api non può che esserne una immagine davvero molto consona.

5. Aristeo e la bugonia nel IV libro delle Georgiche

Le Georgiche di Virgilio sono un testo dedicato all'agricoltura, come le Bucoliche erano dedicate alla pastorizia, e sono considerate, dal punto di vista stilistico, l'opera forse più elaborata della letteratura latina.

10 Marcolongo 2020, 54.

Detto questo, se l'altissimo valore poetico delle Georgiche è riconosciuto universalmente, la loro valenza tecnica e ancor più scientifica è generalmente messa sempre in secondo piano, se non trascurata del tutto. Se da un lato Virgilio espone in modo chiaro (se pur concisamente) le esigenze ambientali delle api, le tipologie dei più idonei alveari, quali piante seminare presso gli apiari, come nutrire le api in caso di carestia e le poche altre operazioni apistiche, sembra che per quanto riguarda la biologia dell'ape Virgilio non faccia altro che riassumere notizie di seconda o terza mano. Il fatto poi che una vasta parte del IV libro delle Georgiche sia dedicato al racconto del mito di Aristeo (*Fig. 4*), ovvero alla *bugonia*, non ha certamente portato ad un giudizio positivo sui contenuti dell'intera trattazione sulle api. La versione raccontata da Virgilio del mito di Aristeo, (forse la più nota e ampia tra le molte conosciute) spiega come mai gli antichi credessero, o facessero finta di credere, che le api nascerebbero dalle carogne di grossi bovini o di altri animali. Aristeo, figlio di una ninfa Naiade (ninfe delle acque), è la figura mitologica che ha diffuso tra gli uomini l'allevamento del bestiame, la coltivazione delle piante e l'apicoltura. Questo Prometeo dell'agricoltura si era invaghito della bella Euridice (la promessa sposa di Orfeo) e, in un impeto di desiderio, volle farla sua. Euridice tentò di sfuggirgli, ma scappando calpestò una serpe, che la morse provocandole la morte. Euridice era una ninfa Amadriade, cioè una delle ninfe che vivevano negli alberi, e le sue compagne, per vendicarla, fecero morire le api di Aristeo che, tardivamente pentito, chiese aiuto alla madre. Questa gli indicò il modo per placare le Naiadi, offrendo loro in sacrificio alcuni grossi capi di bestiame, lasciandoli al suolo per poi tornare sul luogo del sacrificio dopo nove giorni. Aristeo obbedì alla madre e al suo ritorno trovò nelle carcasse degli animali sacrificati sciami d'api, riuscendo a riprendere la sua attività di apicoltore:

Post, ubi nona suos Aurora induxerat ortus,
inferias Orphei mittit lucumque revisit.
Hic vero subitum ac dictu mirabile monstrum
adspiciunt, liquefacta boum per viscera toto
stridere apes utero et ruptis effervere costis,
immensasque trahi nubes, iamque arbore summa
confluere et lentis uvam demittere ramis.

Dopo, quando la nona Aurora ebbe portato la sua luce,
dedicò [Aristeo] ad Orfeo i doni funebri, e vide di nuovo il bosco.
Allora davvero improvviso e incredibile a dirsi, si vide un

Prodigio: dalle viscere corrotte dei buoi in tutto il ventre
ronzavano le api, e ribollivano dai fianchi aperti uscendo
fuori in immense nubi, e raccogliendosi sulla cima
di un albero e pendendo in grappolo dai flessibili rami.



Fig. 4. Una statuetta di bronzo datata a prima del IV secolo a.C., identificata come una raffigurazione di Aristeo e trovata in Sardegna, a Dule (Nuoro).

Il mito di Aristeo e la *Bugonia* (*Fig. 5*), che potrebbe anche essere interpretato come il racconto di una antichissima catastrofe ambientale causata dall'eccesso di pascolamento,[11] è in buona sostanza una versione mitologica della supposta generazione spontanea degli organismi, perdurata fino al XVII secolo, quando è stata confutata sperimentalmente da grandi naturalisti, come ad esempio Francesco Redi (Arezzo, 1626 – Pisa, 1697). Un altro aspetto interessante deriva dal fatto che Aristeo, nei vari miti che lo coinvolgono, è descritto in viaggio di civiltà in civiltà disseminando le sue conoscenze

11 Fontana 2021, 316.

agricole e spiegherebbe quindi la diffusione dell'apicoltura dal Medio Oriente all'Europa occidentale[12]. Da un punto di vista pratico, nelle Georgiche Virgilio non si limita a raccontare il mito di Aristeo, ma fornisce minuziose istruzioni su come mettere in atto questo modo di far nascere le api dalle carcasse di animali macellati all'uopo, collocandole in un piccolo edificio dalla peculiare progettazione e che forse era lo stesso usato dagli apicoltori di venti secoli fa per alloggiare gli alveari[13].



Fig. 5. Aristeo e la *bugonia*, in una miniatura a corredo di una edizione delle georgiche di Virgilio realizzata a Lione e databile al 1517.

6. La sciamatura nel IV libro delle Georgiche

Un ulteriore aspetto che ha penalizzato le Georgiche per quanto riguarda i contenuti tecnici e scientifici è la scrittura poetica molto elaborata e raffinata. Per molti secoli dunque, le traduzioni delle Georgiche in altre lingue sono state fatte restituendo soprattutto la

12 Fontana & Fontana 2020, 37-40.
13 Fontana 2020, 114.

musicalità del componimento tanto che, nella stragrande maggioranza dei casi, le traduzioni sono dovute a letterati e non a studiosi della biologia delle api o a cultori dell'apicoltura. Per comprendere, infatti, quanto lo stile e la poetica di Virgilio abbiano in parte penalizzato i suoi contenuti, basta soffermarsi, con uno sguardo squisitamente naturalistico, su una singola parte delle Georgiche, cioè quello stesso aspetto della biologia di *Apis mellifera* che il poeta metterà poi al centro della su ultima opera, l'Eneide, ovvero la sciamatura. Su questo aspetto della biologia del superorganismo alveare, Virgilio, come vedremo, descrive con un certo dettaglio, alcuni fenomeni ancora oggi poco conosciuti e studiati nell'ambito dell'apidologia moderna.

Parlando della sciamatura Virgilio descrive innanzitutto cosa debba fare l'apicoltore quando vede un alveare sciamare, quando cioè le api escono tumultuosamente in massa e volano verso l'alto:

Hinc ubi iam emissum caveis ad sidera caeli
Nare per aestatem liquidam suspexeris agmen
Obscuramque trahi vento mirabere nubem

Ma quando il nido abbandonando i folti
sciami vedrai lungi involarsi, ed alto
nuotar per l'aër liquido e sereno,
quasi spinte dal vento oscure nubi[14]

L'apicoltore deve inseguire lo sciame e attirarlo col suono di pentolame di rame o cembali (*Fig. 6*) e cospargere un'arnia vuota con melissa o cerinta (piante aromatiche), perché le api si possano trovare a loro agio una volta inserite nella nuova dimora, pratica largamente diffusa, quest'ultima, anche ai giorni nostri.

Ipse consident medicatis sedibus, ipsae
Intima more suo sese in cunabula condent

Con presto vol su i medicati seggi
volontarie calarsi, e mano a mano
ne i buchi entrar del preparato albergo.

[14] Bondi 1809, 256.



Fig. 6. La catttura di uno sciame mediante battitura di stoviglie in metallo in una tavola sull'apicoltura a corredo di un'edizione del XVI secolo intitolata *l'opere di Virgilio Mantoano, Cioè, la Bucolica, la Georgica, e l'Eneide*. Venezia, Gio. Battista e Gio Bernardo Sessa (1597).

Questi passi, pur se restituiti nella traduzione in versi di Bondi[15], sono ben comprensibili[16]. La pratica di battere su oggetti metallici serviva in realtà per segnalare la proprietà dello sciame e per garantire all'apicoltore il permesso di entrare nei fondi altrui per recuperarlo. Bisogna tuttavia ricordare che questa tecnica acustica di recupero di sciami in volo è stata praticata fino ai giorni nostri in molte regioni del mediterraneo come è descritto ad esempio per la Sardegna[17].

6.1 *Il canto delle api regine nel IV libro delle georgiche*

Ma quello che Virgilio descrive subito dopo si riveste invece di un intenso sapore epico e sembra che alle api vengano trasferiti comportamenti umani e che non sia descritto un reale fatto biologico.

15 Bondi 1809, 256.

16 Si è scelto fare riferimento ad una traduzione datata come quella di Bondi come caso limite, ma gli stessi problemi di traduzione si riscontrano più o meno anche in traduzioni più moderne.

17 Floris et al., 2020, 249-250.

Sin autem ad pugnam, exierint, nam saepe duobus
regibus incessit magno discordia motu,
continuoque animos vulgi et trepidantia bello
corda licet longe praesciscere; namque morantes
Martius ille aeris rauci canor increpat et vox
auditur fractos sonitus imitata tubarum

Che se a battaglia sanguinosi in campo
dispongasi ad uscir (chè avvien sovente,
che odio e discordia fra i due re s'accenda).
Tu molto pria ne gli agitati petti
l'ire nascenti antiveder potrai,
poichè le pigre ad eccitar già s'ode
un fremer sordo, e un bellico fragore,
che il rotto squillo de le trombe imita

Anche una traduzione leggermente più letterale, moderna e da me integrata, non sembra molto chiara in questo punto:

> Se invece usciranno a battaglia - infatti spesso fra due re [regine] scoppia una grande e tumultuosa discordia – tu potrai molto prima prevedere l'ardore della colonia e l'ansiosa attesa della battaglia che cova all'interno; infatti finchè le api sono ancora dentro l'arnia, si sente un caratteristico e marziale brontolio come di un rauco bronzo e si sente uno strepito simile agli squilli intermittenti delle trombe.

In questi versi e poi nei successivi, vengono definiti tre diversi aspetti etologici legati alla sciamatura. Il primo è l'uscita tumultuosa degli sciami accompagnati dalla propria regina e l'apparente battaglia tra diversi sciami guidati dalle rispettive api regine. Il secondo fatto descritto da Virgilio è il forte ronzio generale che si ode nell'alveare alcuni giorni prima della sciamatura. Il terzo fenomeno è invece quello che identificheremo tra un attimo come il vero e proprio canto dell'ape regina. Questi fenomeni acustici, o meglio bioacustici, che preannunciano la sciamatura erano già stati descritti da Aristotele (Stagira, 384 - Calcide, 322 a.C.) nella sua *Historia Animalium* (libro IX, 40)[18]:

> Quando stanno per fare una sortita, per alcuni giorni si sente una voce monotona e particolare, e due o tre giorni prima poche volano intorno all'arnia. Se tra queste vi sia anche il re non lo si è mai visto, poiché non è facile.

18 Carbone 2008, 118.

Anche Varrone, molto prima di Virgilio, descrive questi suoni nel suo *Rerum Rusticarum De Agri Cultura* (Liber III,16):

> *… et ut colonias mittunt, iique duces conficunt quaedam ad vocem ut imitatione tubae. Tum id faciunt, cum inter se signa pacis ac belli habeant.*
>
> … e quando formano una nuova colonia si radunano al suono, simile ad auna tromba, emesso dal loro capo. Quindi lo fanno come se avessero tra loro segnali di pace e di guerra.

Su questo aspetto Columella, che però scrive successivamente a Virgilio, è ancora più dettagliato nel suo *De re rustica* (Libro IX libro IX, IX), specificando che questi suoni si possono udire alla sera e per te giorni prima della sciamatura:

> *Poterit exploratam fugam praesciscere vespertinis temporibus aurem singulis alveis admovendo. Siquidem fere ante triduum quam eruptionem facturae sunt, velut militaria signa moventium tumultus ac murmur exoritur, ex quo, ut verissime dicit Vergilius…*
>
> Il custode però potrà saperlo in anticipo, avvicinando alla sera l'orecchio ad ogni alveare. Infatti, circa tre giorni prima di erompere dall'arnia, sorge negli alveari un tumulto simile a quello di un esercito di soldati che muove le insegne, e un grande mormorio, dal quale, come dice con grandissima verità Virgilio…

Plinio il Vecchio, anch'egli posteriore a Virgilio, parla invece solo del forte ronzio dell'alveare che nella sua *Naturalis Historia* (libro XI, 54) descrive in modo sbrigativo:

> *Procedit foris non nisi migraturo examine. Id multo intellegitur ante, aliquot diebus murmure intus strepente, apparatus indice diem tempestivum eligentium.*
>
> [Il re] esce dall'alveare soltanto quando lo sciame si prepara ad emigrare. Intenzione percepibile molto prima, a causa di un insistente ronzio di alcuni giorni, indizio della mobilitazione delle api, pronte a cogliere il giorno opportuno.

I fenomeni acustici descritti da Virgilio nel IV libro delle Georgiche, erano dunque già stati descritti prima di lui e lo saranno anche dagli altri autori classici a lui successivi. In Virgilio però c'è qualcosa di diverso. Intanto il Sommo Poeta distingue nettamente due fenomeni acustici e ne dà una descrizione talmente efficace, si potrebbe dire onomatopeica, che risulta chiaro che si tratta di fenomeni cui ha assistito.

Vediamo dunque il primo di questi due fenomeni acustici. È noto, almeno a chi ha una frequentazione con le api, che nei giorni precedenti la sciamatura, soprattutto il giorno prima, la colonia è poco attiva all'esterno dell'alveare e le api stanno invece quasi tutte rinserrate dentro l'arnia o la cavità naturale dove hanno installato la loro colonia. In questi giorni, e soprattutto nel silenzio della sera, si sente un ronzio chiaramente molto più forte dell'usuale. È il *Martius ille aeris rauci canor* di Virgilio, il *fremer sordo* di Bondi ed il *murmure intus strepente* di Plinio il vecchio.

Unica e imitata o copiata nei secoli resta invece la descrizione che Virgilio propone del secondo fenomeno acustico, quello che oggi definiamo in modo semplicistico come il *canto della regina*. Virgilio restituisce questo suono in maniera davvero straordinaria, imprimendo nel verso che lo descrive lo stesso ritmo che si può leggere in un moderno oscillogramma del medesimo suono. Il canto della regina è quindi per Virgilio *vox auditur fractos sonitus imitata tubarum.*

Questo secondo suono viene spesso interpretato e quindi tradotto come una ulteriore descrizione del primo fenomeno e cioè del generale forte ronzio che la colonia emette prima della sciamatura. Bondi (1809) infatti, come abbiamo già visto, li lega come due manifestazioni di uno stesso fenomeno: *già s'ode un fremer sordo, e un bellico fragore, che il rotto squillo de le trombe imita*. Virgilio, invece, tra il *rauci canor* ed il *fractos sonitus imitata tubarum* mette un doveroso *et*, perché si tratta di due fenomeni diversi, come risulta dalla traduzione letterale del testo. La restituzione metrica, quasi onomatopeica, della descrizione di Virgilio non può che far pensare ad una esperienza diretta da parte del Poeta, che deve aver udito questo suono per poterlo descrivere, primo tra gli autori antichi, così fedelmente.

Il canto delle api regine è un fenomeno, come si è visto, conosciuto fin dall'antichità anche se studi approfonditi si sono realizzati solo nel corso dei secoli recenti, in corrispondenza delle nuove conoscenze sulla biologia delle api, acquisite soprattutto, a partire dal XVII secolo, grazie all'uso del microscopio e mediante l'uso di arnie da osservazione a vetri[19]. Il primo studioso a dedicarsi in modo dettagliato al canto delle regine è stato l'inglese Charles Butler (1560-1647), autore del primo testo interamente dedicato alle api ed all'apicoltura in lingua inglese: *The Feminine Monarchie*[20]. Uno degli aspetti più interessanti del testo

19 Fontana 2021, 400-414.
20 Butler 1609.

di Butler è infatti la sua descrizione del canto delle api regine, che trascrive su uno spartito in chiave di violino. Butler osservò che il canto delle regine sono in realtà due tipi di suoni diversi. I canti delle api regine vengono oggi indicati nel loro insieme col termine *piping*, e vengono distinti in *tooting* e *quacking*: il primo viene riferito al canto emesso dalle regine che vagano libere sui favi mentre il secondo termine indica il canto, più sommesso ovviamente, emesso dalle api regine mentre sono ancora all'interno delle celle reali (*Fig. 7*). Entrambi questi suoni, simili a quelli emessi da una trombetta, sono ritmati, come viene perfettamente espresso nel verso di Virgilio: *fractos sonitus imitata tubarum*. Il *tooting* può essere con buona approssimazione espresso con un *Tooooooo to to to to*, e cioè con un suono lungo iniziale seguito da alcuni suoni brevi in successione ritmata. Il quacking è composto invece da una serie di brevi suoni, tutti di uguale lunghezza, che possono essere descritti con un *qua qua qua qua qua*[21]. Poiché il *tooting* è il suono più facilmente udibile dall'esterno dell'alveare (oltre che per la sua metrica complessiva) possiamo ritenere che Virgilio si sia riferito probabilmente a questo canto, cioè quello delle regine vaganti sui favi. L'interpretazione biologica di questi canti, prodotti dalle regine mediante una intensa vibrazione del torace[22], non è ancora stata del tutto chiarita dagli studiosi tanto che alcuni affermano che a cantare siano solo le nuove regine vergini mentre altri, (ed io tra questi) asseriscono che anche le regine feconde possano cantare[23].

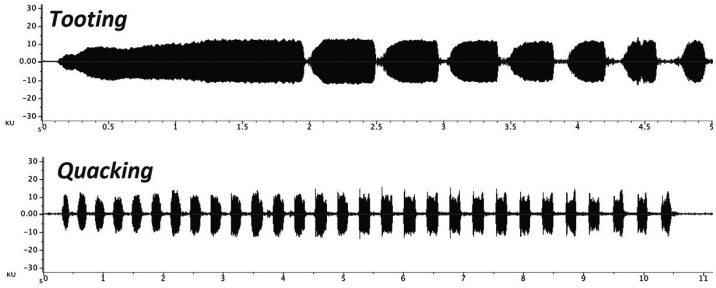


Fig. 7. Restituzione grafica dei canti delle api regine. Grafici di Gianni Pavan (Università di Pavia, Centro Interdisciplinare di Bioacustica e Ricerche Ambientali).

21 Fontana 2020, 123.
22 Simpson 1964.
23 Grout 1981, 67; Fontana 2020, 127 e 2021, 87.

6.2 *La battaglia tra gli sciami ovvero la fusione di sciami diversi nel IV libro delle Georgiche*

Per comprendere cosa intenda descrivere Virgilio parlando in termini bellici, dobbiamo prima descrivere per sommi capi cosa avviene in un alveare subito dopo la sciamatura, che è il processo mediante cui una colonia di api si riproduce, fondando una nuova colonia, e costituisce l'unica modalità di diffusione nell'ambiente per la specie *Apis mellifera*. Una volta che la vecchia regina è sciamata con circa metà delle api adulte presenti nella colonia (sciamatura primaria), subito o dopo 3-7 giorni nascono simultaneamente alcune api regine: prima della sciamatura ogni colonia aveva allevato molte api regine con uno sviluppo non completamente sincronizzato e che quindi diventano adulte nell'arco di alcuni giorni. Le regine uscite dalle cellette più o meno nello stesso tempo combattono tra loro e ne resta viva soltanto una. Questi combattimenti avvengono ovviamente all'interno dell'alveare. A questo punto nell'alveare possono presentarsi due casi. Nel primo, alla regina rimasta in vita dopo gli scontri le api operaie permettono di uccidere le regine ancora rinchiuse dentro le cellette reali e quindi resta l'unica regina della colonia. In questo caso, dopo alcuni giorni (in genere 5-7) la nuova regina, detta vergine, esce per uno (in genere) o più voli di fecondazione, durante i quali cerca di accoppiarsi, lontano dall'alveare (anche fino a 7-8 km) con un elevato numero di fuchi, da 8 a 25[24]. Tornata all'alveare l'ape regina, dopo circa una settimana, inizia a deporre le uova e la colonia riprende il suo naturale ciclo di sviluppo. Nel secondo caso, alla regina rimasta viva dopo i combattimenti viene impedito di eliminare le regine ancora rinserrate nelle cellette reali e quindi si mette in moto il fenomeno della sciamatura secondaria. Le api operaie proteggono le celle reali che non erano schiuse per prime, alimentano le regine imprigionate attraverso un foro nella celletta e dopo alcuni giorni, la nuova regina che vaga senza sosta e inutilmente per eliminare le sorelle, viene spinta a sciamare con la metà circa delle api che sono presenti al momento della seconda sciamatura. Alla sciamatura secondaria, con uguali modalità, possono succederne una terza, una quarta, etc.. Il *fractos sonitus imitata tubarum* di Virgilio si ode proprio in queste occasioni, cioè subito prima della sciamatura primaria o delle

[24] Fontana 2021, 91.

successive sciamature. Ovviamente gli sciami, partendo dal primario sono via via formati da un numero minore di api. È probabilmente a causa della formazione di sciami secondari molto piccoli che avviene il fenomeno descritto da Virgilio ma che risulta del tutto trascurato dall'apidologia moderna.

Quello che Virgilio descrive subito dopo aver dato le prime informazioni sulla sciamatura e sui relativi segnali premonitori e cioè il ronzio generale dell'alveare e il canto delle api regine, viene descritto come una sorta di battaglia molto cruenta tra le api regine ed i loro rispettivi sciami.

ergo, ubi ver nactae sudum camposque patentes,
erumpunt portis; concurritur; aethere in alto
fit sonitus; magnum mixtae glomerantur in orbem,
praecipitesque cadunt; non densior aëre grando,
nec de concussa tantum pluit ilice glandis.
Ipsi per medias acies insignibus alis
ingentes animos angusto in pectore versant,
usque adeo obnixi non cedere, dum gravis aut hos
aut hos versa fuga victor dare terga subegit.

Ed ecco al primo estivo dì, che in cielo
spunta sereno, ne gli aperti campi
slanciansi fuor de le porte, e a fronte
già stansi; arde la zuffa, ed alto in aria
ne ronza il suono, agglomerate in globo
pugnano, e giù precipitando a terra
piombano estinte, nè si spessa cade
la grandine dal ciel, nè in tanta copia
da scossa quercia piovono le ghiande.
distinti a l'ali d'oro i re per mezzo
van de le schiere, e intrepidi pugnando
chiudono in picciol seno anima grande,
ostinati a non cedere, se prima
o l'uno o l'altro vincitor non forzi
l'oste fuggendo a rivoltar le spalle.

Anche in questo caso, e forse ancor di più, se oltre alla traduzione poetica di Bondi[25] consideriamo una traduzione più letterale, il quadro di quello che Virgilio descrive non appare comunque affatto chiaro a chi non abbia una prolungata esperienza delle api:

25 Bondi, 1809, 257.

> Così, quando torna il sereno a primavera e il cielo è limpido, si lanciano fuori; è lo scontro, nell'aria si alza un fragore, corpo a corpo si affrontano in grande cerchio e si abbattono a morte. Non cade più fitta la grandine dal cielo, né, scuotendo un leccio, pioggia di ghiande più intensa. Riconoscibili nel mezzo della battaglia tra ingenti truppe, [i re] mostrano coraggio immenso nel loro minuscolo cuore, rifiutandosi con ogni forza di cedere, finché l'autorità del vincitore non costringe uno dei contendenti a volgere le spalle in fuga.

Ma di quale battaglia sta parlando Virgilio? Ed è una battaglia che coinvolge tutte le api o soltanto le api regine? Anche in questo caso il fenomeno descritto è tra gli aspetti della biologia delle api da miele meno conosciuti dagli studiosi moderni, che non ne parlano praticamente mai, mentre gli apicoltori ne sono spesso spettatori, anche se spesso inconsapevoli. Per trovare una descrizione di quello che Virgilio canta nei suoi versi, bisogna andare a ritroso di un paio di secoli, cercando nella vasta letteratura sulle api e l'apicoltura tra XVIII e XIX secolo. In quei tempi l'apicoltura era basata sulla sciamatura naturale e la ricchezza dell'apicoltore dipendeva dal numero di sciami che le sue colonie producevano a primavera.

Prima di procedere nell'esegesi dei versi di Virgilio bisogna considerare che quanto vi è descritto deve essere interpretato in due diversi fenomeni. Il primo è la fuoriuscita da un alveare di uno sciame contenente più api regine vergini. Il secondo è la fusione tra sciami secondari o tra sciami primari e secondari.

Quello che ci racconta Virgilio lo si trova descritto in modo perfetto nel famoso testo di apicoltura scritto dal francese Charles Pierre Lombard (1743-1824) e intitolato *Manuel nécessaire au villageois, pour soigner les abeilles* ovvero *Manuale necessario ai paesani per prendersi cura delle api*[26] o nelle successive edizioni in varie lingue, tra le quali ve ne sono due anche in italiano[27]. Nell'edizione in italiano del 1814 possiamo leggere a tal proposito[28]:

> *Nel disordine che accompagna la partenza del secondo, terzo, e quarto sciame accade spesso che le giovani regine ritenute* [ovvero trattenute]

26 Lombard 1802.
27 Lombard 1811 e 1814.
28 Lombard 1814, 30.

> *prigioniere fuggono dalla loro cellula; da ciò deriva che si vedono spesso due, o tre regine in uno stesso sciame, senza che si possa dedurne che possono aversi più regine libere nell'istesso tempo in un alveare. Queste regine si battono subito fra loro, fino a tanto che ne resti una sola vivente. Giammai le Api-operiere prendono parte in questi combattimenti.*

La descrizione è molto chiara e racconta perfettamente un comportamento noto agli apicoltori ma poco o per nulla considerato dall'apidologia moderna[29].

In un altro punto del suo manuale, Lombard[30] parla di un secondo fenomeno:

> *Sciami divisi in più globi – Questa disposizione è segno che nello sciame vi sono più regine, ciascun globo avendo la sua. Allora non conviene affrettarsi a raccoglierlo. Le api de' globi minori, abbandonano la loro regina per riunirsi ai maggiori. Le regine abbandonate si riuniscono anch'esse. Collocate tutte le Api, e tutte le regine in uno stesso alveare, queste ultime combatteranno fra loro fino che non ne resti che una.*

Questo comportamento caotico della riunione di sciami diversi (*Fig. 8*), ognuno con la propria regina, è quello di cui parla Virgilio come fosse una battaglia. Il significato di queste fusioni di colonie di dimensioni diverse trova una sua spiegazione di tipo evoluzionistico. Dagli studi di Thomas D. Seeley[31], sappiamo che in natura solo il 25 % degli sciami partiti nell'anno sopravvive fino all'anno successivo. La selezione naturale nei confronti di *Apis mellifera* è davvero dura e spietata. Gli sciami tardivi e quelli secondari, che spesso coincidono, sono in genere formati da troppo poche api per avere la massa critica sufficiente a costituire una famiglia capace di fabbricare un adeguato numero di favi, ad allevare abbastanza covata e ad immagazzinare sufficienti scorte di miele per sopravvivere all'inverno. Da questo punto di vista il comportamento descritto da alcuni autori antichi (come Virgilio) ed esplicitamente anche da Lombard e cioè la fusione tra sciami, è quindi una soluzione a questo grave problema di sopravvivenza. Già Aristotele, nella sua *Historia Animalium* (libro IX, 40) scriveva chiaramente[32]:

---

29 Fontana 2020, 131-133.
30 Lombard 1814, 114.
31 Seeley 2017 e 2020.
32 Carbone 2008, 118-119.

Quando si raccolgono in massa, volano via separandosi, insieme a ciascun re. Tuttavia, se capita che un piccolo gruppo si stabilisca nei pressi di uno grande, quelle in minoranza si uniscono alla maggioranza, e uccidono il re che hanno abbandonato, se le segue.



Fig. 8. Uno sciame multiplo, come quello descritto da Virgilio nel IV libro delle Georgiche e soprattutto nel testo di Lombard. Illustrazione dell'incisore ceco Wenceslaus Hollar (1607–1677); da un'edizione settecentesca delle opere di Virgilio.

Anche Plinio il Vecchio, nel libro XI della sua *Naturalis Historia* parla di questo fenomeno spiegando come sciami rimasti senza regina

non restino nell'arnia in cui sono stati introdotti e possono invece unirsi a colonie che ne siano fornite:

> *Duce prenso totum tenetur agmen, amisso dilabitur migratque ad alios. esse utique sine rege non possunt. invitae autem interemunt eos, cum plures fuere, potiusque nascentium domos diruunt, si proventus desperatur. Tunc et fucos abigunt.*
>
> Catturato il re, tutto lo sciame resta unito; perdutolo si divide ed emigra presso altri: senza un capo non riescono a stare. Controvoglia, quando ce ne sono parecchi li uccidono; e piuttosto distruggono le celle dei nascituri, se non sperano in un buon raccolto. Allora scacciano pure i fuchi.

Anche Lombard[33] descrive questa riunione tra colonie, parlando di sciamature di diverse colonie in un breve lasso di tempo:

> *Se uno sciame parte poco dopo che se ne sono raccolti altri, le Api conduttrici, attirate dall'odore che gli sciami precedenti hanno lasciato dietro di loro, si avvicinano ai nuovi alveari, e vi si riuniscono.*

Io stesso ho avuto la fortuna di osservare più volte questi fenomeni apparentemente caotici e privi di senso ma che invece rispondono ad una chiara esigenza di sopravvivenza. Tutti questi eventi, come scrive proprio Lombard, avvengono senza che le api operaie combattano tra loro. Quello che Virgilio non coglie o non spiega è che il combattimento avviene solo tra le regine e che queste lotte di potere non toccano il resto della colonia, che invece ha un solo obbiettivo, sopravvivere come massa, come sciame e non come individuo, aspetto invece incarnato in questi casi dalle sole api regine.

Da quanto detto sulla descrizione di Virgilio relativa ai fenomeni della sciamatura (suoni e apparenti lotte tra sciami), questi erano praticamente gli unici aspetti della biologia di *Apis mellifera* che gli apicoltori dell'antichità e del recente passato potevano osservare con facilità e frequenza, prima della vasta diffusione delle arnie da osservazione, che pure erano presenti anche ai tempi di Plinio il Vecchio[34], e dell'av-

---

33 Lombard 1814, 115.
34 Fontana 2021, 374-375.

vento delle arnie a telaini mobili. Virgilio descrive quindi alcuni comportamenti del superorganismo alveare in un modo talmente dettagliato e preciso che non possiamo dubitare del fatto che i suoi versi non riportano quanto riferitogli da altri ma che sono invece frutto di una sua diretta osservazione. È specialmente la perfetta restituzione onomatopeica del canto delle regine a suffragare questa ipotesi che farebbe di Virgilio non solo il cantore delle api o un compilatore di un testo sull'apicoltura, ma piuttosto un etologo ante litteram.

7. Le api da Virgilio a Dante Alighieri

L'uso simbolico delle api che Virgilio ha fatto nelle sue opere, ha avuto moltissimi epigoni ma è forse Dante Alighieri (Firenze, 1265 – Ravenna, 1321) ad averne colto a pieno, nella sua Comedia (Divina Commedia), lo spirito originale. Virgilio è d'altronde la guida che Dante sceglie per il suo personale viaggio nell'oltretomba, novello Enea o Ulisse, ed in particolare per la sua visita all'inferno e al Purgatorio. Nel 2021 si è celebrato il settecentesimo anniversario della morte di Dante e sembra dunque doveroso riportare i punti in cui questo poeta, considerato il padre della lingua italiana, parla delle api nella sua opera fondamentale. Seguendo il suo schematismo creativo, Dante colloca le api una volta per ognuna delle tre cantiche che la compongono e cioè nel canto XVI dell'Inferno, nel canto XVIII del Purgatorio e in fine nel canto XXXI del Paradiso.

Nell'inferno le api sono utilizzate per descrivere un suono, che è *simile a quel che l'arnie fanno rombo*. In questo verso è evidente il richiamo al *rauci canor* descritto da Virgilio nel libro IV delle Georgiche.

Nel Purgatorio Dante dice che l'affetto è insito nell'uomo *sì come studio in ape di far lo mele*, ed anche in questo passo non si può non ricordare il verso della Egloga X di Virgilio, *Amor nec gramina rivis, nec cytiso saturantur apes*, in cui il Sommo Poeta parla di un amore insaziabile di lacrime e quindi istintivo come quello delle api per i fiori del Citiso. Nel paradiso poi, la *milizia santa* (*Fig. 9*), appare a Dante *come schiera d'ape, che s'infiora*, in chiara analogia con quanto scritto da Virgilio, nel libro VI dell'Eneide, per descrive le anime prescelte per la reincarnazione, *animae, quibus altera fato corpora debentur*, come una miriade di api che volano su una distesa di fiori durante la serena estate: *ac veluti in pratis ubi apes aestate serena*.



Fig. 9. La *milizia santa* descritta da Dante nel XXXI canto del paradiso; illustrazione di Paul Gustave Louis Christophe Doré, (1832-1883).

Ecco di seguito le terzine complete in cui sono inserite le api nelle tre cantiche della Divina Commedia di Dante.

INFERNO, XVI canto:

Già era in loco onde s'udìa 'l rimbombo
de l'acqua che cadea ne l'altro giro,
simile a quel che l'arnie fanno rombo, 3

quando tre ombre insieme si partiro,
correndo, d'una torma che passava
sotto la pioggia de l'aspro martiro. 6

Venian ver noi, e ciascuna gridava:
«Sòstati tu ch'a l'abito ne sembri
esser alcun di nostra terra prava».

PURGATORIO, XVIII canto:

Però, là onde vegna lo 'ntelletto
de le prime notizie, omo non sape,
e de' primi appetibili l'affetto,

che sono in voi sì come studio in ape
di far lo mele; e questa prima voglia
merto di lode o di biasmo non cape.

PARADISO, XXXI canto:

In forma dunque di candida rosa
mi si mostrava la milizia santa
che nel suo sangue Cristo fece sposa;

ma l'altra, che volando vede e canta
la gloria di colui che la 'nnamora
e la bontà che la fece cotanta,

sì come schiera d'ape, che s'infiora
una fiata e una si ritorna
là dove suo laboro s'insapora,

nel gran fior discendeva che s'addorna
di tante foglie, e quindi risaliva
là dove 'l suo amor sempre soggiorna.

BIBLIOGRAFIA

Bondi, Clemente 1809 - *L'Eneide la Georgica e la Buccolica tradotte da Clemente Bondi* (Tomo I e II). Venezia, Presso Tommaso Bettinelli.

Butler, Charles 1609 - *The Feminine Monarchie*. Oxford, Joseph Barnes.

Carbone, Andrea L. 2008 (a cura di) - Aristotele, *Vita, attività e carattere degli animali. Historia Animalium – libri VIII-IX. A cura di Andrea L. Carbone*. Palermo, Duepunti Edizioni.

Conway Robert Seymour 1915 - *The Youth of Vergil: a lecture delivered in the John Rylands Library on 9 December, 1914*. The Bulletin of the John Rylands Library.

Dalmerj, Giampaolo – Bassetti, Michele – Cusinato, Anna – Kompatscher, Klaus - Hrozny Kompatscher, Maria – Lanzinger, Michele 2002 - *Le pietre dipinte del sito epigravettiano di Riparo Dalmeri. Campagna di ricerche 2001*. Preistoria Alpina, 38.

Floris, Ignazio - Fontana, Paolo 2020 - *Honey bees and beekeeping in ancient Rome. In Floris I. (ed.) Italian Apiculture, a journey through history and honey diversity. A tribute to Eva Crane*. Cagliari, Nuove Grafiche Puddu s.r.l., Ortacesus.

Floris Ignazio - Pusceddu Michelina - Francesconi Ana H. D. - Satta Alberto 2020 - *Sardinian Beekeeping. In Floris I. (ed.) Italian Apiculture, a journey through history and honey diversity. A tribute to Eva Crane*. Cagliari, Nuove Grafiche Puddu s.r.l., Ortacesus.

Fontana, Paolo – Angeli, Gino 2020 - *Trentino beekeeping. In Floris I. (ed.) Italian Apiculture, a journey through history and honey diversity. A tribute to Eva Crane*. Cagliari, Nuove Grafiche Puddu s.r.l., Ortacesus.

Fontana, Carlotta – Fontana, Paolo 2020 - *The first evidence. In Floris I. (ed.) Italian Apiculture, a journey through history and honey diversity. A tribute to Eva Crane*. Cagliari, Nuove Grafiche Puddu s.r.l., Ortacesus.

Fontana, Paolo 2020 - *La sciamatura e il canto delle api regine nei versi di Virgilio*. Rivista di Divulgazione di Cultura Agraria, 1.

Fontana, Paolo 2021 - *Il piacere delle api. Le api come modello di sostenibilità e l'apicoltura come esperienza della natura e della storia dell'uomo. Nuova edizione riveduta e ampliata*. Verona, WBA project.

Fontana, Paolo 2019 - *The Joy of Bees. Bees as a model of sustainability and beekeeping as an experience of Nature and human history*. Verona, WBA Project.

Grout, Roy A. 1981 - *L'ape e l'arnia. Edizione rivista da Dadant e Sons, a cura di Abramo Andreatta*. Bologna, Edagricole.

Lombard, Charles Pierre 1802 - *Manuel nécessaire au villageois, pour soigner les abeilles. Les dépouiller dans un instant sans leur nuire, les transvaser, enlever au Miel son âcreté, l'employer comme le Sucre, faire les Hydromels, etc., etc., etc. Avec figures*. Parigi, Migneret, Imprimeur, Duchesne Libraire, Ant. Aug. Renouard.

Lombard, Charles Pierre 1811 - *Manuale per il proprietario delle api che contiene i precetti sopra il modo di moltiplicarle, di governarle e di trattare i loro prodotti. Del sig.r Lombard delle Società di agricoltura di Parigi, e di Versailles, di quella delle Scienze ed Arti di Rennes, del Consiglio di Amministrazione della Società d'inco-*

raggiamento per l'industria nazionale ec. Traduzione sopra la quarta edizione francese, rivista, corretta, ed aumentata. Firenze, Stamperia Reale.

Lombard, Charles Pierre 1814 - *Manuale per il proprietario delle api che contiene i precetti sopra il modo di moltiplicarle, di governarle e di trattare i loro prodotti. Del sig.r Lombard delle Società di agricoltura di Parigi, e di Versailles, di quella delle Scienze ed Arti di Rennes, del Consiglio di Amministrazione della Società d'incoraggiamento per l'industria nazionale ec. Traduzione sopra la quarta edizione francese, rivista, corretta, ed aumentata; e sulla edizione di Firenze del 1811. Arricchita di annotazioni particolarmente interessanti il Regno di Napoli, poste in fine*. Napoli, Stamperia Reale.

Marcolongo, Andrea 2020 - *La lezione di Enea*. Editori Laterza.

Picchi, Luigi 2013 (a cura e traduzione di) - Varrone, Virgilio, Columella, Plinio il Vecchio, Il libro delle Api.. Medusa, Milano: 159 pp.

Seeley Thomas Dyer 2017- La democrazia delle api. San Godenzo, Montaonda.

Seeley Thomas Dyer 2020 - *Vita delle api. La storia mai raccontata delle api mellifere allo stato selvatico*. San Godenzo, Montaonda.

Simpson James 1964 - *The mechanism of honey-bee queen piping*. Zeitschrift fur vergleichende Physiologue 48.

DNA, SESSO DELLE MOSCHE E GENE EDITING: PROTEGGERE LA FRUTTA SENZA PESTICIDI

GIUSEPPE SACCONE (*)

Nota presentata dal s.c. Giuliano Gasperi
(Adunanza del 22 aprile 2021)

SUNTO. – Molte specie di insetti sono dannose alla produzione agricola o alla salute umana e il cambiamento climatico amplifica il problema permettendo a quelle invasive di spostarsi e colonizzare nuovi territori. Un metodo di controllo alternativo all'uso dei pesticidi chimici, basato sulla genetica e specie-specifico è la tecnica dell'insetto sterile (SIT), che consiste nel frequente rilascio di maschi sterili nelle zone infestate. In questo contributo verranno descritte le tappe storiche della genetica di insetti dannosi, l'identificazione di loro geni della determinazione del sesso al fine di migliorare aspetti della SIT e verranno analizzate le potenzialità del loro utilizzo biotecnologico a fini del loro controllo, combinate con la tecnica CRISPR-Cas9.

***

ABSTRACT. – Many insect species are harmful to agriculture or human health and the climate change empowers the problem, allowing those invasive ones to migrate and colonize new geographic areas. A control method, alternative to chemical pesticides, based on genetics and species-specificity is the sterile insect technique (SIT), which consists in a frequent release of sterile males in the infested regions. In this essay, we will describe historical steps that led to the genetics of pest insects, aiming to improve SIT and to the identification of their sex determining genes. Furthermore, we will analyze the possibilities of their biotechnological use to their control, in the frame of CRISPR-Cas9.

(*) Dipartimento di Biologia, Università di Napoli Federico II, Napoli, Italy.
E-mail: giuseppe.saccone@unina.it

Introduzione

Con la domesticazione di specie animali, vegetali e la nascita dell'agricoltura si potè conciliare la nuova vita sedentaria della nostra specie con la disponibilità di alimenti. Ma nel corso del tempo, e soprattutto con il recente sviluppo dell'agricoltura intensiva si è andato aprendo un nuovo fronte di lotta per la sopravvivenza: la lotta contro gli insetti che danneggiano il raccolto. A inizio del secolo scorso, l'emergere della Genetica ha visto la scoperta del ruolo dei cromosomi nella ereditarietà ma anche nello sviluppo (determinazione del sesso) e la localizzazione dei geni sui medesimi proprio grazie allo studio di insetti sia dannosi come il *Tenebrio molitor* sia innocui come la più famosa *Drosophila melanogaster*. La genetica della Drosophila, fondata da Thomas Hunt Morgan (1866-1945; Columbia University, USA; Nobel 1933) ha permesso successivamente, e senza volerlo, di porre le basi per lo sviluppo della tecnica dell'Insetto Sterile (SIT), un approccio *ecofriendly* di biocontrollo di specie di insetti dannosi ma anche della biotecnologia entomologica per sviluppare metodi di controllo ancora più innovativi quali la recente tecnica del "*gene drive*", un approccio di manipolazioni della genetica delle popolazioni di insetti grazie ad un super vantaggio nella trasmissione ereditaria conferito ad un transgene (presente in insetti rilasciati) in grado di ridurre la riproduzione di una specie dannosa.

Lo sviluppo della tecnica dell'insetto sterile (SIT)

A metà del secolo scorso, il genetista sovietico Aleksandr Sergeevich Serebrovskii (1892-1948) partendo da concetti di genetica di popolazione, propose un metodo di controllo di insetti dannosi basato sul rilascio di individui maschi portatori di mutazioni che avrebbe ridotto il numero di individui selvatici. Successivamente, fu sviluppato il concetto di sterilizzazione mediante irradiazione e di insetti portatori di nuove mutazioni cromosomiche dominanti letali nei loro gameti. L'idea era derivata anche dagli studi dell'allievo di Morgan, Hermann J. Muller (1890-1967; Nobel nel 1946), che aveva scoperto come i raggi X inducessero mutazioni letali ereditarie nella *Drosophila*. Dopo alcuni decenni, l'idea fu messa in pratica negli Stati Uniti da Edward Knipling (1909-2000) che riuscì a eradicare nell'intera nazione e in quelle limitrofe a sud fino all'istmo di Panama, un insetto dannoso al bestiame, lo

"*screw worm*", o verme trapanatore, *Cochliomyia hominivorax*, le cui larve si nutrono crescendo nelle ferite degli animali. E' interessante notare che la tecnica è specie-specifica e non intacca la presenza di altre specie di insetti (spesso anche benefici), come invece accade con i pesticidi. E' possibile applicare questa strategia di biocontrollo alle specie dotate di un ciclo vitale abbastanza rapido ed in cui si possibile sviluppare dieta artificiale e un metodo di allevamento massivo (Klassen and Curtis, 2005). Questa tecnica che ha preso il nome di "Sterile Insect Technique", Tecnica dell'insetto sterile, o SIT, è applicata a varie altre specie dannose all'agricoltura ma anche alla salute umana, come le zanzare. Molti specie di mosche della frutta appartenenti alla famiglia delle mosche Tephritidae sono controllate con la SIT, quali la Mediterranean fruit fly (Medfly; *Ceratitis capitata*), la Mexican fly (*Anastrepha ludens*), e la Oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*), grazie alle intense attività formative, di networking ed organizzative della Pest Control Unit della FAO-IAEA (Seiberdorf, Austria).

Dopo la migrazione fuori dall'Africa della Medfly ed il suo arrivo nel bacino della California, estesa zona agricola a frutta, negli anni ottanta, ci furono forti contestazioni delle popolazioni urbane contro l'uso del *malathion*, pesticida che veniva spruzzato dall'alto con aerei. Fu quindi iniziato un progetto di controllo della *Medfly*, ancora oggi attivo in California, alternativo a questi pesticidi. La biofattoria che produce insetti della Medfly (fino a miliardi per settimana) e che serve la California in modo massivo si trova in Guatemala. Anche in Spagna, la regione di Valencia si è dotata di una sua biofattoria della Medfly ed applica la SIT per proteggere la produzione ed esportazione di agrumi. Anni fa la ENEA in Italia ha iniziato un progetto di biofattoria in Sicilia non ancora andato a buon fine.

Lo sviluppo di ceppi mutanti di Medfly per selezionare e rilasciare i soli maschi: approcci di genetica classica

E' stato presto chiarito che è possibile migliorare l'efficienza della SIT, se vengono rilasciati individui sterili del solo sesso maschile: le femmine sterili infatti danneggiano comunque con l'ovipositore la frutta, e "distraggono" i maschi sterili dall'accoppiarsi con le femmine selvatiche. L'accoppiamento che bisogna favorire è tra maschi sterili rilasciati dalla biofattoria e le femmine selvatiche della popolazione che

danneggiano la frutta; a tal fine il numero di maschi sterili rilasciati è almeno 10-20 volte superiore al numero di maschi selvatici presenti nella zona. Ma come riuscire a separare i maschi dalle femmine in modo massivo, rapido ed efficace?

Tre decenni fa, studi di mutagenesi indotti con radiazioni presso la FAO-IAEA (Seiberdorf, Austria) hanno portato a isolare varie mutazioni geniche nella Medfly. Tra esse, due sono risultate molto utili per separare i maschi dalle femmine in modo semplice e a stadi di sviluppo precoci: 1) un ceppo con mutazione temperatura-sensibile letale embrionale e recessiva (*tsl*/*tsl*) e 2) un ceppo con pupe color bianco (*wp*/*wp*) invece che marrone. La casuale scoperta di un ceppo eterozigote di Medfly, che porta una traslocazione sul cromosoma Y di un segmento autosomico contenente i due geni selvatici *tsl*+ e *wp*+ e sull'autosoma integro, gli alleli recessivi mutanti *tsl* e *wp* ha permesso ai genetisti della IAEA di ottenere il ceppo *Vienna 8*, in cui si possono produrre solo maschi a comando, trattando gli embrioni con shock a caldo per varie ore, dato che sopravvivono solo gli XY con il gene normale *tsl*+. Inoltre, a stadi pupali è possibile tenere sotto controllo la efficienza di letalità femmina-specifica embrionali, controllando che vi siano solo pupe di colore marrone (XY, con *wp+)* ed aggiungendo un utile *check point* della qualità del *sexing*.

A fine anni Ottanta, con l'avvento delle tecniche di DNA ricombinante applicate anche alla genetica della Drosophila fu proposta una nuova strada che prevede l'uso della biotecnologia per controllare in modo più efficace ed economico gli insetti dannosi anche potenziando alcuni aspetti della SIT che bisognava migliorare (Louis *et al.*, 1988). Vari laboratori di ricerca in USA ed Europa si sono dedicati allo studio dei pathway di sviluppo sessuale della Drosophila per pura curiosità e all'isolamento molecolare di geni della determinazione del sesso, che quando mutati cambiano il sesso in un senso o in un altro. Inoltre, furono sviluppate mosche transgeniche mediante la trasformazione genetica con elementi trasponibili – "curando" mosche con occhio bianco e ripristinandone il colore rosso e la funzionalità visiva. Si apriva quindi la possibilità di sviluppare insetti transgenici dotati di nuove caratteristiche utili al controllo di insetti selvatici (Louis *et al.*, 1988). È importante evitare il rilascio di femmine insieme ai maschi, sebbene entrambi sterilizzati, perché le femmine comunque danneggiano la frutta con l'ovopositore. Sono stati condotti senza successo tentativi di replicare questo metodo di "sexing" dei maschi basato su *tsl*/*wp* in altre specie di

Tephritidae per le quali è auspicabile applicare la SIT. La biotecnologia potrebbe risolvere questo problema (Louis *et al.*, 1988; Saccone, 2018).

Lo sviluppo di ceppi transgenici di Medfly per selezionare e rilasciare i soli maschi: approcci di biotecnologie.

Il gene è un segmento di DNA che può produrre una proteina per influenzare funzionalità specifiche della cellula, che siano ad esempio energetiche, metaboliche, strutturali e di interazione con altre cellule. Sappiamo che sia il DNA, sia le proteine sono chimicamente polimeri lineari che prendono una loro struttura tridimensionale. Le cellule si specializzano in vari tessuti ed organi. La genetica dello sviluppo si occupa di comprendere come avviene il differenziamento delle cellule che pur contenendo medesimo DNA, si comportano in modo differente esprimendo una serie di geni e proteine specifici per quel tipo cellulare. Mentre il DNA ha la famosa forma a doppia elica, le proteine possono avere strutture tra le più varie e quindi anche funzioni drasticamente differenti. Anche le mosche corteggiano, si accoppiano e il maschio feconda con spermatozoi (di tipo X o Y) le uova della femmina (di solo tipo X). Durante il corso dell'embriogenesi e poi durante la fase larvale e la metamorfosi, le cellule continuano a dividersi e moltiplicarsi ingrandendo l'individuo che prende una forma caratteristica della sua specie. Abbiamo compreso nello scorso secolo, che nei vari cromosomi sono contenuti geni "*master* " che vengono attivati precocemente durante lo sviluppo e che deviano il differenziamento verso particolari destini di specializzazione. Il primo concetto utile da introdurre è che i geni "*master*" sono a monte di una gerarchia di geni a valle che rispondono a questi primi segnali differenziativi. Il secondo concetto è il "pathway genetico" dello sviluppo, una serie di geni che in successione regolano gli uni gli altri. In modo semplicistico, un primo gene produce una proteina che va ad attivare un secondo gene che produce una seconda proteina che va attivare un terzo gene, etc. Durante lo sviluppo, vi saranno cellule nel medesimo organismo in crescita che esprimono uno specifico pathway (magari che porta alla formazione dell'occhio) e cellule che non lo eprimono. Tutto dipende se il "*master" gene* è stato attivato o meno. Ancora non è molto chiaro come inizi la differenza tra due cellule figlie, di cui solo una attiverà il gene maestro. Per la determinazione del sesso, l'inizio della differenza è invece spesso

chiaro: gli embrioni di Medfly sono di due tipi, a seconda se lo spermatozoo che ha fecondato portava un cromosoma Y oppure uno X. Gli embrioni XX ed XY partono quindi con una chiara differenza genetica, anzi cromosomica: i primi si svilupperanno in femmine ed i secondi in maschi. Ma è tutto il cromosoma Y ad essere necessario per determinare la mascolinità? Esperimenti di delezione del cromosoma Y di Medfly condotti dal Dr. Gerald Franz alla IAEA negli anni '90 hanno chiarito che basta anche una versione mini del cromosoma Y e che esiste una regione cromosomica contenente un fattore di mascolinità.

Per affrontare lo studio della determinazione del sesso nella Medfly, anche al fine un giorno di poterne manipolare il sesso e produrre maschi a comando trasformando le femmine, siamo partiti dal pathway genetico decifrato nella *D. melanogaster*, in cui il gene "master" *Sex-lethal (Sxl)* viene attivato da due copie di cromosomi X (in embrioni XX) ma rimane spento negli embrioni XY. Negli embrioni XX, *Sxl* a sua volta attiva il gene *transformer* (*tra*) che attiva le funzioni femmina-specifiche del gene *doublesex* (*dsx*), producendone una isoforma femmina-specifica. Grazie alla capacità di molecole di DNA di denaturare (separare le due eliche) e rinaturare (riappaiarsi con sequence complementari al 100% o anche meno) sono state sviluppate tecniche di ibridazione con sonde radioattive per isolare geni omologhi (simili per sequenza) usando geni di riferimento già precedentemente isolati (approccio mediante omologia). E' stato quindi possibile isolare i geni omologhi di *Drosophila* nella Medfly, quali *CcSxl*, *Cctra* e *Ccdsx* (perchè molto simili o abbastanza simili nella sequenza di DNA ed in grado di ibridare molecolarmente *in vitro*) e scoprire che il pathway genetico è conservato nel segmento modulare *Cctra*>*Ccdsx* (*Fig. 1*).

CcSxl infatti non è espresso in modo sesso-specifico come *Sxl* di Drosophila e quindi non viene spento in embrioni XY dal segnale primario mascolinizzante presente sul cromosoma Y di Medfly. Invece sia *Cctra* che *Ccdsx* producono mRNA e proteine specifiche di un solo sesso. *Cctra* produce una proteina nelle sole femmine XX a partire da stadi embrionali e *Ccdsx* produce isoforme specifiche di ciascun sesso (come in Drosophila). Più difficile è stata la strada per isolare il putativo fattore *M* dal cromosoma Y di Medfly, perchè non potevamo trovare aiuto nella Drosophila e nell'approccio di omologia evolutiva: dovevamo cercare un gene di nuovo tipo probabilmente mai descritto prima. Abbiamo dovuto attendere lo sviluppo di nuove tecnologie di sequen-

ziamento del DNA (dette *long reads*), di RNA (mRNA seq) e di approcci bioinformatici (analisi di espressione differenziale), per rispondere con dati molecolari alla domanda se vi fosse e quale fosse un mRNA presente negli embrioni XY ed assente negli embrioni XX, prodotto a partire da un gene mascolinizzante Y-linked cioè associato fisicamente al cromosoma Y (Meccariello *et al.*, 2019).

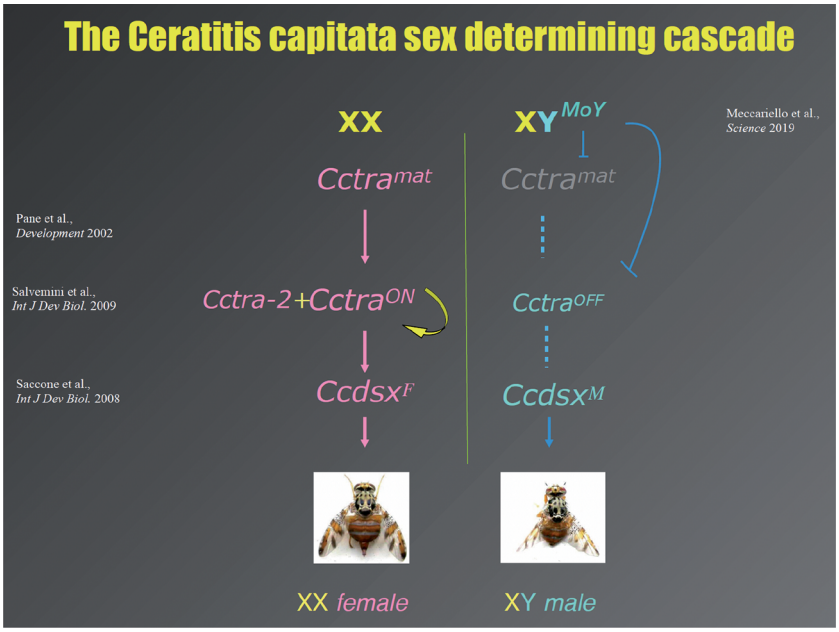


Fig. 1. La cascata genetica della determinazione del sesso in Ceratitis capitata consiste rispettivamente in un segnale femminizzante ed uno mascolinizzante. Quello femminizzante è di origine materna ed è fornito dal gene Cctra in uova che se fecondate da spermatozoi X, portano ad embrioni XX in cui Cctra viene attivato, attiva CcdsxF e si sviluppa una femmina adulta dopo circa 20 giorni. Il segnale mascolinizzante è fornito in embrioni XY dal cromosoma Y , che porta il gene MoY e che reprime il gene Cctra spegnendolo. Il gene Ccdsx esprime in tal caso la isoforma M che promuove lo sviluppo di mosche maschili. Il gene Cctra-2 svolge come in Drosophila una funzione ausiliare a quella di Cctra in femmine.

Abbiamo identificato il gene "*master*" della determinazione del sesso maschile di Medfly, rinominato gene *MoY* (*Maleness-on-the-Y*), come piccolo gene producente una piccola proteina di nuovo tipo,

mancante di similarità con i 15.000 tipi di domini proteici già conosciuti e depositati nelle banche dati NCBI (Meccariello *et al.*, 2019). *MoY* è in grado di reprimere il gene "master" della determinazione del sesso femminile *Cctra* negli embrioni XY, e indurre lo sviluppo maschile. È stato sorprendente e interessante scoprire che *MoY* è funzionalmente conservato nella mosca dell'olivo *Bactrocera oleae* e nella mosca orientale della frutta *Bactrocera dorsalis*, una specie invasiva che è stata di recente rilevata per la prima volta in Italia e in Europa (Meccariello *et al.*, 2019), ma non nel resto degli insetti i cui genomi sono stati sequenziati (e sono svariate centinaia). Ortologhi di *MoY* sono presenti sul cromosoma Y di altre 5 specie del genere *Bactrocera*, suggerendo una sua vasta conservazione evolutiva, e quindi un suo possibile uso per produrre progenie di solo sesso maschile mediante transgenesi. Non sappiamo ad oggi come funziona biochimicamente la proteina MOY nell'indurre la mascolinizzazione.

Il gene *Cctra* di Medfly in realtà ha una funzione aggiuntiva epigenetica rispetto al suo omologo di Drosophila: deve ricordare la scelta del sesso femminile durante tutto lo sviluppo e lo fa mediante un'autoregolazione positiva; pertanto ha assunto il ruolo di gene "*master*" per la determinazione del sesso femminile (Saccone, 2018). *Cctra* è utile anche come risorsa di sequenze regolative, per esprimere con transgeni, nelle sole femmine, proteine letali condizionali (Fu *et al.*, 2007). È utile anche per trasformare le femmine in maschi XX, quando *Cctra* viene spento per alcune ore durante l'embriogenesi con iniezioni di RNA a doppio filamento (RNAi), e produrre progenie di soli maschi. Ortologhi di *Cctra* sono stati isolati in tante altre specie di Tephritidae dei generi *Bactrocera* e *Anastrepha*, confermandone il ruolo chiave e l'utilità in campo biotecnologico (Saccone, 2018).

L'EDITING GENOMICO IN *CERATITIS* E NELLE ALTRE TEPHRITIDAE: STATO DELL'ARTE E POTENZIALI APPLICAZIONI NEL LORO CONTROLLO

Il sogno di ogni genetista di mutagenizzare a piacere, in modo economico e veloce, un determinato gene, e non più a caso, è stato realizzato nel 2012 con lo sviluppo della tecnica di *gene editing* CRISPR/Cas9, scoperta premiata con il Nobel per la chimica alle due scienziate J. Doudna e E. Charpentier. Da quando la CRISPR/Cas9 è stata applicata anche in *Drosophila* per mutagenizzare geni, per modifi-

carli o inserire sequence di DNA esogeno, si sono susseguiti a ritmo incalzante studi simili in altre specie di insetti appartenenti non solo ai Ditteri, ma anche agli Imenotteri, Lepidotteri e Coleotteri. Abbiamo messo a punto nei nostri laboratori, un metodo sviluppato in precedenza in *D. melanogaster*, di CRISPR/Cas9 in *Ceratitis capitata*, in *Bactrocera oleae* e *Musca domestica*, basato sull'uso di proteina Cas9 purificata in laboratorio – per renderla più economica – sulla produzione *in vitro* di sgRNA (che permettono il riconoscimento specifico del gene da colpire, sull'assemblaggio del complesso proteina-RNA (Cas9+gRNA) *in vitro* e della iniezione in embrioni di insetto, appena dopo la ovodeposizione (Saccone, 2018). Simili approcci sono stati sviluppati in varie altre specie delle Tephritidae (*Bactrocera dorsalis*, *Anastrepha* spp (Saccone, 2018). È possibile indurre in via transiente con alta efficienza mutazioni anche bialleliche (2 alleli su i 2 cromosomi omologhi, in ciascuna cellula) nelle cellule somatiche e germinali degli embrioni, dai quali si sviluppa una progenie parzialmente mutante (mosaico) che quando inincrociata, dà origine a una successiva progenie che mostra parte degli individui pienamente mutanti (omozigoti). Abbiamo applicato la CRISPR/Cas9 contro il gene *Cctra* e il gene *MoY* e abbiamo potuto osservare nel primo caso completa trasformazione sessuale di femmine in maschi fertili XX e di maschi in femmine XY con ridotta fertilità. Inoltre, possiamo mascolinizzare gli embrioni XX iniettando DNA del gene *MoY* o proteina MOY purificata. Abbiamo quindi nuovi modi di produrre progenie esclusivamente maschile in Medfly e in specie correlate. Un'alternativa alla microiniezione di proteina Cas9-sgRNA, disponibile già in Drosophila, nel baco da seta *Bombyx mori*, e in varie specie di zanzare (*Anopheles* e *Aedes*), è la produzione di ceppi transgenici che esprimono in modo endogeno la proteina Cas9 e il gRNA gene-specifico, necessari per l'evento di gene editing. In questi ceppi transgenici è possibile anche indurre mediante eventi di ricombinazione omologa, una duplicazione della singola copia del transgene presente su un solo cromosoma, sul sito corrispondente del cromosoma omologo. Un insetto che riceve una sola copia del costrutto transgenico, durante il suo sviluppo e nelle sue cellule germinali, lo duplica, divenendo in pratica un omozigote. Si assiste così a una cosiddetta ereditarietà super-mendeliana anche detta "*gene drive*", che permette di trasmettere il costrutto genico artificiale e aumentarne la sua frequenza in poche generazioni in popolazioni che simulano quelle selvatiche. Se il costrutto transgenico "*gene drive*" viene progettato così

da avere anche la caratteristica di indurre una trasformazione delle femmine in maschi (ad esempio, usando un gene mascolinizzante, quale ad esempio *MoY* oppure un transgene che inattiva *Cctra,* mediante RNAi *o Cas9*), dopo poche generazioni si assiste al collasso delle popolazioni bersaglio.

Attualmente la sperimentazione del "*gene drive*" avviene solo in laboratori che rispettano livelli di sicurezza elevata per evitare la diffusione nell'ambiente di insetti transgenici, con lo scopo di capire se e quando il "*gene drive*" si fermerà nell'avanzare in ogni generazione nelle popolazioni selvatiche, e se vi siano rischi ecologici. Queste sperimentazioni mirano anche a superare problemi di resistenza al "*gene drive*" che potrebbe presentarsi dopo poche generazioni, limitandone l'efficacia. Combattere specie aliene di insetti dannosi con questo sistema, una volta assenti in specifiche regioni geografiche, potrebbe essere più accettabile per la società in un prossimo futuro, anche dopo che la sperimentazione avrà fornito dati rassicuranti su eventuali rischi. Intanto, sono già anni che in Brasile vengono rilasciate zanzare *Aedes aegypti* transgeniche, ma sterili, per combattere la diffusione del virus Zika. Il ceppo transgenico permette di separare facilmente i maschi dall'allevamento in biofattoria, risolvendo il problema delle femmine che, seppure sterili comunque andrebbero incontro al pasto di sangue, veicolando potenzialmente il patogeno. Questa sperimentazione in campo in Brasile potrebbe essere la base per dimostrare alla società i benefici dell'uso di insetti OGM e possibilmente far accettare in futuro nuove soluzioni ancora più efficaci come quelle promesse dalla tecnologia di "*gene drive*".

Una maggiore conoscenza scientifica, un'evoluzione nella politica e nella legislazione e attente valutazioni rischi-benefici saranno elementi vitali per rendere possibile una discussione costruttiva verso questa direzione di controllo biologico di insetti nocivi.

REFERENZE

Fu G., Condon K.C., Epton M.J., Gong P., Jin L., Condon G.C., Morrison N.I., Dafa'alla T.H., Alphey L. (2007): *Female-specific insect lethality engineered using alternative splicing*, «Nat Biotechnol.», Mar, 25 (3), pp. 353-357. Epub Feb 18.

Klassen W. and Curtis C.F. (2005): *History of the Sterile Insect Technique*, in *Sterile Insect Technique, Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*, Dyck V.A., Hendrichs J., Robinson A.S. (Eds.), Springer, pp. 3-36, ISBN 978-1-4020- 4051-1.

Louis C., Savakis C., Kafatos F.C. (1988): *Possibilities for genetic engineering in insects of economic interest*, in *Modern Insect Control: Nuclear Techniques and Biotechnology*, International Atomic Energy Agency, ISBN 92-0-010388-X.

Meccariello A., Salvemini M., Primo P., Hall B., Koskinioti P., Dalíková M., Gravina A., Gucciardino M.A., Forlenza F., Gregoriou M.E., Ippolito D., Monti S.M., Petrella V., Perrotta M.M., Schmeing S., Ruggiero A., Scolari F., Giordano E., Tsoumani K.T., Marec F., Windbichler N., Nagaraju J., Arunkumar K., Bourtzis K., Mathiopoulos K.D., Ragoussis J., Vitagliano L., Tu Z., Papathanos P.A., Robinson M.D. and Saccone G. (2019): *Maleness-on-the-Y* (*MoY*) *orchestrates male sex determination in major agricultural fruit fly pests*. Science 27 Sep 2019, DOI: 10.1126/science.aax1318.

Saccone G. (2018): *Sex Determination and Gene Editing in Tephritids: Converging on Innovative Biocontrol Strategie*, «Atti Accademia Nazionale. Italiana di Entomologia», LXVI.

ROBERT GROSSETESTE: A MEDIEVAL THINKER WITH A LEGACY FOR MODERN SCIENCE

BRIAN K. TANNER (*)

Nota presentata dal m.e. Carlo E. Bottani
(Adunanza del 20 maggio 2021)

SUNTO. – Roberto Grossatesta (circa 1170-1253) fu uno dei primi studiosi a incorporare le idee di Aristotele, appena riscoperte, nella filosofia naturale medievale. In una serie di brevi trattati scientifici scritti tra il 1215 e il 1230 circa, si concentrò sulla spiegazione del perché, piuttosto che del come, il mondo naturale si comporti in un dato modo. Adottò un principio di riduzione per cui i fenomeni complessi possono essere compresi in termini di un comportamento sottostante più semplice che può essere verificato dall'osservazione. Ad esempio, spiegò le caratteristiche dell'arcobaleno in termini di ottica, che a sua volta può essere spiegata dalla geometria. La teoria del "Big Bang" di Grossatesta sulla formazione dell'universo, basata sull'espansione della luce da un punto, si fonda sulla necessità di spiegare la stabilità della materia solida. Sebbene i manoscritti sopravvissuti non contengano quasi nessun diagramma, è evidente che egli pensò sia matematicamente sia pittoricamente nello sviluppo di un modello unificato dei fenomeni naturali. In una collaborazione interdisciplinare unica tra storici, filosofi, paleografi, linguisti, artisti e scienziati (www.ordered-universe.com) abbiamo dimostrato come un esame dettagliato della scienza di Grossatesta possa stimolare sia la nuova ricerca scientifica contemporanea sia la creatività artistica.

***

ABSTRACT. – Robert Grosseteste (ca. 1170-1253) was one of the first scholars to embed the newly rediscovered ideas of Aristotle into medieval natural philosophy. In a series of short scientific treatises written between about 1215 and 1230 he focused on explaining why, rather than how, the natural world behaves as it does. He adopted a principle of subalternation in which complex phenomena could be understood in terms of simpler under-

(*) Department of Physics, Durham University, Durham, UK.
E-mail: b.k.tanner@durham.ac.uk

lying behaviour that could be tested by observation. For example, he explained the features of the rainbow in terms of optics, which in turn could be explained by geometry. Grosseteste's "Big Bang" theory of the formation of the universe, based on the expansion of light from a point, is founded on the need to explain the stability of solid matter. Although surviving manuscripts do contain almost no diagrams, it is evident that he thought both mathematically and pictorially in developing a unified model of natural phenomena. In a unique interdisciplinary collaboration between historians, philosophers, palaeographers, linguists, artists and scientists (www.ordered-universe.com) we have shown how detailed examination of Grosseteste's science can stimulate both new contemporary scientific research and artistic creativity.

1. Introduction

The thirteenth-century polymath, Robert Grosseteste, was born probably around 1170 in the County of Suffolk in the East of England. While the village of Stradbroke does claim to be his birthplace, there is no contemporary evidence for this claim. This is even the case for attribution of his birthplace to Suffolk, it being based on the writing, between 1314 and 1320, of the historian Nicholas Trevet. Of his early life, little is known, though he may well have been educated in the cathedral school at Lincoln. The first firm evidence of his whereabouts is in the last half of the 1190s when he held a position at the court of William de Vere, the Bishop of Hereford. He evidently had considerable talent in the liberal arts, law and medicine, as emphasized in a glowing letter of commendation written to Bishop William by Gerald of Wales in 1195 [1]. From 1198, William de Vere's household being dissolved on his death, evidence of Grosseteste's location is sparse, although it can be said with some confidence that between 1198 and 1225 he spent time not only in Hereford, but also in France and probably in Paris [2]. Even in 1225, when he was appointed Rector of Abbotsley, near Cambridge, his whereabouts are a matter of debate and it is not until 1229, when he was appointed Lector to the Franciscan community, that he can be firmly placed in Oxford. Despite him being appointed to his first ecclesiastical position quite late in life, his subsequent rise within the Church was rapid. In 1231, he was appointed Archdeacon of Leicester and in 1235 Bishop of Lincoln, which was the largest diocese in the England at the time. Until his death in 1253, he was an energetic and reforming bishop, in dispute with his own Cathedral Chapter and, famously, the Papacy over matters of Church adminis-

tration. He is buried in Lincoln Cathedral and several attempts at canonization during the Middle Ages all failed.

Between about 1220 and 1230, Grosseteste wrote some dozen short works on natural philosophy. These reveal a familiarity with and development of Aristotle's works in the same area, which by this stage were circulating widely in northern Europe in Latin translation, many since the 1150s at least. The great majority of Grosseteste's writings on natural philosophy are infused with the thought of Aristotle. A compilation of the probability of Grosseteste citing Aristotle either by name or as The Philosopher reveals, at first sight, an increase with time (*Fig. 1a*) over the period of his scientific writing. However, these data must be viewed with considerable caution as they reflect multiple influences and factors.

The first problem is associated with the difficulty of determining the chronology of Grosseteste's works and arises directly from the relative lack of information about his activities prior to 1229. As is also the case with other medieval scholars, dating relies heavily on textual analysis. A consequence has been wide disparities between scholars as to the dates of specific works and, for example, various writers have suggested dates for the treatise on light, *De luce,* as far apart as 1215 and 1240 [3]. The analysis in *Fig. 1* is based on Cecilia Panti's chronology of the works that she regards as authentic [4] and although it is presently regarded as the most probable sequence, it is by no means fully established. The authenticity of certain works is also in dispute. The second issue relates to the fact that in a number of works, such as the treatises *De generatione sonorum* (On the Generation of Sounds) and *De cometis* (On Comets), Grosseteste makes reference to Aristotelian concepts without specific citation [5, 6]. While use of concepts without citation was common practice, inclusion of these works into the data plotted in the graph of *Fig. 1a* would significantly flatten its shape. While there is no firm evidence that the omission in *De generatione sonorum* or *De cometis* is associated with the ban on the works of Aristotle in University of Paris in the thirteenth century, there is evidence [5] that *De cometis* may have been written in Paris around 1222, after the appearance of Halley's comet in that year. As there is also evidence that Grosseteste some spent time in France, and probably in Paris, during the period in his life when the treatises were written, circumspection in acknowledging the source might be understandable if the works in question were written or circulated in Paris.

Finally, attempts to trace the development of Grosseteste's thought are complicated by his steady change in citation practice over

time (*Fig. 1b*). This could reflect a different engagement with the text and a different level of access to his sources, for example, use of a personal copy for sustained reading. It could also indicate a change in audience, such as a greater emphasis on teaching. While the distribution of citations across the later works is not uniform, there is a dramatic change in practice between the periods 1210-1220 and 1220-1230. In these later works, not only is the source author named, but also specific works are cited. The reason for this change in approach is not evident, but in the increased frequency of citations there is a greater probability of specific citation of Aristotle in the later works.

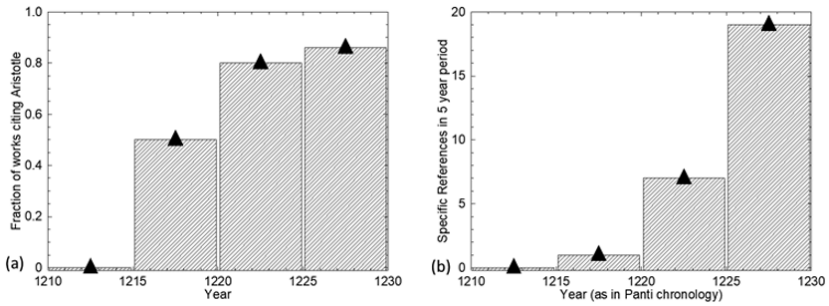


Fig. 1. (a) Fraction of Grosseteste's scientific works specifically citing Aristotle as a function of time. (b) Total number of specific references to any author as a function of time. Both plots are in 5-year data bins.

2. Experience or Experiment

There is no doubt that Grosseteste was familiar not only with the physics of reflection of light from polished surfaces, but also the refraction of light at interfaces between media of different refractive index. This is evident in the first part of the treatise *De iride* (On the Rainbow) where he states that:

> 'The first part [of optics] is fulfilled in the science we say deals with sight; the second in that which we call 'on mirrors'; the third part has remained untouched and unknown among us until the present time. Nonetheless, we know that Aristotle brought this third part to completion, which is much more difficult than the other parts on account of its intricacy, and which, on account of the profundity of natures [concerned] stands out as much more worthy of wonder.' [7,8]

The implication of Grosseteste's statement is that the studies of reflection (catoptrics), presumably of (Pseudo-)Euclid and/or Ptolemy, were known in northern Europe at the time but that the principles of refraction (dioptrics) were not so clearly established. It is not clear what were Grosseteste's sources on dioptrics; his only specific reference to refraction is to the experiment of the object in the cup of water (*Fig. 2*) which, somewhat bizarrely, is posited as a principle in the book *De speculis* (On Mirrors) of pseudo-Euclid, the book being otherwise entirely concerned with catoptrics.

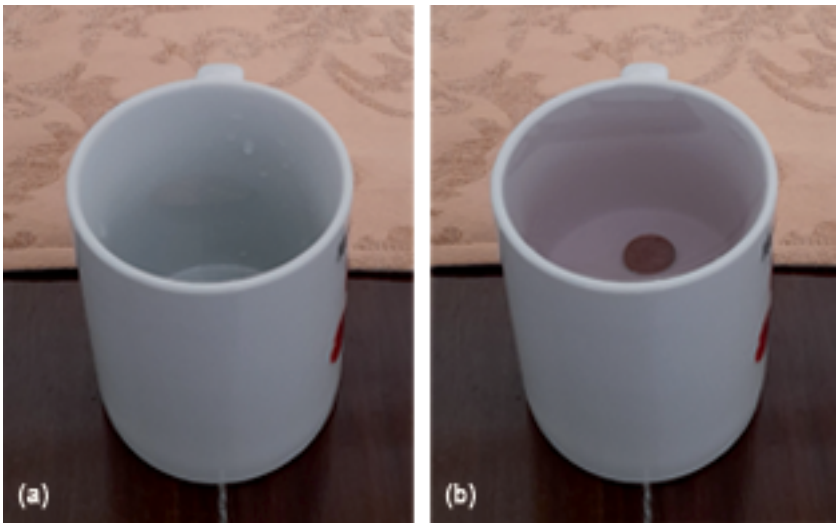


Fig. 2. The 'object in cup' experiment described by Grosseteste. (a) With no water in the cup, the coin, (as the object is described in one manuscript), is invisible at the chosen angle of sight while (b) it becomes visible, at the exact same angle of sight, when water is poured into the vessel.

While the reference to *De speculis* does not reveal whether Grosseteste actually carried out such an experiment himself, there are several instances where he encourages his readers to experiment for themselves. In the treatise *De natura locorum* (On the Nature of Places), during discussion of the focusing of light rays through refraction at the interfaces of a full, round glass body, Grosseteste comments that refraction can be beautifully observed in an example that will be familiar to his readers. He asserts that anyone can verify that, if a urine flask is held in the light from the sun, the rays run together to a point where something

easily flammable can be set on fire. This direct appeal to action is echoed in the treatise *De impressionibus elementorum* (On the Impression of the Elements). Here, in describing the properties of bubbles, he explicitly explains how to undertake the experiment (*Fig. 3*) that he envisages.

> '… some [bubbles] remain in the water, and some ascend above the water. Let us first, then, talk about those that ascend. If anyone should like to see this with his own eyes, let him put clear water in a clear bronze dish, and he will clearly see ascending bubbles being generated by the heat of a fire placed underneath the dish.' [9]

These appeals to experience, although providing important lessons for the teaching of physics today [10], cannot be described as controlled experiments in the modern sense. Grosseteste was, seemingly, an acute observer and interpreter of natural phenomena even though A. C. Crombie's original claims concerning the extent of such contributions to the structure and methods of modern experimental science were subsequently substantially softened by the author in the second edition of his book on Grosseteste's scientific works and their legacy [11].

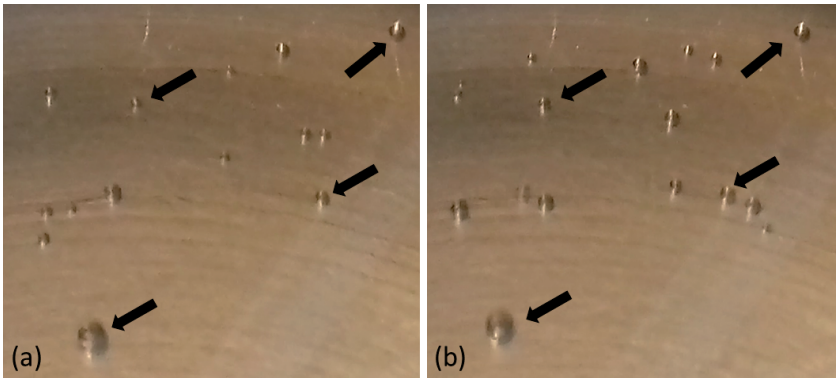


Fig. 3. A modern realization of the experiment described by Grosseteste. Adjacent frames from a video of bubbles in a polished pan of boiling water showing examples of bubbles that do not ascend to the surface.

It is in his treatment of refraction at interfaces that doubts as to the extent of his experimental approach become evident. Grosseteste had assimilated the concept of light travelling in straight lines into his thinking and he accurately discusses in the first part of *De iride* how light is refracted abruptly at an interface between different transparent

media. He correctly explains the optics of the coin-in-cup demonstration (*Fig. 1*) in terms of the change in the position of the virtual image [12]. The conclusions are reached logically, predicated on the premise that light travels in straight lines, and they are not the interpretation of quantitative measurements. Indeed, if Grosseteste had undertaken such measurements, it is doubtful that he would have put forward his assertion that the angle of refraction is half the angle of incidence with respect to the normal to the interface. He states in *De iride*:

> 'I say, then, that the entry of the ray into this second diaphanous [medium] is according to the path of a line dividing into equal parts the angle enclosed by the ray, conceived as extending continuously and straight, and the line extended, at a right angle over the surface of the second diaphanous [medium] at the point at which the ray meets the diaphanous [medium], and into its depths. Furthermore, experiences similar to those through which we learn that the reflection of a ray over a mirror is at an angle equal to the angle of incidence show us that the size of the ray's angle of refraction is determined in this way. This same fact is made manifest to us by that principle of natural philosophy, "that every operation of nature is in the most complete, most ordered, shortest, and best way possible for it." ' [7,8]

The argument that nature's operations are the most ordered and the shortest, while foreshadowing William of Ockham's later principle, leads here to a wrong conclusion, as does the appeal to the similarity with the equal angles of incidence and reflection from a mirror. Grosseteste does not appear to have known the work on optics of Ibn al-Haytham (d. c. 1041 CE), which was to have considerable influence on European optics from the late thirteenth century. It had been translated into Latin in the late twelfth or early thirteenth century but its early circulation remains unclear. [13]. If Grosseteste had done so, it is likely that he would have appreciated Ibn al-Haytham's comment that

> ' … the angles of refraction do not maintain the same ratio with the angles [of incidence] that the first line forms with the normal: rather these ratios vary in the same transparent body.' ([14] p 251).

Although Ibn al-Haytham did not give values for the angle of refraction as a function of the angles of incidence, he did formulate seven general rules [15] for the variation and gave detailed instructions on how to fabricate the apparatus and use it to measure the pairs of

angles systematically under controlled conditions. These instructions are based on the briefer instructions found in Ptolemy's fifth book of his On Optics, written some time in the second century CE. Unlike Ibn al-Haytham, Ptolemy does give the measured angles of incidence and refraction, in tabular form, for transmission of light from air to water, air to glass, and water to glass [16]. Further, unlike Ibn al-Haytham and subsequently Witelo around 1270, Ptolemy does not discuss refraction from a denser to a less dense medium and neither does he indicate that such measurements were even attempted. While there are grounds for doubting whether either Ibn al-Haytham [15] or Witelo [12] actually performed all the refraction measurements described, Ptolemy's data do match very well those that a modern experimenter can obtain and, with one exception, lie close to the curve predicted by Snell's Law[1] (*Fig. 4a*).

It is extremely unlikely that Grosseteste had access to Ptolemy's On Optics as it survived only in a single manuscript in Latin from the mid-twelfth century, associated with Eugenius of Sicily, translated from Arabic, itself translated, presumably, from the Greek original [16]. In the context, Grosseteste's postulate that the angle of refraction is half the angle of incidence is not at all unreasonable. This proves to be even more nearly a sound approximation if one examines the variation of incidence and refraction angles for glass of composition available in medieval Europe (*Fig. 4a*). Classical glasses were manufactured using a flux of natron, a naturally occurring mixture of sodium carbonate decahydrate and sodium bicarbonate found in Lower Egypt, resulting in high sodium content glass [17] of refractive index typically about 1.49 [12]. The natron deposits became exhausted in the ninth century CE and use of plant ash as the flux became more common as the medieval period progressed. The composition of a thirteenth-century clear glass from Sienna Cathedral corresponds to a refractive index of 1.52 [12]. Inspection of *Fig. 4b* reveals that the deviation from Grosseteste's 'half-angle' law is less than 5° across the whole angular range for both types of glass. On the other hand, only for angles of incidence nearly perpendicular to the interface does this criterion hold for transmission of light

[1] Snell's Law of Refraction states that, with respect to the surface normal, the angle of incidence i is related to the angle of refraction r by $\sin i / \sin r = n$, where n is a constant called the refractive index.

from air to water. One can be totally confident that Grosseteste did not test his hypothesis against quantitative experiments.

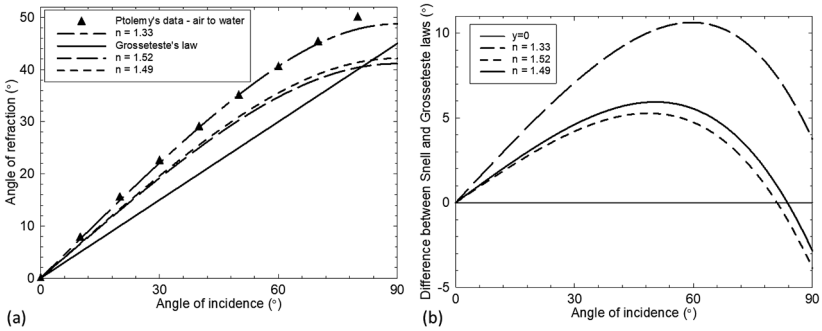


Fig. 4. (a) Comparison between angles of incidence and refraction according to Snell's law and Grosseteste's law of refraction. The curves for n = 1.49 and 1.52 represent the typical limits for air to medieval glasses, while the n = 1.33 curve represents refraction from air to water. Triangles are the data points given in Ptolemy's Optics. (b) Deviation of Grosseteste's law from Snell's law for air to water and glass.

On the other hand, Grosseteste could possibly have applied his knowledge of optics to the magnification of objects and also visualization of objects at a distance, that is, telescopic observation. He states in *De iride*:

> 'For if known perfectly, this part of optics shows us the way in which we may make things very far away appear as though placed very close by, and in which we may make large things placed close by appear very small, and in which we may make small things placed far away appear as large as we please, so that it becomes possible for us to read very small letters at an incredible distance, or count [grains of] sand, or seeds, or [blades of] grass, or whatever you might want.'

and

> ' It is also evident to these same [who know optics perfectly] how to shape diaphanous [objects] so that these diaphanous [objects] will receive the rays emitted from the eye according to an angle, made in the eye, of whatever size they want' [18].

There is debate as to whether lenses were in use in the high medieval period and if so to the extent of their use, but it can be

demonstrated that all the effects described by Grosseteste can be obtained with a single lens [18]. This includes single-lens telescopic observation without recourse to the twin-lens spy-glass that appeared only in the early seventeenth century. Roger Bacon (1214-1292), in the Sixth Part of his *Opus Majus*, which was sent to the Pope in 1267, described how use of the smaller part of a glass sphere enabled those with weak eyes to see magnified letters.

> 'If a man looks at letters or other small objects through the medium of a crystal or of glass or of some other transparent body placed above the letters, and it is the smaller part of a sphere whose convexity is toward the eye, and the eye is in the air, he will see the letters much better and they will appear larger to him. … Therefore this instrument is useful to the aged and those with weak eyes. For they can see a letter, no matter how small, sufficiently enlarged' ([19] p 574.)

Bearing in mind that Bacon copied parts of Grosseteste's work for his own purposes without attribution, it is not beyond the realms of possibility that the optical devices referred to by Grosseteste were plano-convex lenses such as described by Bacon. Use of lenses in the thirteenth century is difficult to prove, though by the first few years of the fourteenth century there are references to *vitreos ab oculis ad legendum* [20].

Invention of a device for magnification of text, referred to as a 'reading stone', has been accredited to the Islamic scholar and innovator, Abbas ibn Firnas (c. 809/810 – 887 CE) although this ascription is open to interpretation. A reading stone produced using a glass-blowing pipe such as would have been available in the thirteenth century is shown in *Fig. 5a*. A cylinder of glass 76 mm in diameter, with an approximately hemispherical end, was blown in 2018 by Colin Rennie at the National Glass Centre, Sunderland, U.K. After allowing the cylinder to cool, its end was cut and polished to form a flat surface perpendicular to the cylinder axis, at a distance 50 mm from the end. While the reconstruction was cut with a diamond saw and polished with proprietary grit, such a surface could have been produced more slowly with a wire saw and sand. The remaining cylindrical section determines the minimum distance that the curved surface can be located with respect to the object, for example letters and characters on a page of writing (*Fig. 5b*). In other respects, the magnifying optics of the curved part of the reading stone are equivalent to those of the smaller part of the sphere that Bacon described. As the radius of curvature of the section of the hemisphere was measured to be

40 mm, ray tracing indicated that making the cut at the distance of 50 mm would result in a magnification of just under two. This proved to be the case experimentally (*Fig. 5b*).

Whatever the interpretation of Grosseteste's reference to the shaping of diaphanous objects, the quotation above from *De iride* indicates that he understood that the magnification of an object is determined by the angle which rays make at the eye. Elsewhere in the treatise he states that it is the narrowness of the angle at which an object is seen that makes it invisible, not the distance [12].



Fig. 5. Modern reconstruction, for the author, of a medieval reading stone by Colin Rennie, University of Sunderland. (a) Glass cylinder with end section which is a part of a hemisphere. (b) Magnification of text when the reading stone is slid over the page.

3. Subalternation

3.1 De iride (On the Rainbow)

An important feature of Grosseteste's scientific thinking is his adoption of Aristotle's principle of subalternation. Aristotle, and Grosseteste after him, was concerned with understanding the reasons why phenomena occurred (science *propter quid*), not just how phenomena happened (science *quia*) [11]. Grosseteste, in understanding the formation of the rainbow, states that the knowledge of the mechanisms producing the rainbow is to be found in the science of optics, which itself is explained by geometrical figures pertaining to sight. The science of the rainbow is subalternated to optics, which itself is subalternated to geometry. Therefore, says Grosseteste at the beginning of *De iride,* although inquiry into the mechanism by which the rainbow is formed falls within the remit of both the student of optics and the student of physics, the stu-

dent of physics wishes to know that various things happen, while the student of optics is concerned with understanding why these things occur. Although unspoken, such a strategy results in breaking down a complex problem into explanation of simpler phenomena which can be observed and tested. The formation of the rainbow is explained by studying how light is refracted at interfaces between the air, the cloud and the collection of droplets falling from it. The behaviour of light refracted at interfaces is understood through the science of dioptrics.

Although, as seen in section 2, Grosseteste's axiom that the angle of refraction is half the angle of incidence does not stand up to detailed experimental scrutiny, nevertheless, his grasp of the science of optics was sufficient to postulate a plausible and testable mechanism for the formation of the rainbow based on refraction, a major step forward in its understanding. In his model, the cloud and drops of rain falling from it is in the form of an inverted cone with a curved base. Sunlight initially refracted at the interface between the air and the cloud, is further refracted at the interface between the cloud and droplets. Grosseteste then proposes that the light is focused within the cone and its refraction at the air-droplet interfaces spreads the light out onto a conical surface, the light rays having the shape of an arch. The concentrating of the light enables him to explain the rainbow colours in terms of his theory of colour based on combinations of three sets of opposite qualities, developed within the short treatise *De colore* (On Colour) [21]. Two of the pairs of qualities, bright-dim (*clara-obscura)* and copious-scarce (*multa-pauca*), are of the light itself while the third, pure-impure (*purum-impurum*), is determined by the material through which the light shines. The colour extreme of white comprises *clara, multa* and *purum* qualities, while that of black is *pauca*, *obscura* and *impurum*. Using a combinatorial approach, Grosseteste argues that there are thus 7 (i.e. 2^3-1) colours close to white and 7 colours close to black and no more [22]. In *De colore,* Grosseteste explicitly states that *multa* does not relate to a large amount of diffuse light, but that it is equivalent to the concentration of light through focusing by a concave mirror [20]. Focusing of light in the inverted cone of falling raindrops therefore influences the colour of the light in different parts of the rainbow.

The model was criticized by Roger Bacon. Amongst his arguments against the rainbow resulting from refraction is that refraction in a cone will not generate a figure corresponding to the surface of a cone [19]. While it is tempting to agree with Bacon, experience of

Grosseteste's writing suggests that the introduction of the inverted cone and its generation of the arch of coloured light as on a conical surface was deliberate and may have been based on an underlying observation. A chance observation by the present author of colouration in a caustic formed by ceiling lights at the base of a conical wine glass filled with water (*Fig. 6*) led to an experimental and ray-tracing investigation into the generation of caustics in liquid-filled conical vessels.

Both experimentally and computationally, it was found that under certain illumination angles, white light entering the top surface of the conical vessel was refracted into a curved, coloured caustic resembling a rainbow [23]. Because of the low symmetry of refraction through a conical object, the optics had not been explored in detail before this work. The results do provide an example of where new science was stimulated by the study of the medieval texts, suggesting that Southern's sweeping assertion that the study of medieval science 'is a historical experience, and scarcely an avenue to scientific or theological truth' ([24 p lxvi]) may deserve a little nuancing.

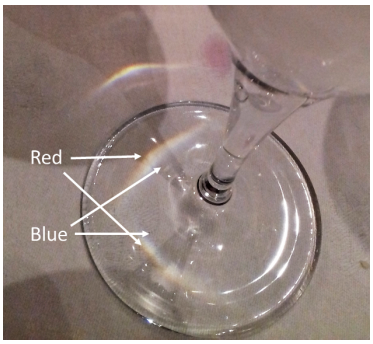


Fig. 6. Coloured caustics from two halogen ceiling lights formed at the base of a conical wine glass full of water at a dinner table in January 2017. Such an observation is fully in the spirit of perception through common experience, evidenced by Grosseteste's texts.

3.2 De luce (On Light)

Perhaps the most well-known of Grosseteste's scientific writings is his late treatise *De luce* (On Light) [25,26]. Probably written about 1225, and perhaps almost contemporaneously with *De colore*, it contains the bold assertion that light (*lux*) is the first corporeal form and

that it multiplies itself infinitely, expanding instantaneously from a point into a sphere. Not only is light the first corporeal form, but it is light that gives extension and dimension to all matter. This dimensionality arises despite neither corporeal form (corporeity) nor matter themselves having any dimension and is achieved because of the ability of light to multiply itself instantaneously an infinite number of times.

The leap of thought made by Grosseteste is to move from consideration of the stability of immediately observable solids to a model for the formation of the entire universe. Critical to his thought is that, because light is the first corporeal form and because form and matter are inseparable, by its expansion into all directions, light introduces the three dimensions into matter. In the beginning, light extended matter, pulling it out into a sphere the size of the material universe. This issue of the beginning of the universe will have been important to Grosseteste in that, as a Christian cleric, the Biblical account of creation will have been paramount. On the other hand, within the Aristotelian framework which he had espoused, there was no beginning and no end to the universe; it extended infinitely in time. There is no hint in the *De Luce* as to whether or not Grosseteste set up the model to attempt to reconcile Aristotelian and Christian cosmogenesis or whether he simply wanted to explore within the Aristotelian framework the consequences of his hypothesis that light is the first form. What he does succeed in doing is to provide an elegant and logical mechanism for the formation of the universe in Aristotle's scheme of nested spheres with the Earth at the centre. It is even more striking that this is an initially expanding universe. The result is a strikingly original approach to explaining the structure of the heavens and the Earth, based on a central concept of light. To a modern scientist, careful reading of the clearly laid out text suggests that it can be interpreted as being based on a single set of physical laws, which are unitary across the universe.

Grosseteste recognized that as light instantaneously drags matter outwards, the density must decrease as the radius increases if the amount of matter within the sphere of light remains conserved. As a vacuum is impossible within Aristotle's structure, Grosseteste postulated that there must be a minimum density, (or maximum rarefaction), beyond which matter cannot be further rarefied. At this radius, there is what we might now refer to as a phase change of the coupled light and matter into a state of perfection within which no further

change is permissible. This is the outermost sphere of the universe. At this point, because light must continue multiplying itself, he asserts that this most rarified of bodies, consisting only of first form (*lux*) and first matter, itself emits light of a different kind (*lumen*) towards the centre of the sphere contained within the perfected first shell. Because the *lumen* is coupled and intrinsic to matter, it sweeps up and compresses the matter inside the sphere as it propagates inwards. As there is no creation of new matter, that in the outer region is rarefied. At a certain critical ratio of lumen to matter, the matter becomes perfected and can no longer undergo change. This generates the second of the celestial spheres, that of the fixed stars. *Lumen* is emitted from this newly perfected sphere, and again compresses matter until the further rarefaction and compression results in a third perfected sphere. Below the ninth sphere, that of the moon, the *lumen* is not sufficient to perfect the material of the elements (fire, air, water, earth) and these thus do not allow natural circular motion, which pertains only to perfect bodies, but just natural radial motion. They also permit decay and violent motion.

Despite containing no mathematical symbols, the text of *De luce* is nevertheless carefully structured in a mathematically logical sequence. This provided the intriguing possibility not just of translating from the edited Latin text into modern English, but of translating the English text into the language of mathematics. Having achieved that, it proved possible, though not without some unexpected computational challenges, to calculate numerically the structures predicted within Grosseteste's text [27]. It was necessary to assume an inverse power law distribution of initial density in the model universe, as the text does not describe the initial expansion process in any detail, but conservation of matter results in the standard continuity equation and the inward propagation of lumen is described by a differential propagation equation with terms for the geometric concentration of light in a spherical geometry, the absorption of light as it passes through matter and the generation of *lumen* by perfected matter [28]. The mathematical terms in the equations are faithful to the words in the text. For example, in Grosseteste's discussion of diurnal motion, he argues that the lower spheres are lower in purity and therefore they receive diurnal motion in a weakened state because the first corporeal light in them is weaker. As the text makes it clear that perfected matter is the source of lumen, the term in the propagation equation governing the change in intensity of

lumen is set proportional to the density of perfected matter. There is some ambiguity in the text as to the conditions for perfection of the inner spheres, but it can be interpreted as equivalent to *lumen* being necessarily in multiples of the intensity of *lux*, and that a critical ratio of matter to intensity was required for perfection.

The remarkable result was that such a scheme did produce a sequence of concentric perfected spheres in the manner that Grosseteste described. Without opacity of the perfected spheres, the number of spheres generated did not converge and by continued running of the calculation any number of spheres could be generated. This was corrected by assuming that *lumen* is absorbed by the already perfected spheres and then, with different combinations of lumen generation and absorption in both perfected and unperfected matter, various numbers of spheres could be generated.

The nine perfected and one imperfect sphere, the latter comprising four sub-spheres of fire, air, water, and earth, required in the Aristotelian scheme was justified by Grosseteste though a geometric argument based on the perfection of the number ten, that is, nine plus one. This last part of *De luce* has received criticism, for example, from Southern, who stated that 'it must also be observed that, like much else that he [Grosseteste] wrote, it tails away into a rather chaotic and unintelligible sequel in its final paragraphs' [24]. However, despite changing his approach, Grosseteste's argument is no less taut and lucid than in the earlier part of the treatise. He starts by using ideas associated with the Arabic scholar Abu Ma'shar al-Balkhi (whose Latin name is Albumasar) and Daniel of Morley, stating that

> 'in the highest body – which is the most simple of bodies – we can find four things; namely, form, matter, composition, and the composite' [27].

Form is assigned to the number one, matter to the number two, composition to the number three and composite to the number four, each with a corresponding number of qualities. The sum of these numbers is ten, which is argued to be the perfect number of the universe. If they ever existed, no diagrams survive in any of the extant manuscripts, all of which are later copies of Grosseteste's original work. Nevertheless, it has been suggested that Grosseteste was thinking geometrically when reaching this conclusion [29]. As illustrated in *Fig. 7*,

placement of circles in contact with one another results in a pyramid having important geometrical symmetries. There is evidence for this form of thought in a somewhat later work, from about 1235, the commentary of the first six days of Creation known as the *Hexaemeron*. There, in Book 9, chapter 1, paragraph 2, Grosseteste writes:

> 'The perfection of the world follows from the perfection of the number six as an effect from its cause. One should consider, moreover, that taking the number six step by step according to its parts it builds up a triangle, fixing one at the vertex, then two arranged in a line, and then three arranged in a line equidistant to the two, drawn in such a way that from the one first placed in a perpendicular line can be drawn down to the middle unit of the three. Thus, according to Augustine, the construction of this world arises in a similar laying down of a triangle. On the first day, as if in the first and highest place, light was made, like the first unit. In the two following days the firmament and the earth was made, like the two-unit line put after the unit. On the three following days the adornments of the fabric of the world were made, and ordered in a three-unit line, since on the fourth day the heaven was adorned with stars, on the fifth day the liquid element, i.e. air and water, were adorned with fish and birds (though both were brought forth from the water) and on the sixth day the earth was adorned with the earthly animals that rose from the earth.' ([30] pp. 269-270).

The construction described in the second sentence of this quotation is illustrated in *Fig. 7a* where the perfection of the number six is demonstrated by the three-fold rotation symmetry and three-fold mirror symmetry of the arrangement of circles. *Fig. 7b* sets out geometrically Grosseteste's laying out of the features associated with the first six days of creation in the manner described in the *Hexaemeron* text. In setting out to establish the importance and perfection of the number six, there can be little doubt that he was imagining perfection of ideas as being associated with the perfection of geometrical symmetry. There is no hint as to whether or not the three-fold symmetry appealed through its theological association with the Trinity.

Fig. 7c illustrates how the qualities of form, matter, composition, and the composite can be arranged in a similar triangular fashion. Such a triangle is simply an extension by another row of the touching circles of *Fig. 7a*, and as seen in *Fig. 7d*, it has equivalent symmetry. The geometrical perfection of these arrangements is mapped onto the perfec-

tion of the numbers ten and six, a perfectly constructed Universe created in a perfect number of days.

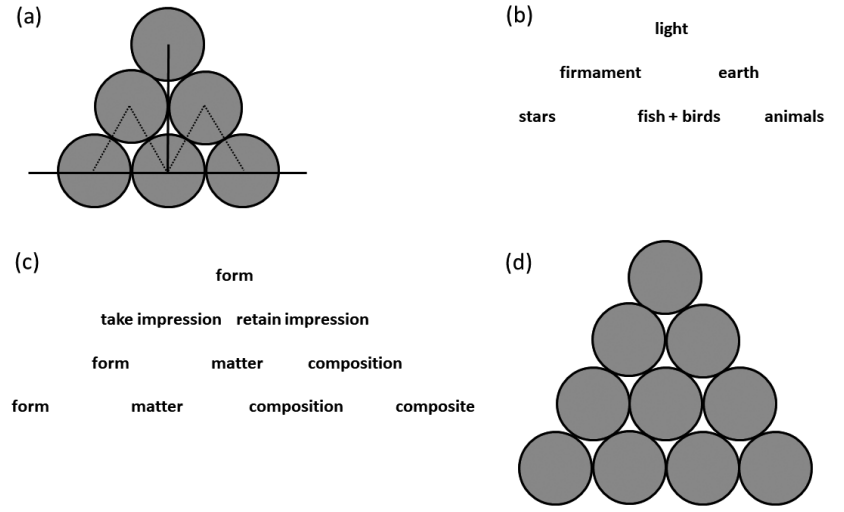


Fig. 7. (a) Arrangement of six touching circles exhibiting a symmetric geometric structure as described in the *Hexaemeron*. Note that the three circles in the third row are all equidistant (dotted lines) to the circles in the second row as stated in the text. (b) Attributes of each of the six days of Creation set out in the geometric arrangement described. (c) Qualities of form, matter, composition and composite arranged in a similar triangle. (d) Similar arrangement of ten touching circles exhibiting three-fold symmetry.

4. The Ordered-Universe project and the response of creative artists

The beauty of Grosseteste's thought has led to unexpected creative stimuli. In the Ordered Universe project to re-examine, edit, translate, and assess from a scientific viewpoint Grosseteste's shorter scientific works (opuscula) on natural philosophy, Giles Gasper assembled an extended team of medievalists, linguists, philosophers, paleographers, physicists, engineers, and psychologists (www.ordered-universe.com). With the important caveats that "there are no stupid questions" and "that trespassers are welcomed", the team set out to study the texts by reading them line by line, word by word, as a group. Although time-consuming and expensive, this method paid dividends: because each mem-

ber approached the material from a totally different perspective, insights have emerged that might have been missed by any individual alone. For example, the dimensionality and combinatorial qualities of Grosseteste's theory of colour had been missed, not least because Ludwig Baur's critical edition of *De colore* [31] was based principally on a corrupt 16th century manuscript. Insistence on a logical scientific argument resulted in the identification of the loss in the later manuscripts of the word *obscura* from the pairs of opposites *clara-obscura, multa-pauca*, *purum-impurum.* A search in the earliest manuscript now in Madrid, unknown to and therefore not used by Baur, revealed the missing word.

The approach of the scientists has tended to be much more pictorial than that of the historians. In trying to understand Grosseteste's arguments the scientists invariably reached for the whiteboard and marker pen to sketch the realization in a two-dimensional space of the ideas being put forward in words. After a decade of working together it is easy to forget how radical was such an approach. Distinguished medievalists, familiar with the *De iride* text, were astonished at seeing the coin-in-cup experiment (*Fig. 2*) live for the first time

Perhaps the most unexpected result of the Ordered Universe project has been the impact on the creativity of artists who have become part of the project team. As well as stimulating Tom McLeish to explore the parallels between scientific and artists creativity [32], there have been a significant number of art-works, from sound and light projection, to temporary multi-media installations, multi-media sculpture, photography, film, and glass art, specifically inspired by the Grosseteste texts. The most spectacular, and viewed by over one million people, have been the sound and light-art works of Ross Ashton and Karen Monid of The Projection Studio (www.theprojectionstudio.com). Their initial interaction with the Ordered Universe resulted in 'World Machine', projected onto Durham Cathedral as part of the Lumière festival of 2015, which incorporated imagery from 13th century and 21st century cosmologies. A subsequent work, 'Spiritus' drew on Grosseteste's thinking on light and body, and played at the 2016 Berlin Light Festival and e-Luminate 2017 in Cambridge (*Fig. 8*). Another projection, 'Horizon', which was shown in Napa, California and Poole, U.K. in 2019, directly incorporated material from Grosseteste's *De sphera* (On the Sphere). This was combined with satellite imagery from NASA in a reflective piece concerning our place in the world and the limits of our horizons. Alexandra Carr's dynamic sculpture 'Empyrean' (www.alexandracarr.co.uk), which formed the cen-

terpiece for an international exhibition on Dante's Divine Comedy, was also inspired by the nested spheres described in *De luce* and *De sphera*.

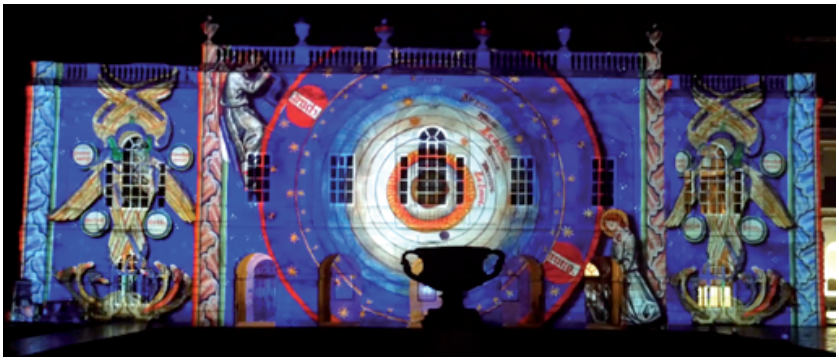


Fig. 8. The Projection Studio's 'Spiritus: Light and Darkness', at e-luminate, Cambridge, 2017 was based around the work of Robert Grosseteste. *(Photograph reproduced by permission of Ross Ashton and Karen Monid).*

The study of *De iride* stimulated pieces of glass art from Colin Rennie and Cate Watkinson of Sunderland University, which featured in the exhibition 'Illuminating Colour' 21 Oct 2017 - 11 Mar 2018, U.K. National Glass Centre, Sunderland. Colin Rennie's glass dish, shown in *Fig. 9*, was inspired by the colour-space spirals corresponding to variations in rainbow colour [33] and contains three orthogonal coloured spirals, created sequentially by picking up the ball of viscous glass in three orthogonal directions and trailing thin spiral lines of coloured glass in each direction. The final piece was then spun out to a bowl form before cooling.

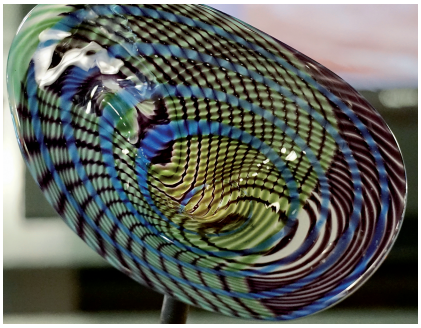


Fig. 9. Blown glass vessel in process, with colour applied on 3 axes. Created by Colin Rennie, University of Sunderland. *(Photograph reproduced by permission of Colin Rennie and Giles Gasper).*

5. Conclusions

At the outset of the Ordered Universe project, it had been hoped that new scientific results would be generated as a result of inspiration found in the study of the thirteenth century works. Surprisingly, this was indeed achieved. Examples include development of new computational methodology to overcome the challenge of modelling the creation of the perfected spheres in *De luce* [28], development of ray tracing to study of refraction in materials with little symmetry [23] and simulation of rainbows produced under different conditions of drop size and spectral characteristics using Mie theory [33]. What was completely unanticipated was the creative stimulus given to the practitioner artists which arose from their collaboration in the project including active engagement in Ordered Universe reading symposia and other knowledge-exchange workshops.

Southern's assertion that

> 'I do not think that any medieval scientific work, or even many scholastic theological works, are read, or can profitably be studied, for the information which they contain about the structure of the physical universe or the truths of the Christian religion.' ([24] pp. lxiv-lxvi).

is hard to dispute. However, the study of the medieval scientific texts can result in motivation to explore new aspects of science and also use modern science to examine the validity of the texts in the context of their day. An example of the latter was the use of modern psychophysical techniques to demonstrate the coherence of Grosseteste's formulation, in *De generatione sonorum*, of vowel sounds in an auditory, mental and visually representational framework based on a combinatorial approach from geometric figures [34]. It raised questions pertinent to our own time about the role of experimentation, observation and modelling, and what constitutes permissible evidence for supporting or rejecting hypotheses. These, plus the extraordinary artistic responses, provide ample justification for the detailed study of the medieval science itself and constitute a fascinating part of the legacy of one of the world's greatest polymaths and the world in which he lived.

Acknowledgments

Grateful thanks are expressed to Giles Gasper (Durham), Tom McLeish (now York) and Hannah Smithson (Oxford) for enabling the author to be part of the core research team of the Ordered Universe project which was funded by the U.K. Arts and Humanities Research Council (Grant: AH/N001222/1). Thanks are extended to the whole team (www.ordered-universe.com) for their friendly collaboration and particularly to Giles Gasper for his superb mentoring, commenting on and suggesting amendments to this manuscript, and steering a naïve physicist away from (at least some of) the traps into which amateur historians are apt to fall.

BIBLIOGRAPHY

1. Gasper, G.E.M., *On the Liberal Arts* and its historical context, in: The Scientific Works of Robert Grosseteste, Vol.1. Knowing and Speaking: Robert Grosseteste's *De artibus liberalibus* 'On the Liberal Arts' and *De generatione* sonorum 'On the Generation of Sounds', eds. Gasper, G.E.M., Panti, C., McLeish, T.C.B., Smithson, H.E., 25-44, Oxford University Press, Oxford, 2019.
2. Gasper, G.E.M., Dating *On the sphere* and locating Robert Grosseteste, in: The Scientific Works of Robert Grosseteste, Vol.2. eds. Gasper, G.E.M., McLeish, T.C.B., Smithson, H.E., Sønnesyn, S.O., Oxford University Press, Oxford (forthcoming, 2021).
3. McEvoy, J., The chronology of Robert Grosseteste's writing on Nature and Natural Philosophy, Speculum, 1983: 58: 614-655.
4. Panti, C., Robert Grosseteste and Adam of Exeter's Physics of Light, Remarks on the Transmission, Authenticity, and Chronology of Grosseteste's Scientific Opuscula, in: Robert Grosseteste and His Intellectual Milieu, eds. Flood, J., Ginther, J. R. and Goering, J. W., 165-90, Brepols, Turnhout, 2013.
5. Panti, C., Moti, virtù e motori celesti nella cosmologia di Roberto Grossatesta: Studio ed edizione dei trattati «De sphera», «De cometis», «De motu supercelestium», SISMEL. – Edizioni del Galluzzo, Florence, 2001.
6. Gasper, G.E.M., Sounding a *sonativum*, in: The Scientific Works of Robert Grosseteste, Vol.1. Knowing and Speaking: Robert Grosseteste's *De artibus liberalibus* 'On the Liberal Arts' and *De generatione sonorum* 'On the Generation of Sounds', eds. Gasper, G.E.M., Panti, C., McLeish, T.C.B., Smithson, H.E., 199-225, Oxford University Press, Oxford, 2019.
7. Sønnesyn, S., Translation prepared as part of the Ordered Universe project in 2019, to be published in: The Scientific Works of Robert Grosseteste, Vol.6. Colour and the Refraction of Rays: Robert Grosseteste's *De colore* 'On Colour'

and *De iride* 'On the Rainbow', eds. Gasper, G.E.M., McLeish, T.C.B., Smithson, H.E., Sønnesyn, S.O., Oxford University Press, Oxford (forthcoming, 2025).
8. Baur, L., ed. Die Philosophischen Werke des Robert Grosseteste, Bischofs von Lincoln, Beiträge zur Geshichte der Philosohie des Mittelalters, 72 – 78, Aschendorff, Münster i. W, 1912.
9. Sønnesyn, S., Translation prepared as part of the Ordered Universe project in 2019, to be published in: The Scientific Works of Robert Grosseteste, Vol.3. From the Horizon to Meteorology: Robert Grosseteste's *De sex differentiae* 'On the Six Differences', *De cometis* 'On Comets', and *De impressionibus elementorum* 'On the Impressions of the Elements', eds. Gasper, G.E.M., McLeish, T.C.B., Smithson, H.E., Sønnesyn, S.O., Oxford University Press, Oxford (forthcoming, 2022).
10. Tanner, B. K. and Tanner, R. E., The legacy of Robert Grosseteste and the teaching of experimental physics to 14-16 year-olds in England, in: Robert Grosseteste and the Theory of Learning: The Ordered Human, eds. Cunningham, J.P. and Puttick, S., 118-141, Routledge, London and New York, 2020.
11. Crombie, A.C., Robert Grosseteste and the Origins of Experimental Science 1100-1700, Oxford University Press, Oxford, 1961.
12. Gasper, G.E.M., Tanner, B.K., Sønnesyn S. and El-Bizri, N., Travelling Optics: Robert Grosseteste and the Optics behind the Rainbow, in: Medieval Science in the North: Travelling Wisdom 1000-1500, eds. Etheridge, C. and Campopiano, M., Brepols, Turnhout, 2021 (in press).
13. El-Bizri, N., Grosseteste's Meteorological Optics: Explications of the Phenomenon of the Rainbow after Ibn Al-Haytham, in: Robert Grosseteste and the pursuit of Religious and Scientific Learning in the Middle Ages, eds. Cunningham, J.P. and Hucknull, M., 21-39, Springer, New York, 2016.
14. Smith, A.M., Alhazen on Refraction: A critical edition, with English Translation and Commentary, on Book 7 of Alhacen's "*De aspectibus*", the Medieval Latin Version of Ibn al-Haytham's "Kitāb al-Manāzir". Volume 2. English Translation, Trans. Amer. Phil. Soc., 2010: 100: 213-331, 333-397, 399, 401-451, 453, 455-491, 493, 495-535, 537-550.
15. Smith, A.M., Alhazen on Refraction: A critical edition, with English Translation and Commentary, on Book 7 of Alhacen's "*De aspectibus*", the Medieval Latin Version of Ibn al-Haytham's "Kitāb al-Manāzir". Volume 1. Introduction and Latin Text, Trans. Amer. Phil. Soc., 2010: 100: i-iii, v, vii-xii, xv-cxxvii, 1, 3-145, 147-212.
16. Smith, A.M., Ptolemy's Theory of Visual Perception: An English Translation of the "Optics" with Introduction and Commentary, Trans. Amer. Phil. Soc., 1996: 86; iii-v, vii-xi, 1-61, 63-261, 263-269, 279-300.
17. Ceglia, A., Cosyns, P., Nys, K., Terryn, H., Thienpont, H. and Meulebroeck, W., Late Antique Glass Distribution and Consumption in Cyprus: A Chemical Study, J. Archaeol. Sci., 2015: 61: 213-22.
18. White, R. C., Gasper, G. E. M., McLeish, T. C. B., Tanner, B. K., Harvey, J. S.,

Sønnesyn, S. O., Young, L. K. and Smithson, H. E., Magnifying Grains of Sand, Seeds and Leaves of Grass: Optical Effects in Robert Grosseteste's *De iride* – On the Rainbow (c. 1228-30), Isis, 2021: 112: 93-107.

19. Belle Burke, R., The Opus Majus of Roger Bacon: A Translation, Volume 2., Russell and Russell, New York, 1928 (reissued 1962).
20. College of Optometrists, The Invention of Spectacles, https://www.college-optometrists.org/the-college/museum/online-exhibitions/virtual-spectacles-gallery/the-invention-of-spectacles.html, accessed 2 July 2021.
21. Dinkova-Bruun, G., Gasper, G.E.M., Huxtable, M., McLeish, T.C.B., Panti, C. and Smithson, H.E., The Dimensions of Colour: Robert Grosseteste's *De colore,* Pontifical Institute for Medieval Studies, Toronto, 2013.
22. Smithson, H.E., Dinkova-Bruun, G., Gasper, G.E.M., Huxtable, M., McLeish, T.C.B. and Panti, C., A three-dimensional color space from the 13th century, J. Optical Soc. America A, 2012: 29: A346-A352.
23. Harvey, J.S., Smithson, H.E., Siviour, C.R., Gasper, G.E.M., Sønnesyn, S.O., Tanner, B.K. and McLeish, T.C.B., Bow-shaped Caustics from Conical Prisms: a 13th Century Account of Rainbow Formation from Robert Grosseteste's *De iride*, Applied Optics 2017: 56: G197-G204.
24. Southern, R.W., Robert Grosseteste: the growth of an English mind in Medieval Europe. 2nd edition, Oxford University Press, Oxford, 1992.
25. Panti, C., Robert Grosseteste's *De luce*. A Critical Edition, in: Robert Grosseteste and his Intellectual Milieu, New Editions and Studies, Eds. Flood, J., Ginther, J. R. and Goering, J. W., Papers in Medieval Studies, 24, 191-238, Pontifical Institute for Medieval Studies, Toronto, 2013.
26. Lewis, N., Robert Grosseteste's *De luce.* An English Translation, in: Robert Grosseteste and his Intellectual Milieu, New Editions and Studies, Eds. Flood, J., Ginther, J. R. and Goering, J. W., Papers in Medieval Studies, 24, 239-247, Pontifical Institute for Medieval Studies, Toronto, 2013.
27. McLeish, T.C.B., Bower, R.G., Tanner, B.K., Smithson, H.E., Panti, C., Lewis, N. and Gasper, G.E.M., A Medieval Multiverse, Nature, 2014: 507: 161-163.
28. Bower, R.G., McLeish, T.C.B., Tanner, B.K., Smithson, H.E., Panti, C., Lewis, N. and Gasper, G.E.M., A Medieval Multiverse?: Mathematical Modelling of the 13th Century Universe of Robert Grosseteste, Proc. Roy. Soc. Lond., 2014: A 470: 20140025.
29. Tanner, B.K., Bower, R.G., McLeish, T.C.B. and Gasper, G.E.M., Unity and Symmetry in the *De Luce* of Robert Grosseteste, in: Robert Grosseteste and the pursuit of Scientific Learning in the Middle-Ages, 3-20, eds. Cunningham, J. P. and Hocknull, M., Springer International Publishing, Switzerland, 2016.
30. Martin, C.F.J., Robert Grosseteste on the Six Days of Creation: A translation of the *Hexaemeron*, Oxford University Press, Oxford, 1997.
31. Baur, L., Die philosophischen Werke des Robert Grosseteste, Bischofs von Lincoln. Zum erstenmal vollständig in kritischer Ausgabe, Aschendorf, Münster im W, 1912.
32. McLeish, T.C.B., The Poetry and Music of Science: Comparing Creativity in Science and Art, Oxford University Press, Oxford, 2019.

33. Smithson, H.E., Anderson, P.S., Fosbury, R., Dinkova-Bruun, G., Gasper, G., Laven, P., McLeish, T.C.B., Panti, C. and Tanner, B.K., A color coordinate system from a 13th century account of rainbows, J. Optical Soc. America A, 2014: 31: A341-A349.
34. Harvey, J.S., Smithson, H.E., Siviour, C., Gasper G.E.M., Sønnesyn, S.O., McLeish, T.C.B. and Howard, D.M., A thirteenth-century theory of speech, J. Acoustical Soc. America, 2019: 146: 937-947.

MEDICINA DEL TRAPIANTO: DA DOVE SIAMO PARTITI E DOVE VORREMMO (FORSE) ARRIVARE

GIUSEPPE REMUZZI (*)

Nota presentata dal m.e. Luisa de Cola
(Adunanza del 20 maggio 2021)

SUNTO. – "Questo lavoro descrive il caso di un trapianto di rene fra due gemelli. L'intervento ha avuto successo. La funzione del rene trapiantato è buona".
Sono le prime due righe di un vecchio articolo su "Surgical Forum". L'intervento era stato fatto a Boston, da Joseph Murray, due giorni prima di Natale del 1954. Da allora di trapianti ne sono stati fatti, al mondo, più di un milione, (più di 600.000 di rene). I gemelli erano Richard e Ronald Herrick. Ci fu una discussione pubblica, i più erano contrari – a Ronald l'intervento non avrebbe portato alcun vantaggio – così i dottori di Boston la decisione la presero da soli, con la famiglia Herrick. Richard, che aveva una nefrite cronica e senza il rene di Ronald sarebbe morto, col trapianto ebbe una vita normale per venti anni. Da quel giorno ci provarono altri, a Parigi e a Londra. Ma i trapianti andavano male, per via del "rigetto". Si provò a irradiare il midollo osseo del ricevente ma era un metodo troppo pericoloso. Il primo farmaco antirigetto – l'azatioprina – arrivò all'inizio degli anni '60, ci fu qualche buon risultato, ma la maggior parte degli ammalati perdeva il rene subito dopo l'intervento. Nel '72 due farmacologi di Basilea estrassero da un fungo la ciclosporina: "potrebbe servire per il trapianto" pensarono. Nel frattempo Chris Barnard fece il primo trapianto di cuore a Città del Capo (a dirla tutta, la tecnica l'aveva imparata negli Stati Uniti, arrivò primo perché in Sud Africa non c'era nessuna legge che lo impedisse). L'ammalato visse due settimane soltanto. Se ne fecero altri di trapianti di cuore, un po' in Sud Africa e poi a Palo Alto e a Houston, ma i risultati non erano buoni. Oggi – per merito della ciclosporina – non c'è cardiochirurgo al mondo che non sia in grado di fare il trapianto di cuore con successo. Nel frattempo erano stati fatti anche i trapianti di fegato (a Denver) e poi si cominciarono a fare tra-

(*) Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano, Italy.
E-mail: giuseppe.remuzzi@marionegri.it

pianti di polmone, di pancreas (per i diabetici), e di intestino. Ma c'era e c'è il problema del rigetto. E dei farmaci che, alla lunga, sono tossici. Ma quanto dura un trapianto? C'è chi ha vissuto più di 40 anni, ma il più delle volte non è così, in media un organo trapiantato dura 10-12 anni. La qualità di vita qualche volta è eccezionale (nel 2003 Kelly Perkins, 42 anni, che aveva avuto un trapianto di cuore sette anni prima, è arrivata in cima al Cervino). Ma certe volte no, anche perché chi ha fatto un trapianto è esposto a infezioni e al rischio di avere un tumore. L'ideale sarebbe insegnare all'organismo a riconoscere l'organo trapiantato come se fosse proprio. Ma c'è e ci sarà sempre di più negli anni a venire il problema della mancanza di organi.
Più di recente, sono emersi dati incoraggianti con l'impiego di cellule mesenchimali, che, nei modelli, murini, si sono dimostrate in grado di indurre tolleranza attraverso lo stimolo all'espansione di cellule T regolatrici. Sono attualmente in corso studi per l'impiego nell'uomo di queste cellule, che in un futuro non troppo remoto potrebbero permettere di ottenere la tolleranza immunologica in un numero sempre maggiore di pazienti trapiantati.
I promettenti risultati degli studi preclinici hanno aperto la strada alla sperimentazione nell'uomo. Questi studi, ancora in fase di sperimentazione, sono condotti in pazienti con trapianto di rene da donatore vivente. L'iniezione riduce l'attività delle cellule del sistema immunitario, responsabili delle crisi di rigetto. La procedura è sicura, non comporta rischi per il paziente e ha sinora permesso di ridurre e in alcuni casi addirittura di sospendere le terapie con i farmaci antirigetto. Inizialmente lo studio prevedeva di trattare pochissimi pazienti per volta. Oggi sono in corso studi clinici di terapia cellulare con cellule staminali su un maggiore numero di pazienti con trapianto di rene e/o di fegato.
Grazie a queste strategie in grado di prevenire il rigetto acuto senza la necessità di terapie immunosuppressive croniche, sarà verosimilmente possibile migliorare significativamente l'aspettativa di vita dell'organo e del paziente trapiantato.
Nel frattempo il dottor Murray, morto nel 2012 all'età di 92 anni, ha avuto il Premio Nobel per essere stato il primo a far funzionare in un uomo il rene di un altro (Murray è uno dei pochissimi chirurghi ad avere avuto il Nobel, e l'unico che ha ricevuto questo riconoscimento per avere inseguito un suo hobby, quello del trapianto, la sua vera passione fu sempre la chirurgia plastica). Chissà se quando è iniziato l'intervento – alle otto precise della mattina del 23 dicembre 1954 – avrà pensato, anche solo per un minuto, a tutto quello che sarebbe potuto succedere dopo.

Istituto Lombardo (Rend. Scienze) 155, 137-160 (2021)

QUAL È LA PIÙ PICCOLA GOCCIA D'ACQUA?

MICHELE CEOTTO (*)

Nota presentata dal m.e. Stefano Maiorana
(Adunanza del 24 giugno 2021)

SUNTO. – Questa presentazione porterà l'ascoltatore all'interno del mondo microscopico degli aggregati di molecole d'acqua. Dopo aver introdotto lo spettro vibrazionale molecolare, vedremo come la dinamica molecolare quantistica in approssimazione semiclassica, al contrario di quella classica, ci permetterà di ottenere la simulazione completa e accurata degli spettri degli aggregati d'acqua. Useremo questo strumento di simulazione per capire quante molecole d'acqua sono necessarie affinché una molecola centrale sia solvatata, ovvero si comporti come se fosse circondata da un'infinità di molecole d'acqua. Sorprendentemente bastano poche molecole, equivalenti a due strati, perché la molecola centrale abbia lo stesso comportamento spettroscopico vibrazionale dell'acqua liquida.

***

ABSTRACT. – This presentation will bring the reader on a journey across the microscopic world of water clusters. After a brief introduction about molecular spectroscopy, I will show how the semiclassical approximation to quantum molecular dynamics allows for accurate full-dimensional quantum simulations of water cluster vibrational spectra, differently from classical molecular dynamics approaches. I will employ the semiclassical spectroscopy tool to determine the minimal network of surrounding water molecules needed to make the central one display the same vibrational features of liquid water. Remarkably, the minimal surrounding structure eventually responsible for proper solvation is made of just a few water molecules and includes two complete solvation shells.

(*) Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Milano, Italy.
E-mail: michele.ceotto@unimi.it

1. Introduzione

Il paradosso del sorite, in greco σωρίτης (sōritēs), recita:

> "*Dato un mucchio di sabbia, se eliminiamo un granello dal mucchio avremo ancora un mucchio di sabbia. Se eliminiamo un granello alla volta, il mucchio diventerà sempre più piccolo, finché rimarrà un solo granello di sabbia. In quale momento quel mucchio iniziale non è più un mucchio di sabbia?*"

Questo paradosso, attribuito a Eubulide di Mileto (IV sec. a.C.), non è stato per noi un paradosso fine a sé stesso, cioè un problema senza soluzione, ma ci ha ispirato nella nostra ricerca nel microscopico. Infatti, se immaginiamo lo stesso paradosso formulato per l'acqua liquida, allora il quesito posto dai sofisti 2500 anni fa diventa attuale per dell'importanza che ha l'acqua per tutti gli organismi viventi. In altre parole, immaginiamo di avere la capacità di poter discernere ciascuna molecola d'acqua all'interno di una manciata d'acqua e di essere in grado di levare una molecola alla volta da questa manciata. Il paradosso diventa:

> "*Togliendo una molecola d'acqua alla volta, quando è che la manciata d'acqua iniziale smette di essere tale ma diventa un insieme di molecole d'acqua che non si comportano più come l'acqua liquida?*"

Per poter dare una risposta a questo quesito è necessario saper descrivere accuratamente il microscopico. E inizialmente ci si chiede "quanto microscopico?". Se avessimo a disposizione una lente potentissima, tanto potente da poter ingigantire a nostro piacimento una manciata d'acqua, allora per un ingrandimento pari a 100 milioni di volte saremmo in grado di distinguere le singole molecole d'acqua che compongono il liquido l'una dall'altra. Un ingrandimento di 100 milioni di volte significa che saremmo in grado di distinguere distanze dell'ordine dei nanometri, cioè una frazione di 1 metro diviso per 1 000 000 000 e potremmo vedere l'acqua liquida così come appare in *Fig. 1*.

Come si vede da questa figura, la singola molecola d'acqua è composta da un atomo di ossigeno (in rosso) e due atomi di idrogeno (in grigio). Se poi ingrandiamo ulteriormente di 10 volte, allora possiamo identificare molto bene la singola molecola d'acqua e osservare i suoi movimenti. Chiaramente questa operazione non è semplice da effettuare nella pratica, e le varie tecniche sperimentali osservano principalmente in maniera indiretta il comportamento molecolare, come ad esempio fa la spettroscopia, che vedremo più avanti.

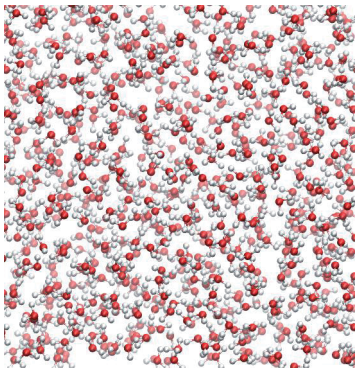


Fig. 1. Ingrandimento 100.000.000x (simulazione).

In mancanza dell'osservazione diretta, la simulazione al computer è molto importante nell'identificazione e nella descrizione dei processi a livello molecolare. Nel caso dell'acqua, la simulazione prevede un certo numero di molecole all'interno di uno spazio delimitato e in numero pari alla densità del liquido che si vuole simulare. Gli atomi di idrogeno si immaginano entrambi attaccati all'atomo di ossigeno come masse separate da una molla, mentre l'interazione tra gli atomi di molecole d'acqua diverse è più debole, cioè le loro energie di interazione diminuiscono rapidamente all'aumentare della distanza. La simulazione consiste nell'evolvere nel tempo le posizioni di ciascun atomo seguendo la legge di Newton, ovvero la meccanica classica. Tuttavia, è possibile simulare solo un numero ristretto di molecole, dell'ordine delle centinaia, o al massimo migliaia, mentre in un bicchiere d'acqua ci sono un numero di molecole dell'ordine del numero di Avogadro, cioè di circa 1 seguito da 24 zeri! Per ovviare a questa limitazione, le simulazioni vengono effettuate in un volume (generalmente un cubo) contenente qualche centinaia di molecole in modo tale che se una molecola durante la simulazione esce dalla superficie che limita tale volume, rientra dalla superficie della faccia opposta, riproducendo in questo modo l'effetto del continuo di un liquido macroscopico. In questo caso, si dice che la simulazione è effettuata in un volume a condizioni di bordo periodiche. Durante una simulazione di questo tipo si osserva che le molecole d'acqua mostrano un moto di vibrazione interno, dove ogni atomo si avvicina e si allontana rapidamente dagli altri atomi all'interno della stessa molecola (vibra appunto), e dove la singola molecola fluttua nel liquido ruotando lentamente su sé stessa o spostandosi lentamente dal suo baricentro.

2. La dinamica molecolare come strumento di calcolo per la spettroscopia

Questa descrizione, seppur di grande aiuto per immaginare ciò che accade nel microscopico, è pur sempre qualitativa. Per poter estrarre dalla simulazione una proprietà quantificabile da potersi confrontare con l'esperimento e meglio comprendere la bontà della simulazione, ci focalizziamo sulla spettroscopia vibrazionale. Nella spettroscopia vibrazionale si misura la frequenza di vibrazione dei vari moti nucleari, cioè il numero di volte che nell'unità di tempo gli atomi, vibrando, si ritrovano nella stessa posizione. Ogni modalità di vibrazione corrisponde ad un preciso moto atomistico coordinato e ad un valore preciso di frequenza. Mediamente un periodo di vibrazione molecolare è dell'ordine di 10-100 femto-secondi, corrispondente a una frequenza di circa 10-100 THz. In altre parole, gli atomi completano una vibrazione molecolare mediamente diecimila miliardi di volte al secondo (10^{13} volte al secondo). E' un numero così grande da essere paragonabile all'età dell'Universo se stimata in ore o al debito pubblico dell'eurozona stimato in euro! Lascio al lettore valutare quale dei due paragoni sia più sconvolgente... Chiaramente l'esperimento non consiste nel conteggiare questo numero in tempo reale, ma nel far interagire la luce con la materia e osservare quali componenti della luce (fotoni) sono stati coinvolti nell'interazione e da lì dedurre le frequenze in gioco. Infatti, gli oscillatori molecolari scambiano energia per multipli (circa interi) della loro frequenza di vibrazione, dove la costante di Planck ci garantisce la conversione dalle unità di frequenza a quelle di energia e ci fa apprezzare che con le frequenze di cui sopra lo scambio di energia è dell'ordine dei 100 meV per ogni modo vibrazionale, cioè 2,3 kcal/mol. Vorrebbe dire che se un bicchier d'acqua (circa 180gr) interagisse esclusivamente con tutte le vibrazioni delle sue molecole contemporaneamente con la luce, scambierebbe un'energia dell'ordine di 23 kilocalorie, quando un panino mediamente fornisce 1,4 kilocalorie. L'esperimento consiste nell'irradiare con un fascio di luce composto da fotoni di diversa energia, ma comparabile con quella vibrazionale, un determinato campione di molecole. Il fascio emergente (spettroscopia infrarossa in trasmittanza) o mancante (spettroscopia infrarossa in assorbimento) o riflesso (spettroscopia Raman) viene confrontato con il fascio originario. La componente in energia mancante è quella che ha assorbito il campione e viene osservata come un picco in un grafico al variare dell'energia. Questo

grafico si chiama spettro (delle energie) della molecola. Nelle simulazioni lo spettro si ottiene mediante un'operazione matematica detta "trasformata di Fourier", che consiste nel misurare la periodicità di una funzione, che nel nostro caso sarà una funzione del moto nucleare, cioè della posizione dei nuclei. In *Fig. 2* viene riportato lo spettro di potenza classico di una singola molecola d'acqua, cioè quello che si ottiene facendo la trasformata di Fourier essenzialmente della velocità dei nuclei (più precisamente del prodotto tra la velocità iniziale e quella ad ogni tempo dei modi di vibrazione).

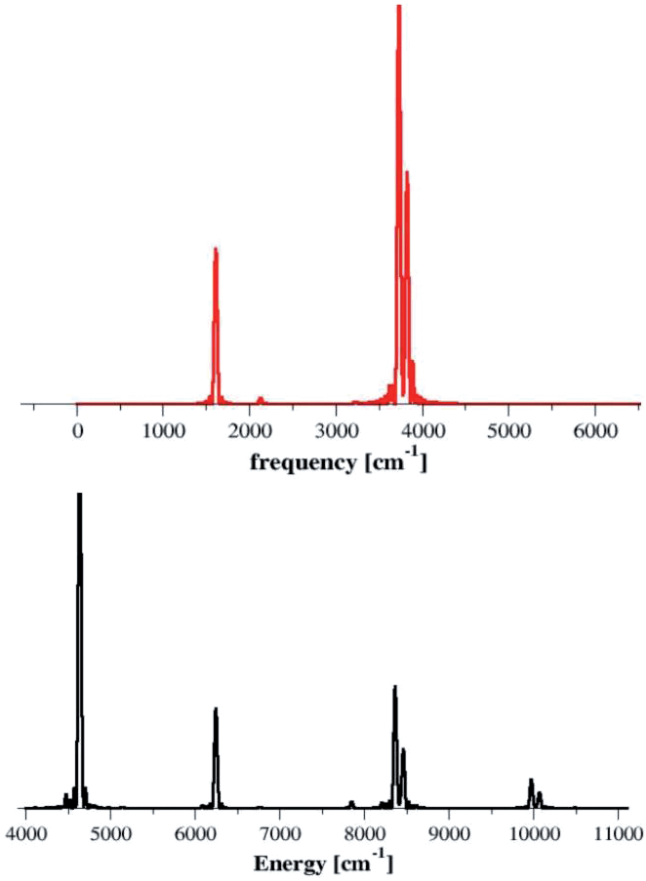


Fig. 2. Spettro vibrazionale di potenza della molecola d'acqua. In rosso lo spettro ottenuto dalla meccanica classica mentre in nero quello con la meccanica semiclassica.

Lo spettro classico della molecola d'acqua è composto da tre picchi come visibile nella parte superiore della figura in rosso, ognuno dei quali corrisponde ad un modo in cui possono vibrare i nuclei, ovvero lo stiramento simmetrico, quello asimmetrico e il piegamento, che verrano rappresentati in *Fig. 5* in corrispondenza dei picchi.

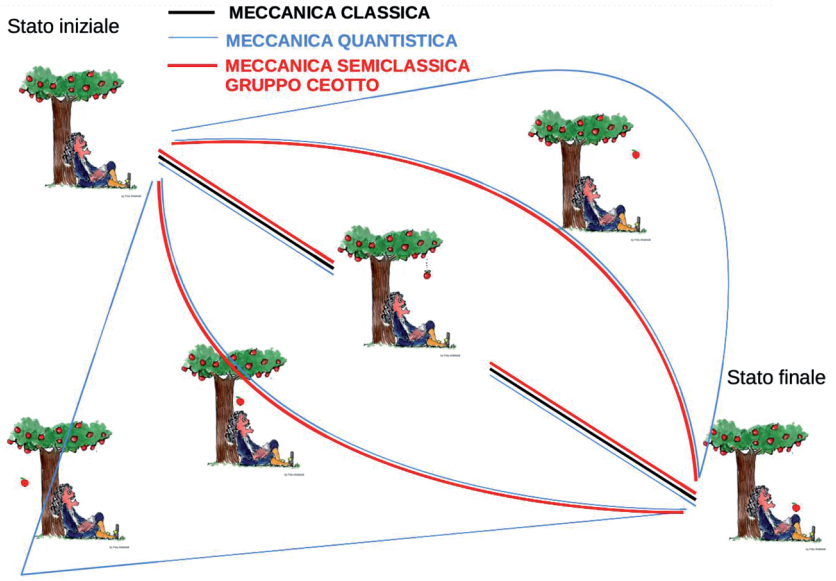
3. La meccanica semiclassica

Tuttavia, le masse in gioco sono così piccole che c'è da chiedersi se la meccanica classica sia appropriata nella descrizione del moto. Per comprenderlo facciamo un esperimento ideale. Immaginiamo Newton seduto sotto un albero nei pressi della sua casa di campagna che contempla una mela che cade sulle sue ginocchia. In *Fig. 3* abbiamo identificato la traiettoria della mela che cade come una linea nera. Ora immaginiamo che la mela abbia una massa dell'ordine della frazione 1 diviso per 10000000000000000000000000000 di grammo (circa la massa dell'elettrone). In questo caso, la descrizione del suo moto dall'albero alle ginocchia di Newton sarebbe data dalla somma di molte traiettorie possibili, la gran parte non descritta dal moto classico, e che chiamiamo "cammini". Questo perché, come dimostrato da Richard Feynman [1], l'evoluzione temporale (il propagatore) in meccanica quantistica da una data configurazione iniziale ad una finale si può ottenere sommando sulle probabilità di tutti i cammini possibili che portano dalla configurazione iniziale a quella finale, come rappresentato dalle linee azzurre in *Fig. 3*.

La probabilità di ogni cammino è uguale all'esponenziale complesso dell'azione del cammino stesso in unità della costante di Planck. L'azione altro non è che il bilancio di energia cinetica meno quella potenziale sul tempo impiegato per percorrere il cammino.

Quando artificialmente aumentiamo la massa della mela, osserviamo che gradualmente i cammini si raggruppano attorno a quello classico, fino a degenerare tutti in un unico cammino, cioè quello classico. Questo accade già con masse dell'ordine di dieci/centomila volte la massa quantistica riportata sopra, dove un atomo di idrogeno pesa circa 2000 volte un elettrone. Quando accade, la descrizione del moto in termini di meccanica classica comincia ad essere appropriata e coincide con quella quantistica. Invece, per masse più piccole, la meccanica classica rappresenta solo uno dei possibili cammini, e, generalmente, è anche quello più probabile. In altre parole, la meccanica classica si può vedere come un

caso particolare della meccanica quantistica. Poiché, al contrario di quella classica, la simulazione del moto con la meccanica quantistica è estremamente onerosa dal punto di vista computazionale e i più moderni centri di calcolo possono permettere di simulare sistemi a soli pochi atomi [2-4], è molto importante sviluppare delle teorie quanto-meccaniche approssimate, ma che permettano di simulare sistemi realistici.



Fig, 3. Gli integrali di cammino di Feynman e la meccanica semiclassica.

Nel mio gruppo di ricerca (https://sites.unimi.it/ceotto/) abbiamo recentemente sviluppato dei metodi basati sulla *meccanica semiclassica* [5-13], grazie ad un finanziamento dell'European Research Council. In particolare, abbiamo esteso le teorie semiclassiche al calcolo degli spettri vibrazionali di sistemi molecolari complessi e supramolecolari [14-21]. La meccanica semiclassica, come si può comprendere dalla *Fig. 3*, considera tra tutti i cammini possibili quelli più probabili, identificandoli mediante l'insieme di tutti i cammini classici possibili. Nella meccanica semiclassica l'accuratezza è garantita dal fatto che non solo si considera più di un cammino alla volta, al contrario della simulazione Newtoniana che ne considera solo uno, ma anche dal tener conto della fluttuazione dell'azione attorno a ciascun cammino, cioè come varia per piccole varia-

zioni di cammino il contributo di ogni traiettoria classica alla probabilità quantistica di propagazione. Queste fluttuazioni riproducono l'interferenza tra i vari cammini, che è alla base della formulazione quantistica del propagatore di Feynman. Nelle simulazioni spettroscopiche di sistemi molecolari, usando i nostri metodi di simulazione semiclassica abbiamo potuto verificare che l'accuratezza della meccanica semiclassica è dell'ordine di 20 cm^{-1} (unità di energia in termini di numeri d'onda) rispetto a valori di frequenze tipiche dei sistemi molecolari che sono dell'ordine delle migliaia. [22-44] Quindi, in termini percentuali, i valori sono molto accurati rispetto al valore assoluto della frequenza.

4. La dinamica molecolare come strumento di calcolo per la spettroscopia

Utilizzando la tecnica della media temporale nel contesto della meccanica semiclassica [11, 45, 46], abbiamo ottenuto lo spettro riportato in nero nella parte inferiore della *Fig. 2*. Apparentemente lo spettro è simile a quello classico riportato in rosso nella parte superiore, se non fosse per la scala di energia nell'asse delle ascisse e alcuni picchi aggiuntivi. Per spiegare questa differenza è necessario fare un passo indietro. Quando un sistema è legato, come è il caso della molecola d'acqua, il suo moto può essere descritto come all'interno di una buca di potenziale (multidimensionale), che è tale che ogni volta che il sistema si sposta dall'equilibrio, vi ritorna. Se poi il sistema è dotato di una certa energia cinetica, oscillerà attorno a questa geometria di equilibrio e, se in quiete, permane nel fondo della buca. Questa è la descrizione del moto periodico di un corpo secondo la meccanica classica, come identificato dalla mela nel fondo della buca in *Fig. 4*.

Tuttavia la descrizione quantistica è diversa, perché tiene conto che ad ogni massa è associata una lunghezza d'onda inversamente proporzionale alla massa. Quindi, a masse piccole corrispondono lunghezze d'onda grandi, e viceversa. Ora, nel momento in cui la massa oscilla all'interno di una buca, il suo moto è periodico, e quindi, dopo un certo tempo, la posizione, la velocità, l'energia e anche l'ampiezza e la fase dell'onda associata alla massa devono avere lo stesso valore che aveva al periodo precedente. Nel caso di una mela, la massa è così grande che la lunghezza d'onda associata è infinitesima e la periodicità in un sistema legato è garantita per qualsiasi combinazione di posizione e velocità, e

quindi energia. Invece, nel caso della molecola d'acqua, la lunghezza d'onda associata alle masse nucleari è decisamente più grande e questa fa sì che la periodicità sia garantita solo per quelle combinazioni di posizione e velocità, e quindi di energia, per cui la fase e l'ampiezza dell'onda associata sono coincidenti solo dopo certi valori precisi di tempi di oscillazione (periodi). Questi valori di energia sono riportati in *Fig. 4* come delle linee continue orizzontali.

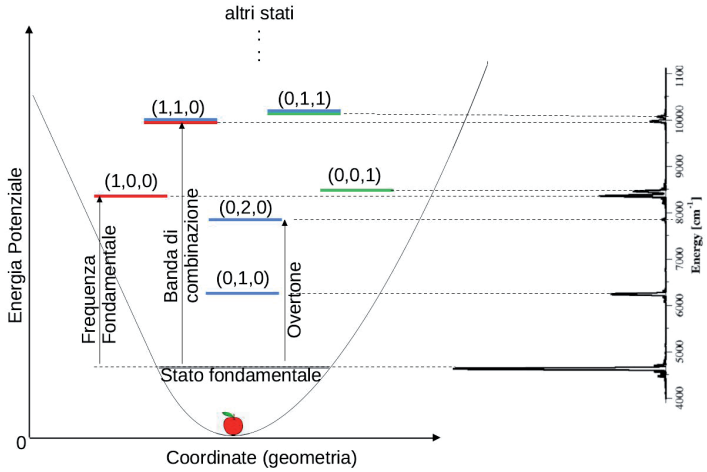


Fig. 4. La spettroscopia vibrazionale della molecola d'acqua.

Come si vede, la lunghezza d'onda non infinitesima associata alle masse della molecola d'acqua fa sì che l'energia minima accessibile non stia nel fondo della buca dove sta la mela, ma ad un valore chiamato "energia di punto zero". Se potessimo aumentare gradualmente le masse degli atomi dell'acqua e osservare l'energia di punto zero della molecola, potremmo vedere come questa si avvicina sempre di più al fondo della buca, fino a raggiungere il valore classico. Le altre energie accessibili si ottengono facendo vibrare più velocemente la molecola. Poiché la molecola d'acqua è rappresentata da tre modi di vibrazione, allora esistono tre possibili eccitazioni di questi singoli modi. Queste eccitazioni sono indicate come (1,0,0), (0,1,0) e (0,0,1), dove generalmente il primo numero indica il modo del piegamento, il secondo quello di stiramento simmetrico e il terzo quello di stiramento asimmetrico. La periodicità sulla lunghezza d'onda associata fa sì che solo alcune vibrazioni più veloci, che danno luogo agli stati eccitati, saranno permesse. L'energia necessaria per

eccitare la molecola dallo stato fondamentale ad uno di questi stati divisa per la costante di Planck, ci dà la frequenza fondamentale della transizione corrispondente. Questo tipo di transizione viene detta "fondamentale". Ovviamente ci possono essere eccitazioni multiple di un singolo modo, come nel caso dello stato (2,0,0), a dare frequenze dette di "overtone", o combinate, come nel caso della (1,1,0), a dare frequenze di "bande di combinazione". Nella stessa figura abbiamo riportato anche lo spettro ottenuto con la meccanica semiclassica precedentemente riportato nella parte inferiore della *Fig. 2*. Dalla *Fig. 4* risulta chiaro il significato di ogni picco. In particolare, il primo picco indica la posizione dell'energia di punto zero. In questa scala di energia lo zero coincide con il fondo della buca, ovvero il valore dell'energia corrispondente nel caso classico. Via via i picchi successivi indicano sempre su scala assoluta i valori di energia degli stati eccitati. Quindi, lo spettro semiclassico è uno spettro di potenza quantistico e fornisce gli "autovalori" del sistema quantistico, cioè i valori di energia accessibili.

Tuttavia, l'esperimento non è in grado di valutare gli autovalori su scala assoluta. L'interazione della luce con il campione permette di scambiare energia. Nello specifico, la luce irraggiata, costituita da un insieme di fotoni a diverse energie, cederà energia, annichilendo quel fotone che corrisponde ad una differenza di energia tra lo stato fondamentale, quello di partenza, e uno degli stati vibrazionalmente eccitati, che rappresenta lo stato di arrivo. Quindi, mettendo a zero il valore dell'energia di punto zero nello spettro semiclassico, questo può essere direttamente confrontato con quello sperimentale. Lo spettro classico, invece, è ottenuto dalla trasformata di Fourier di una quantità dinamica come la velocità che varia nel tempo. Ora, questa velocità si potrà sempre scrivere in termini di velocità di ciascun modo normale di vibrazione con diverso peso, a seconda delle condizioni iniziali scelte. Quindi, la trasformata di Fourier del prodotto di velocità fornirà queste velocità fondamentali, che, opportunamente combinate, danno la velocità in questione, perché esse sono associate ai movimenti periodici. L'intensità dei picchi classici è proporzionale al peso che ogni modo ha nella descrizione della velocità dei nuclei. Quindi, lo spettro classico fornirà solamente le frequenze fondamentali. Nella *Fig. 5* viene effettuato il confronto tra lo spettro classico e quello quantistico in approssimazione semiclassica. Come si può vedere, ci sono delle zone dello spettro evidenziate in giallo che fanno capire che lo spettro classico, oltre a non riprodurre su scala assoluta l'energia di punto zero, manca anche di tutti i picchi che corrispondono alle transizioni di

combinazione e di overtone, che invece sono presenti sia nell'esperimento che nello spettro semiclassico.

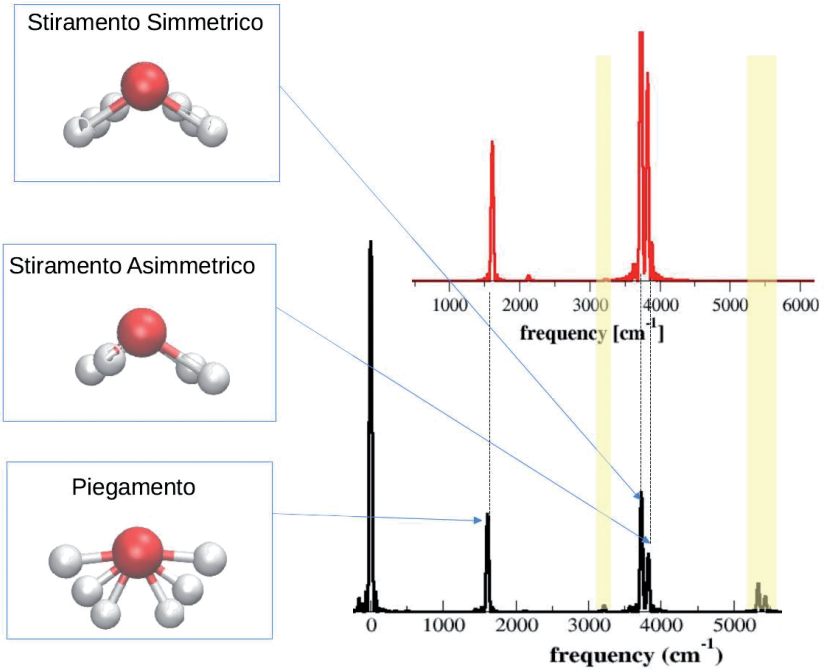


Fig. 5. Confronto tra lo spettro classico e quello semiclassico.

5. La più piccola goccia d'acqua [47]

Ritorniamo ora al paradosso del sorite applicato all'acqua e cerchiamo di risolverlo a rovescio rispetto all'enunciato originario. In altre parole ci chiediamo "*quante molecole d'acqua è necessario aggiungere ad una molecola di partenza per far sì che questa si comporti come se fosse in un bicchier d'acqua?*". O, in forma più generale, *qual è la più piccola goccia d'acqua*?

Per incominciare consideriamo solo due molecole d'acqua (il dimero). Ovviamente non pensiamo che questo sia un prototipo di goccia d'acqua, ma lo facciamo per poterci confrontare con esperimenti spettroscopici fatti su questo sistema e dimostrare la bontà del nostro metodo di calcolo semiclassico. In *Fig. 6*, nella parte superiore possiamo osservare

come questo confronto sia positivo, al contrario dell'approssimazione armonica riportata con il tratteggio, che rappresenta lo stato dell'arte della simulazione di sistemi molecolari di dimensioni confrontabili con i sistemi che andremo a vedere. Nella parte inferiore abbiamo riportato rovesciato e ombreggiato lo spettro di un bicchier d'acqua, ovvero dell'acqua liquida. Questo è chiaramente differente da quello del dimero e presenta un'infinità di picchi a dare un continuo.

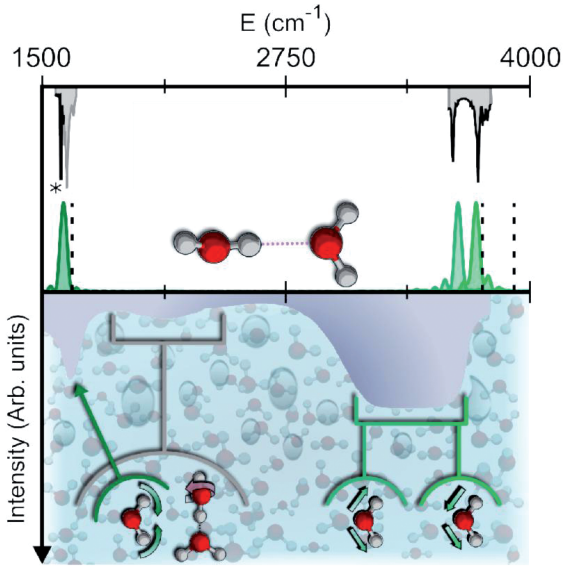


Fig. 6. Parte superiore: spettro sperimentale (in nero), semiclassico (in verde) e armonico (in tratteggiato) per il dimero d'acqua. Parte inferiore: spettro dell'acqua liquida (curva piena) e indicazione pittorica dei modi di vibrazione associati. [47]

L'intensità è maggiore in corrispondenza di alcune bande il cui movimento nucleare associato è indicato anche nella figura. In particolare, a basse frequenze abbiamo i piegamenti, poi una banda poco intensa e larga che corrisponde alla banda di combinazione tra i piegamenti e i modi di librazione delle molecole nel liquido (questi modi erano chiaramente assenti nel caso della singola molecola d'acqua), ed infine una banda larga ed intensa che corrisponde ai modi di stiramento simmetrico e asimmetrico. Questi sono leggermente diversi a seconda dell'intorno che ogni molecola sperimenta e per questo motivo costituiscono una banda e non un singolo picco. Forti di questo confronto con l'esperimento per il dimero,

abbiamo calcolato lo spettro del trimero d'acqua, aggiungendo un tassello verso la più piccola goccia d'acqua. Il segnale spettroscopico che corrisponde alle tre molecole è riportato separatamente in *Fig. 7* [47]. Per confronto lo spettro dell'acqua liquida è riportato come una curva piena in grigio. Come si può vedere, nessuna delle tre molecole d'acqua che costituisce il trimero ha degli segnali compatibili con quelli del liquido. Forse è solo lo stiramento simmetrico ad essere leggermente compatibile, ma niente di più, come era ovvio aspettarsi perché il sistema è ancora lontano dal ricordare il liquido nelle sue caratteristiche.

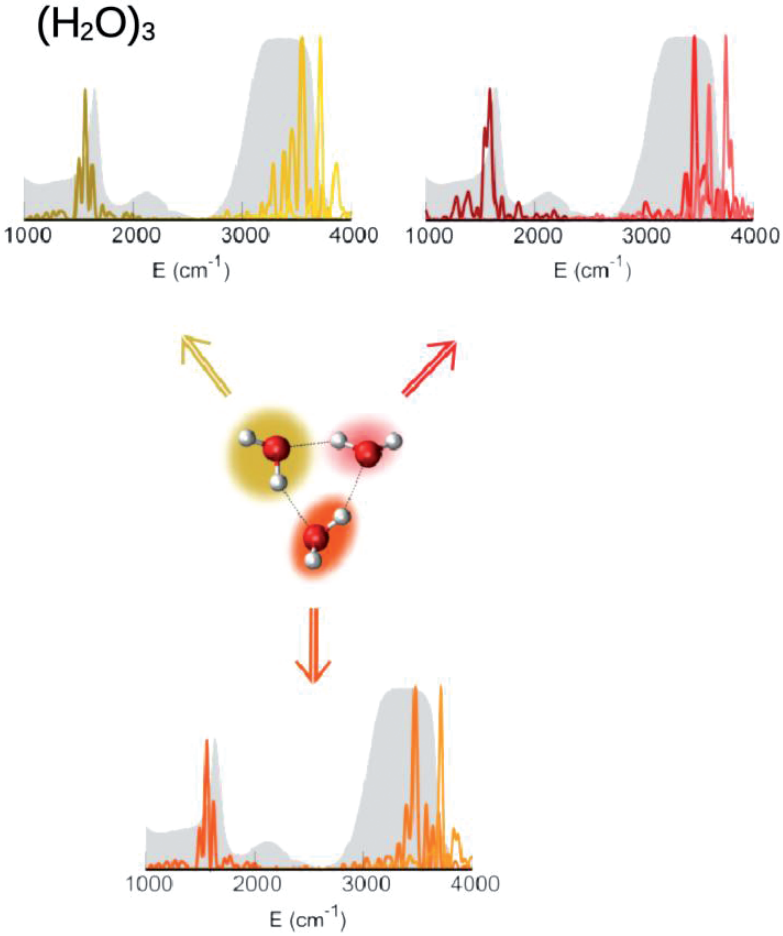


Fig. 7. Segnale spettroscopico semiclassico originato da ciascuna componente del trimero. [47]

Successivamente abbiamo considerato l'esamero nella geometria a prisma, cioè quella in cui ogni atomo di ossigeno si trova al vertice di un prisma a base triangolare, come indicato in *Fig. 8* [47].

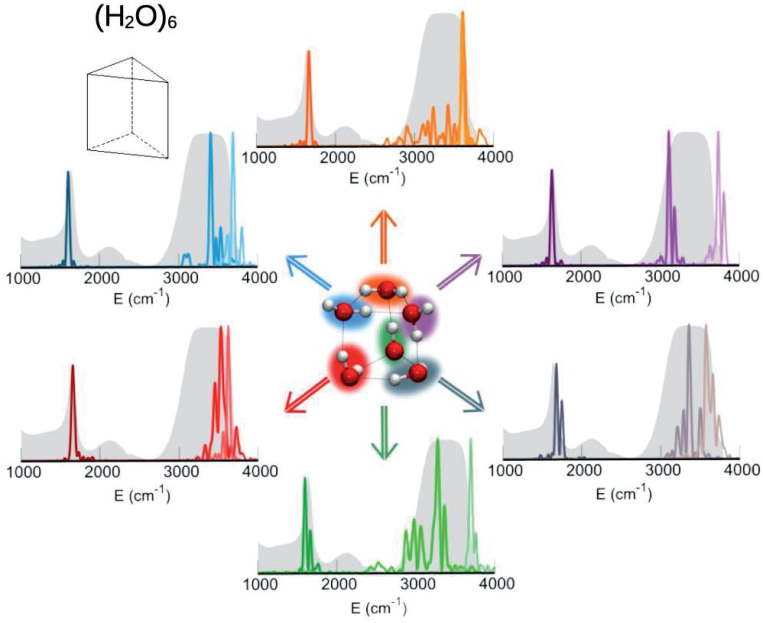


Fig. 8. Segnale spettroscopico vibrazionale di ciascuna molecola dell'esamero a configurazione di prisma. [47]

Abbiamo scelto questo sistema perché in passato era stato considerato la più piccola goccia d'acqua per via delle sue proprietà fisiche. Tuttavia, i nostri conti spettroscopici dimostrano chiaramente in *Fig. 8* che in realtà nessuna delle sei molecole d'acqua ha uno spettro vibrazionale pienamente compatibile con il liquido. Sebbene nella maggior parte dei casi il piegamento sia molto simile in frequenza rispetto al valore del liquido, gli stiramenti sono per lo più a frequenze più alte o a frequenze più basse rispetto alla banda degli stiramenti del liquido.

La situazione è molto più interessante nel pentamero, dove la molecola d'acqua centrale è posta al centro di un tetraedro e le altre ai vertici (*Fig. 9*). Considerando la natura elettronica degli orbitali dell'atomo di ossigeno della molecola centrale che sono ibridizzati sp^3 e puntano verso i vertici del tetraedro, questa configurazione del pentamero risulta essere particolarmente stabile rispetto ad altre. Questa volta lo

spettro in *Fig. 9* è molto più accurato nelle sue componenti dei piegamenti e degli stiramenti della molecola centrale, anche quando viene confrontato con uno spettro sperimentale di MCR-Raman dell'acqua liquida, riportato con un'ombreggiatura più scura, e che è più preciso dello spettro IR in termini di frequenze per gli stiramenti simmetrici.

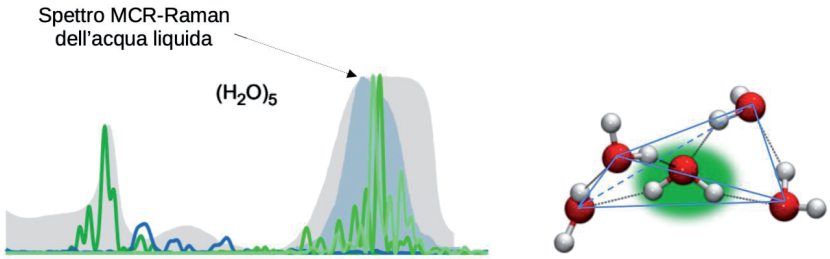


Fig. 9. A sinistra: spettro vibrazionale semiclassico del pentamero. A destra: geometria del pentamero.

Questo risultato, che vale anche per l'eptamero (altro agglomerato a geometria tetraedrica), conferma l'intuizione dei chimici secondo la quale il primo strato (shell) di solvatazione, cioè del processo di scioglimento di una sostanza nell'acqua, si raggiunge quando le molecole del solvente, cioè del liquido, sono poste a forma di tetraedro e racchiudono la molecola solvatata, che sta al centro del tetraedro. Nel nostro caso la molecola che è solvatata è anch'essa una molecola d'acqua. Quindi una delle novità di questo lavoro è quella di dimostrare chiaramente che anche l'intuizione della struttura tetraedrica non porta alla risposta di quante molecole d'acqua siano necessarie per solvatarne una. Infatti, se guardiamo in *Fig. 9* al segnale originato dalla banda di combinazione tra il piegamento della molecola centrale e le librazioni della gabbia di molecole che la circondano, questo non rispecchia lo spettro dell'acqua liquida, né per il pentamero riportata in *Fig. 9* con tratto blu, né per l'eptamero non riportato.

Quindi, procediamo ad aggiungere altre molecole d'acqua oltre l'eptamero fino a quando osserviamo una soglia cruciale riportata in *Fig. 10*. Qui sono rispettivamente dall'alto verso il basso 18, 20 e 22 molecole d'acqua a solvatare (circondare) una molecola centrale. Come sempre andiamo a vedere il segnale spettroscopico vibrazionale della molecola centrale e lo confrontiamo in tutte le sue componenti con quello dell'acqua liquida. Osserviamo che nel caso dell'agglomerato di 19 molecole d'acqua, i piegamenti e gli stiramenti sono compatibili con quelli del

liquido (così come ci assicura il tetraedro centrale), tuttavia le rimanenti quattordici molecole al di fuori del tetraedro non garantiscono una banda di combinazione tra il piegamento dell'atomo dell'acqua centrale e le librazioni dell'agglomerato esterno compatibile con il liquido. La compatibilità viene osservata solo a partire da un gruppo di ventuno molecole d'acqua, di cui una centrale. In questo caso sono ben riprodotti non solo i segnali di piegamento e di stiramento del liquido, ma anche la nota banda di combinazione di cui sopra. Per verificare che effettivamente la soglia di solvatazione è stata raggiunta e l'accordo non sia accidentale, abbiamo simulato il sistema composto da ventitré molecole d'acqua, di cui una centrale. Anche in questo caso i segnali di piegamento, stiramento e di combinazione sono pienamente compatibili con il liquido.

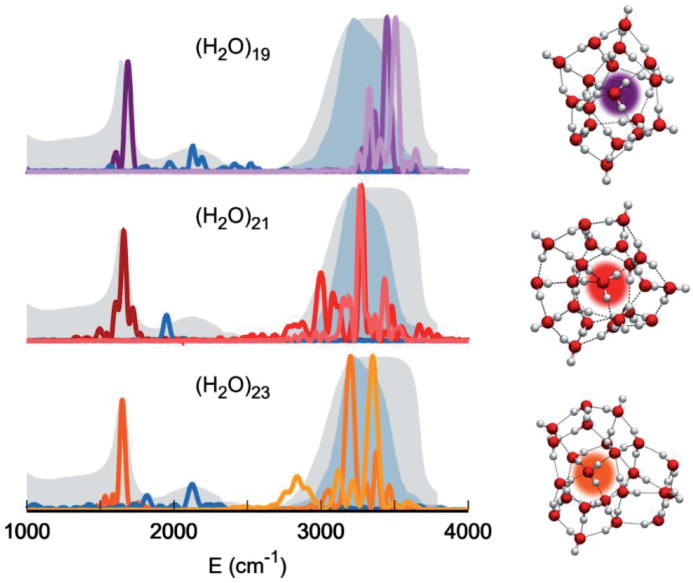


Fig. 10. Spettri vibrazionali della molecola centrale negli agglomerati di 19, 21, e 23 molecole d'acqua.

Come ulteriore controllo e a conferma di quanto trovato, siamo andati a vedere il segnale spettroscopico vibrazionale di una molecola per volta di quelle che sono ai vertici del tetraedro di prima solvatazione nell'agglomerato di 21 molecole. Nessuna di queste molecole ha fatto registrare un segnale spettroscopico compatibile con quello del liquido, a dimostrazione del fatto che sono necessari ben due strati di molecole per solvatarne una.

Siamo giunti così alla conclusione che sono necessarie almeno venti molecole d'acqua per solvatarne una centrale. O, in altre parole, una molecola d'acqua circondata da altre venti si comparta dal punto di vista della dinamica nucleare e quindi dal punto di vista vibrazionale come se fosse immersa in un bicchier d'acqua. Se poi andiamo ad osservare per bene la geometria dell'agglomerato di ventuno molecole d'acqua, ci accorgiamo che la struttura può essere così razionalizzata: vi è una molecola (quella solvatata) al centro di un tetraedro ai cui vertici ci sono gli atomi di ossigeno di quattro molecole d'acqua. Queste quattro molecole rappresentano il primo strato di solvatazione e racchiudono completamente la molecola centrale. A loro volta queste quattro molecole d'acqua, che costituiscono il primo strato, interagiscono ciascuna con altre quattro molecole d'acqua per un totale di sedici molecole che costituiscono il secondo strato di solvatazione. La geometria dell'agglomerato di ventuno molecole d'acqua e la loro rete di interazioni a ponte idrogeno è rappresentata in *Fig. 11* da linee tratteggiate. I ponti idrogeno sono le interazioni elettrostatiche che si stabiliscono tra un atomo di idrogeno ed uno di ossigeno di una molecola d'acqua diversa. E' un legame debole se confrontato con quello covalente che lega l'atomo di idrogeno a quello di ossigeno nella molecola d'acqua, ma sufficientemente forte da caratterizzare l'acqua come un liquido fondamentale per la vita grazie alle sue proprietà uniche di solvatazione.

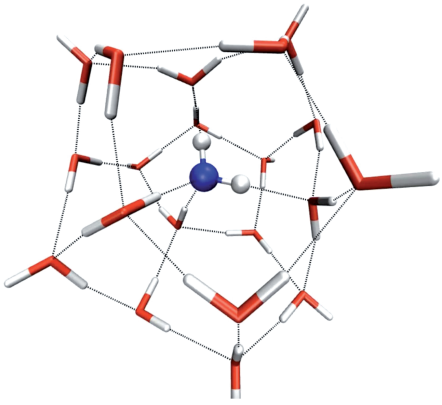


Fig. 11. Aggregato di 21 molecole d'acqua e i corrispondenti legami a idrogeno.

In *Fig. 11* si vede l'importanza che ha la rete di ponti idrogeno nella geometria e nella modalità di vibrazione dell'agglomerato.

6. Discussione

A questo punto ci chiediamo: a che cosa serve questa scoperta? E' un mero esercizio accademico o può avere un interesse futuro nella vita di ogni giorno?

Se effettivamente il numero di molecole d'acqua per solvatare una molecola può essere molto ridotto rispetto a quello che si poteva pensare e che era dell'ordine delle migliaia di molecole, allora possiamo pensare di "fare chimica" solo con poche molecole d'acqua di solvatazione. A conferma di ciò, recentemente e in collaborazione con due gruppi di ricerca tedeschi, uno sperimentale guidato da Martina Havenith, e un altro teorico guidato da Dominik Marx, abbiamo studiato quante fossero le molecole d'acqua necessarie per solvatare il più piccolo amminoacido, la glicina. La glicina allo stato gassoso, quindi isolata, è un composto di formula NH_2-CH_2-COOH. Questa è chiamata la forma neutra della glicina. Una volta in acqua, la glicina assume invece la forma zwitterionica, NH_3^+-CH_2-COO^- per via delle interazioni elettrostatiche con le molecole d'acqua. Similmente, anche gli altri amminoacidi passano dalla forma neutra a quella zwitterionica, e anche altre specie chimiche esibiscono protonazioni al gruppo amminico (NH_2) e deprotonazioni al gruppo carbossilico (COOH) una volta solvatate dall'acqua. In altre parole, la forma biologicamente attiva dell'amminoacido è quella zwitterionica e noi ci siamo chiesti quante molecole d'acqua fossero necessarie per far sì che la glicina passasse dalla forma neutra a quella zwitterionica. Abbiamo constatato con stupore che sono sufficienti solo sei molecole d'acqua affinché la glicina assuma la sua forma tipica in soluzione acquosa, come siamo riusciti a verificare grazie ad un esperimento *ad hoc* in grado di "pesare" il numero di molecole d'acqua aggiunte alla glicina.

Questo campo della chimica, che va sotto il nome della chimica della microsolvatazione, potrebbe aprire scenari futuri finora insperati. Ad esempio, al giorno d'oggi molecole di interesse biologico, come ad esempio il plasma sanguigno e le molecole che lo compongono, vengono conservate in soluzioni acquose a -80°C. Purtroppo già a 0°C l'acqua del solvente ghiaccia, ovvero si forma un cristallo dove le molecole d'acqua sono collocate in posizioni ben precise e con spiccato ordine e direzionalità di legame, spesso a scapito dell'integrità del materiale biologico che si deforma, o ancor peggio finisce in pezzi. La chimica della microsolvatazione potrebbe fornire una via alternativa per conservare

biomolecole senza pregiudicarne l'integrità e averle pronto all'uso. Tuttavia, c'è un problema non da poco. Già a temperature superiori di pochi Kelvin, cioè a circa -270°C, le molecole d'acqua di microsolvatazione volerebbero via. Per ovviare a questo, la microsolvatazione ha luogo all'interno di una goccia di atomi di elio che rappresentano di fatto un nanofrigorifero che può raggiungere le temperature di -272°C, ovvero di un Kelvin, quasi lo zero assoluto. Un successivo riscaldamento avviene facilmente facendo volatilizzare gli atomi di elio e rendendo la biomolecola pronta all'uso. Studi preliminari presso il nostro gruppo di ricerca hanno dimostrato che anche le componenti degli acidi nucleici raggiungono la loro configurazione di solvatazione con poche molecole d'acqua (circa diciotto per la timidina).

7. Conclusioni

Durante la presentazione è stato chiesto se nel corso della simulazione si fossero osservati fenomeni di tunnelling [49], cioè fenomeni secondo i quali, in virtù dell'onda associata, un massa inizialmente localizzata da una parte di una barriera viene delocalizzata dall'altra parte. Questo accade quando l'onda che descrive la massa è presente sia da una parte che dall'altra della barriera. Mentre questi fenomeni sono stati rivelati sia sperimentalmente che nella simulazione del moto rotazionale negli agglomerati d'acqua [50], nel moto vibrazionale gli atomi di idrogeno sono ben confinati all'interno del legame chimico della propria molecola d'acqua e non vengono scambiati di molecola in molecola. Altro caso è l'agglomerato d'acqua protonato, dove il protone in eccesso potrebbe essere condiviso con fenomeni di tunneling tra molecole d'acqua diverse, ovvero la sua onda si estende tra due ossigeni. Tuttavia, abbiamo osservato che nel catione di Zundel [16], che è formato da due molecole d'acqua con un protone condiviso tra i due atomi di ossigeno, non si osserva un vero e proprio tunneling, ma è bensì l'energia di punto zero a fare la differenza con la meccanica classica permettendo al protone di passare molto più agevolmente da una molecola d'acqua all'altra. Per questo, noi pensiamo che anche nel caso degli agglomerati d'acqua sia l'energia di punto zero a rappresentare il maggior effetto quantistico.

In conclusione, la dinamica semiclassica fornisce un metodo quantistico accurato per la simulazione di sistemi molecolari complessi

come quello supramolecolare considerato in questo resoconto. Nello specifico, abbiamo dimostrato che una singola molecola d'acqua si comporta dal punto di vista spettroscopico vibrazionale come se fosse immersa in un bicchier d'acqua quando è circondata a partire da sole 20 molecole d'acqua, ovvero due strati completi di solvatazione.

8. Ringraziamenti

Ringrazio tutti i miei collaboratori ed in particolare il gruppo di ricerca SEMICOMPLEX (https://sites.unimi.it/ceotto/). Questo lavoro è stato principalmente finanziato dalla Comunità Europea mediante l'European Research Council (ERC) nel contesto del programma dell'unione europea di ricerca Horizon 2020 (grant agreement No. [647107] – SEMICOMPLEX- ERC-2014-CoG). Ringrazio anche il centro di calcolo italiano CINECA per le ore di calcolo messe a disposizione su progetti di tipo ISCRA C e B.

BIBLIOGRAFIA

[1] Feynman RP, Hibbs AR, *Quantum mechanics and path integrals,* McGraw-Hill, NY, 1965.

[2] Mandrà S, Valleau S, Ceotto M, Deep Nuclear Resonant Tunneling Thermal Rate Constant Calculations, *Int. J. of Quantum Chemistry*, 2013: 113: 1722-1734.

[3] Mandrà S, Schrier J, Ceotto M, Helium Isotope Enrichment by Resonant Tunneling Through Nanoporous Graphene Bilayers, *J. Phys. Chem. A,* 2014: 118: 6457-6465.

[4] Aieta C, Gabas F, Ceotto M, A Parallel Implementation of Semiclassical Transition State Theory, *J. Chemical Theory and Computation,* 2019: 15: 2142-2153.

[5] Miller WH, Semiclassical nature of atomic and molecular collisions, *Accounts of Chemical Research:* 1971: 4: 161–167.

[6] Miller WH, The semiclassical initial value representation: A potentially practical way for adding quantum effects to classical molecular dynamics simulations, *J. Phys. Chem. A*: 2001: 105: 2942– 2955.

[7] Miller WH, Quantum dynamics of complex molecular systems, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*: 2005: 102: 6660–6664.

[8] Heller EJ, Frozen Gaussians: A very simple semiclassical proximation, *J. Chem. Phys.*: 1981: 75: 2923–2931.

[9] Herman MF, Kluk E, A semiclassical justification the use of non-spreading wavepackets in dynamics calculations, *Chem. Phys.*: 1984: 91, 27–34.

[10] Kay KG, Semiclassical propagation for multidimensional systems by an initial value method, *J. Chem. Phys.*: 1994: 101, 2250–2260.
[11] Ceotto M, *Semiclassical and Quantum Instanton approximations for thermal rate constants of chemical reactions*, Ph.D. Dissertation Thesis University of California at Berkeley, Berkeley, 2005.
[12] Buchholz M, Fallacara E, Gottwald F, Ceotto M, Grossmann F, Ivanov SD, Herman-Kluk propagator is free from zero-point energy leakage, *Chemical Physics:* 2018: 515: 231-235.
[13] Conte R, Ceotto M, Semiclassical molecular dynamics for spectroscopic calculations, in *Quantum Chemistry and Dynamics of Excited States: Methods and Applications*, Wiley Online Library 595-628, 2020.
[14] Gabas F, Conte R, Ceotto M, Semiclassical Vibrational Spectroscopy of Biological Molecules Using Force Fields, *Journal of Chemical Theory and Computation:* 2020: 16: 3476-3485.
[15] Cazzaniga M, Micciarelli M, Moriggi F, Mahmoud A, Gabas F, Ceotto M, Anharmonic calculations of vibrational spectra for molecular adsorbates: A divide-and-conquer semiclassical molecular dynamics approach, *Journal of Chemical Physics,* 2020: 152: 104104.
[16] Bertaina G, Di Liberto G, Ceotto M, Reduced rovibrational coupling Cartesian dynamics for semiclassical calculations: Application to the spectrum of the Zundel cation, *Journal of Chemical Physics,* 2019: 151, 114307.
[17] Gabas F, Di Liberto G, Ceotto M, Vibrational investigation of nucleobases by means of divide and conquer semiclassical dynamics, *Journal of Chemical Physics,* 2019: 150, 224107.
[18] Ma X, Di Liberto G, Conte R, Hase WL, Ceotto M, A quantum mechanical insight into S_N2 reactions: Semiclassical initial value representation calculations of vibrational features of the Cl^- CH_3Cl pre-reaction complex with the VENUS suite of codes, *Journal of Chemical Physics*, 2018: 149: 164113.
[19] Gabas F, Di Liberto G, Conte R, Ceotto M, Protonated glycine supramolecular systems: the need for quantum dynamics, *Chemical Science,* 2018: 9: 7885-8026.
[20] Buchholz M, Grossmann F, Ceotto M, Simplified approach to the mixed time-averaging semiclassical initial value representation for the calculation of dense vibrational spectra, *Journal of Chemical Physics,* 2018: 148, 114107.
[21] Buchholz M, Grossmann F, Ceotto M, Application of the mixed time-averaging semiclassical initial value representation method to complex molecular spectra, *Journal of Chemical Physics,* 2017: 147, 164110.
[22] Aieta C, Micciarelli M, Bertaina G, Ceotto M, Representing molecular ground and excited vibrational eigenstates with nuclear densities obtained from semiclassical initial value representation molecular dynamics, *J. Chem. Phys.,* 2020: 153: 214117.
[23] Gandolfi M, Rognoni A, Aieta C, Conte R, Ceotto M, Machine learning for vibrational spectroscopy via divide-and-conquer semiclassical initial value representation molecular dynamics with application to N-methylacetamide, *J. Chem. Phys.,* 2020: 153: 204104.
[24] Aieta C, Micciarelli M, Bertaina G, Ceotto M, Anharmonic quantum nuclear

densities from full dimensional vibrational eigenfunctions with application to protonated glycine, *Nature Communications,* 2020: 11: 1-9.
[25] Conte R, Botti G, Ceotto M, Sensitivity of semiclassical vibrational spectroscopy to potential energy surface accuracy: A test on formaldehyde, *Vibrational Spectroscopy,* 2020: 106, 103015.
[26] Conte R, Parma L, Aieta C, Rognoni A, Ceotto M, Improved semiclassical dynamics through adiabatic switching trajectory sampling, *Journal of Chemical Physics,* 2019: 151, 214107.
[27] Conte R, Gabas F, Botti G, Zhuang Y, Ceotto M, Semiclassical vibrational spectroscopy with Hessian databases, *Journal of Chemical Physics,* 2019: 150: 244118.
[28] Micciarelli M, Gabas F, Conte R, Ceotto M, An effective semiclassical approach to IR spectroscopy, *Journal of Chemical Physics,* 2019: 150: 184113.
[29] Micciarelli M, Conte R, Suarez J, Ceotto M, Anharmonic vibrational eigenfunctions and infrared spectra from semiclassical molecular dynamics, *Journal of Chemical Physics,* 2018: 149, 064115.
[30] Di Liberto G, Conte R, Ceotto M, "Divide and conquer" semiclassical molecular dynamics: An application to water clusters, *Journal of Chemical Physics,* 2018: 148: 10430.
[31] Di Liberto G, Conte R, Ceotto M, "Divide and conquer" semiclassical molecular dynamics: A practical method for spectroscopic calculations of high dimensional molecular systems, *Journal of Chemical Physics,* 2018: 148: 01430.
[32] Ceotto M, Di Liberto G, Conte R, Semiclassical "Divide-and-Conquer" Method for Spectroscopic Calculations of High Dimensional Molecular Systems, *Phys. Rev. Lett.,* 2017: 119, 010401.
[33] Gabas F, Conte R, Ceotto M, On-the-fly ab initio Semiclassical Calculation of Glycine Vibrational Spectrum, *J. Chem. Theory Comput.,* 2017: 13: 2378-2388.
[34] Di Liberto G, Ceotto M, The importance of the pre-exponential factor in semiclassical molecular dynamics, *J. Chem. Phys.,* 2016: 145: 144107.
[35] Buchholz M, Grossmann F, Ceotto M, Mixed semiclassical initial value representation time-averaging propagator for spectroscopic calculations, *J. Chem Phys.,* 2016: 144: 094102.
[36] Tamascelli D, Dambrosio FS, Conte R, Ceotto M, Graphics Processing Units Accelerated Semiclassical Initial Value Representation Molecular Dynamics, *J. Chem Phys.,* 2014: 140: 174109.
[37] Conte R, Aspuru-Guzik A, Ceotto M, Reproducing Deep Tunneling Splittings, Resonances, and Quantum Frequencies in Vibrational Spectra From a Handful of Direct Ab Initio Semiclassical Trajectories, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2013: 4, 3407−3412.
[38] Ceotto M, Zhuang Y, Hase WL, Accelerated direct semiclassical molecular dynamics using a compact finite difference Hessian scheme, *J. Chem. Phys.,* 2013: 138: 054116.
[39] Zhuang Y, Siebert MR, Hase WL, Kay KG, Ceotto M, Evaluating the Accuracy of Hessian Approximations for Direct Dynamics Simulations, *J. Chem. Theory and Computation*, 2013: 9: 54-64.

[40] Ceotto M, Tantardini GF, Aspuru-Guzik A, Fighting the curse of dimensionality in first-principles semiclassical calculations: Non-local reference states for large number of dimensions, *J. Chem. Phys.,* 2011: 135: 214108.
[41] Ceotto M, Valleau S, Tantardini GF, Aspuru-Guzik A, First principles semiclassical calculations of vibrational eigenfunctions, *J. Chem. Phys.,* 2011: 134: 234103.
[42] Ceotto M, Dell'Angelo D, Tantardini GF, Multiple coherent states semiclassical initial value representation spectra calculations of lateral interactions for CO on Cu(100), *J. Chem. Phys.,* 2010: 133: 054701.
[43] Ceotto M, Atahan S, Tantardini GF, Aspuru-Guzik A, Multiple coherent states for first-principles semiclassical initial values representation molecular dynamics, *J. Chem. Phys*., 2009: 130: 234113.
[44] Ceotto M, Atahan S, Shim S, Tantardini GF, Aspuru-Guzik A, First-principles semiclassical initial value representation molecular dynamics, *Phys. Chem. Chem. Phys*., 2009: 11: 3861.
[45] Kaledin AL, Miller WH, Time averaging the semiclassi- cal initial value representation for the calculation of vibrational energy levels, *J. Chem. Phys.,* 2003: 118: 7174–7182.
[46] Kaledin AL, Miller WH, Time averaging the semiclassi- cal initial value representation for the calculation of vibrational energy levels. ii. application to h2co, nh3, ch4, ch2d2, *J. Chem. Phys.,* 2003: 119: 3078–3084.
[47] Rognoni A, Conte R, Ceotto M, Caldeira–Leggett model vs ab initiopotential: A vibrational spectroscopy test ofwater solvation, *J. Chem. Phys.,* 2021: 154: 094106.
[48] Rognoni A, Conte R, Ceotto M, How many water molecules are needed to solvate one?, *Chem. Sci.,* 2021: 12: 2060.
[49] Ceotto M, Vibration-assisted tunneling: a semiclassical instanton approach, *Mol. Phy.,* 2011: 110: 547-559.
[50] Richardson JO, Pérez C, Lobsiger S, Reid AA, Temelso B, Shields GC, Kisiel Z, Wales DJ, Pate BH, Althorpe SC, Science, 2016: 351: 6279: 1310-1313.

VIDĒRE EST CREDERE: LA STRUTTURA AD ALTA RISOLUZIONE DEL CANALE DEL PACEMAKER HCN4

ANNA MORONI (*)

Nota presentata dal s.c. Dario Di Francesco
(Adunanza del 7 ottobre 2021)

SUNTO. – I canali ionici HCN (HCN1-4) generano la corrente cationica I_f che controlla l'automaticità e il ritmo del battito cardiaco. Mediante criomicroscopia elettronica su singola particella (cryo-EM), abbiamo ottenuto la struttura del canale HCN4, legato e non legato al ligando cAMP e con il poro in configurazione aperta e chiusa. L'analisi delle strutture evidenzia un sito di coordinamento dello ione Mg^{2+} che, collegando due domini della proteina, facilita l'azione dei nucleotidi ciclici nell'apertura del poro. La configurazione aperta del poro utilizzata in simulazioni di dinamica molecolare ha fornito informazioni sui meccanismi di permeazione degli ioni K^+/Na^+ e sul meccanismo d'azione dell'ivabradina, un principio attivo impiegato nel trattamento dell'angina.

***

ABSTRACT. – HCN channels (HCN1-4) generate the I_f current that controls automaticity and rhythm of the heartbeat. Using single-particle electron cryo-microscopy (cryo-EM), we obtained the structure of HCN4, bound and unbound to the cAMP ligand and with the pore in open and closed configuration. Analysis of the structures reveals a coordination site for the Mg^{2+} ion which, by linking two domains of the protein, facilitates channel gating by cyclic nucleotides. The open pore configuration used in molecular dynamics simulations provided information on the mechanisms of permeation of K^+/Na^+ ions and on the mechanism of action of ivabradine, a drug used in the treatment of angina.

(*) Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, Italy.
E-mail: anna.moroni@unimi.it

1. Introduzione

L'automatismo del battito cardiaco è dovuto alla capacità delle fibre cardiache di effettuare un nuovo potenziale d'azione spontaneamente ed ha il suo punto d'inizio nel nodo senoatriale. Tale capacità è a sua volta dovuta ad una corrente ionica, definita la corrente "pacemaker" del cuore o corrente "funny" (I_f), per le sue caratteristiche insolite [1]. La corrente I_f è costituita da un flusso misto di sodio e potassio la cui direzione netta è verso l'interno della cellula. La corrente si attiva al termine del potenziale d'azione e genera la depolarizzazione diastolica (DD) che innesca il successivo potenziale d'azione; attraverso questo meccanismo, l'I_f controlla la frequenza dell'attività spontanea dei miociti senoatriali e quindi la frequenza cardiaca. Un'altra caratteristica singolare della corrente è che essa è aumentata dall'adenosina monofosfato ciclico (cAMP) che, velocizzando la DD, incrementa la frequenza cardiaca [2]. La dipendenza da cAMP è di particolare rilevanza fisiologica perché sta alla base della regolazione della frequenza cardiaca da parte del sistema nervoso autonomo, simpatico e parasimpatico. Una corrente simile, etichettata come I_h, è stata descritta anche in diversi tipi di neuroni, dove riveste una varietà di funzioni, incluso il controllo delle scariche ritmiche, la regolazione dell'eccitabilità neurale, la trasduzione dei segnali sensori, la plasticità sinaptica ed altro.

I determinanti molecolari della corrente I_f /I_h sono i canali HCN (Hyperpolarization activated Cyclic Nucleotide-gated). Nell'uomo i canali HCN sono codificati da 4 geni (HCN1-4), variamente espressi nel cuore e nel sistema nervoso. HCN4 è il sottotipo maggiormente espresso nel nodo del seno e ricapitola in modo abbastanza fedele le caratteristiche della corrente I_f, in termini di dipendenza dal voltaggio e sensibilità al cAMP. Mutazioni nel gene di HCN4 sono state identificate in pazienti con aritmie cardiache ereditarie, sia bradi- che tachicardici [3-5] e, più raramente, con sindrome di Brugada [6].

La corrente I_f è tipicamente alterata nella sindrome del seno malato, legata all'invecchiamento, che viene spesso trattata con l'impianto del pacemaker associato alla terapia farmacologica.

L'Ivabradina è un composto organico capace di bloccare selettivamente la corrente I_f [7] senza interferire sulle altre correnti ioniche che fluiscono durante il potenziale d'azione e viene utilizzata per ridurre la frequenza cardiaca nel trattamento dell'angina pectoris e dell'insufficienza cardiaca cronica. L'ivabradina agisce bloccando il poro dei canali HCN ed

è moderatamente selettiva per il sottotipo cardiaco HCN4 [8] ma non è esente da effetti collaterali dovuti all'espressione dei canali HCN anche in altri distretti. Conoscere la struttura molecolare dei canali HCN rappresenta pertanto il punto di partenza per lo sviluppo di farmaci isoforma-selettivi che possano alleviare diverse patologie sia genetiche che dovute a disfunzioni legate all' invecchiamento. La prima struttura ad alta risoluzione di un canale HCN è stata ottenuta nel 2019 per il sottotipo HCN1 [9]. Tale risultato ha permesso di definire le caratteristiche generali dei canali HCN, come la configurazione tetramerica e i domini che compongono la singola subunità ma non le diversità esistenti fra i sottotipi.

A tale scopo, abbiamo recentemente determinato la struttura atomica del canale HCN4 di coniglio (rbHCN4) utilizzando la tecnica innovativa della microscopia elettronica criogenica. I nostri risultati hanno consentito di identificare nella struttura di HCN4, importanti differenze con il sottotipo HCN1 che giustificano, almeno in parte, la diversa sensibilità al cAMP di questi due canali. La struttura di HCN4 è stata inoltre risolta da noi con il poro in configurazione sia aperta che chiusa. Tale risultato ci ha permesso di studiare con tecniche di chimica computazionale, la permeazione degli ioni sodio e potassio e di identificare le basi molecolari di selettività e conduttanza in questi canali. I nostri risultati aprono la possibilità di mettere a punto dei farmaci sottotipo-specifici per i canali HCN, allargando lo spettro degli interventi terapeutici anche al sistema nervoso centrale e periferico, dove i sottotipi HCN1 e HCN2 sono prevalentemente espressi.

2. Risultati

La struttura del canale HCN4 è stata ottenuta mediante la tecnica di microscopia elettronica criogenica (CryoEM) su singola particella. Le proteine HCN4 sono state purificate dalle cellule di mammifero HEK293T in due modi diversi, mediante detergenti (Lauryl Maltose Neopentyl Glycol (LMNG) e Cholesteryl Hemisuccinate (CHS)) e mediante polimeri anfifilici (Amphipols) con aggiunta o meno del ligando cAMP. Abbiamo risolto tre strutture, HCN4 in LMNG CHS in configurazione apo (senza cAMP legato), alla risoluzione di 3.2 Å (HCN4 APO/LC); HCN4 in Amphipols, in configurazione apo, 3.4 Å (HCN4 APO/AM) e HCN4 in LMNG CHS, in configurazione holo (con cAMP legato), 3.2 Å (HCN4 HOLO/LC). In *Fig. 1,* i pannelli A, B

e C mostrano rispettivamente le mappe di densità delle tre proteine che nella loro conformazione nativa, sono formate dall'interazione di quattro subunità identiche che si assemblano con simmetria tetramerica rispetto all'asse del poro. I pannelli D ed E mostrano invece il modello strutturale della proteina HCN4 (HOLO/LC) in forma dimerica (*Fig. 1D*) e monomerica (*Fig. 1E*) per facilitare la visualizzazione della disposizione in membrana delle subunità e dei domini che compongono il singolo monomero. La proteina si compone di sei domini transmembrana (S1-S6), che includono la sequenza del fitro di selettività (filter) e dei due domini citosolici, il dominio HCN (HCND) legato ad S1 e i domini C-linker + cyclic nucleotide binding domain (CNBD), legati all'S6. Il pannello F mostra invece un'interessante caratteristica della proteina, l'interazione del dominio in membrana S4-S5 e il C-linker citosolico, mediato dalla presenza di uno ione magnesio (sfera viola). Questa struttura, denominata "tetrade" è stata identificata nella proteina HCN4 ma non è presente nella struttura della proteina HCN1 (Lee and Mackinnon 2017). Sulla base di analisi biochimiche e funzionali, abbiamo verificato che la tetrade controlla la risposta del canale al cAMP e contribuisce ad aumentare la risposta di HCN4 al ligando.

Un altro risultato interessante è emerso dall'analisi della regione del poro. Il confronto delle strutture ha mostrato che due di esse, HCN4 APO/LC e APO/AM, presentano il poro in configurazione aperta, mentre la terza, HCN4 HOLO/LC, presenta il poro in configurazione chiusa. Come si vede dalla *Fig. 2A*, nel poro mostrato in blu, che corrisponde alla struttura di HCN4 HOLO/LC, le catene laterali degli amminoacidi del lato citosolico, Y507- Q519, restringono lo spazio interno, impedendo il passaggio delle molecole d'acque e degli ioni. Nel poro mostrato in verde invece, che appartiene alla struttura di HCN4 APO/AM, le stesse catene sono distanziate e l'accesso alla cavità dal lato citosolico è libero. In entrambe, la parte in grigio definisce il diametro interno della cavità. Il pannello B mostra un esperimento di docking in cui la molecola di ivabradina è presente all'interno della cavità nel caso di HCN4 APO/AM, rafforzando l'ipotesi che il poro si trovi in conformazione aperta. A conferma di tale ipotesi, abbiamo svolto simulazioni di dinamica molecolare (MD) sul poro del canale e abbiamo constatato che, come atteso, sia le molecole d'acqua (molecole rosse e bianche) che gli ioni K^+ (sfere blu) entrano nella cavità a livello del residuo Q519, indicato dalla freccia nera. Studi successivi di MD ci hanno permesso di identificare i siti di legame per gli ioni, sia K^+ che Na^+, a livello del fitro di selettività che si trova

all'altra estremità del poro, e che è formato dalla sequenza di aminoacidi cisteina, isoleucina, glicina, tirosina e glicina (CIGYG), come indicato in *Fig. 2E*. Ci sono tre possibili siti di legame per gli ioni, che vengono denominati a,b e c. La conduzione avviene per alternanza fra due stati in cui il filtro contiene o un solo ione (sito b) oppure due ioni (siti a e c) (*Fig. 2F*). Nel sito "b" sia lo ione potassio (blu) che lo ione sodio (giallo) si trovano sul piano dei carbonili, una situazione anomala, dato che i raggi ionici sono abbastanza diversi (1.33 and 0.95Å, rispettivamente) e che determina un riarrangiamento del filtro, osservato nelle simulazioni di dinamica molecolare (dati non mostrati).

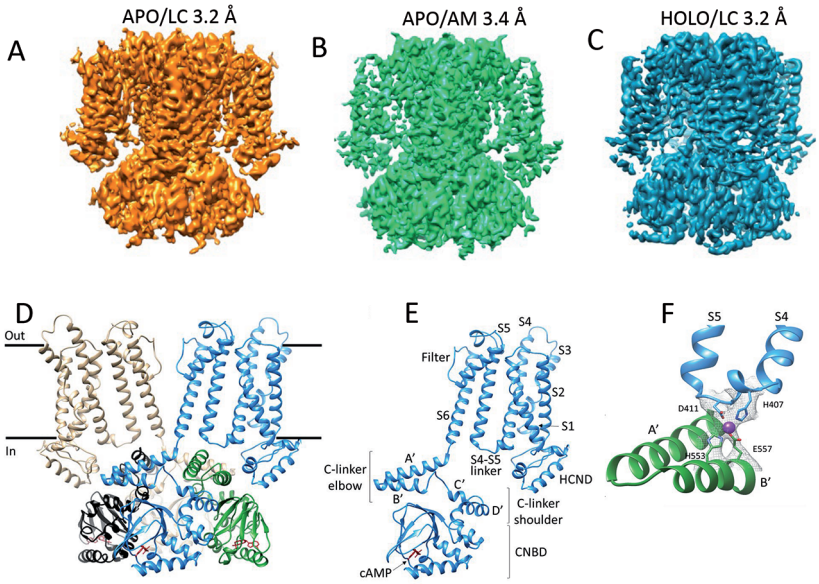


Fig. 1. Struttura di HCN4. A, B, C Struttura del tetramero del canale HCN4 nello stato non legato al cAMP (APO) (A,B) e legato (HOLO) (C), risolta in presenza di detergente (LC) e di amphipols (AM) alla risoluzione indicata (Å). D, Struttura del tetramero del canale HCN4 HOLO/LC di cui, per chiarezza, solo due subunità del tetramero sono mostrate per intero (magenta e blu), mentre per le altre due subunità (nero e verde) sono presentati solo i domini citosolici C-linker/CNBD. E, protomero di HCN4 HOLO/LC con elementi strutturali indicati (in inglese). F, Rappresentazione a nastro del linker S4-S5 di una subunità (blu) e del sottostante C-linker (eliche A'-B') della subunità adiacente (verde). Quattro residui che formano il sito di coordinazione degli ioni (tetrade) in HCN4 sono etichettati (H407, D411, H553, E557). Lo ione coordinato dalla tetrade è rappresentato come una sfera viola.

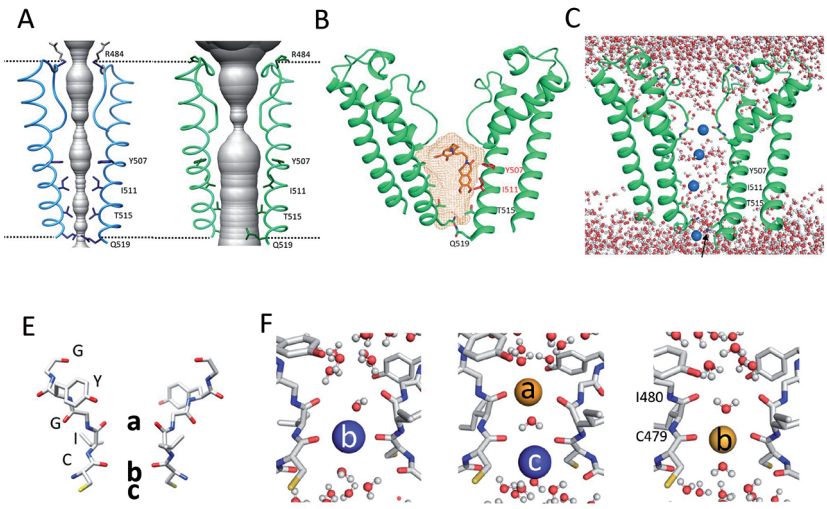


Fig. 2. Evidenze di apertura del poro e meccanismo di permeazione degli ioni nei canali HCN4. A, rappresentazione a nastro del dominio del poro di HCN4 HOLO/LC (blu) e G, HCN4 APO/AM (verde). Dal confronto si nota che nel poro APO/AM la rotazione nella parte inferiore di S6 riposiziona le catene laterali dei residui indicati lontano dalla cavità, allargando il percorso accessibile al solvente (grigio) dal lato citosolico (risultati identici sono stati ottenuti con APO/LC). Due subunità del tetramero sono mostrate per chiarezza. B, docking dell'ivabradina nel poro APO/AM. L'ivabradina entra nella cavità ed esplora diverse posizioni, compresa una in stretta vicinanza con Y507 e I511 (evidenziata in rosso). C, immagine rappresentativa dalla simulazione MD della struttura APO/AM. La conformazione del segmento S6 dal lato citosolico permette all'acqua e agli ioni K+ di entrare nella cavità interna del poro. D, il filtro di selettività di un poro aperto HCN4 (APO/LC). La sequenza ^{479}CIGYG^{484} è indicata di fianco ai corrispettivi residui; a,b e c indicano i tre siti di legame degli ioni identificati dalla simulazione MD mostrata in (F). F, istantanee della simulazione MD che mostrano la posizione degli ioni K^+ (blu) e Na^+ (giallo). I residui C479 e I480 sono indicati.

3. Discussione e conclusioni

In questo lavoro presentiamo tre strutture cryo-EM del canale pacemaker HCN4 a risoluzione quasi atomica da cui ricaviamo nuove informazioni sulla funzione del canale HCN in generale e sulle caratteristiche sottotipo-specifiche in particolare.

Le strutture evidenziano un meccanismo molecolare, probabilmente unico per HCN4, che agisce come facilitatore dell'effetto cAMP

e che si trova tra la porzione solubile del canale (C-linker) e la porzione transmembrana (VSD). Così, in HCN4, ma non in HCN1, un sito di coordinazione degli ioni metallici, a cui ci riferiamo come "la tetrade", collega il dominio transmembrana di una subunità al dominio citosolico della subunità vicina.

Una secondo importante risultato del presente studio è l'aver ottenuto strutture con pori aperti e chiusi. Simulazioni di dinamica molecolare e dati di docking supportano pienamente la nozione di un poro aperto nelle strutture HCN4 presentate qui.

In sintesi, i nostri dati strutturali e funzionali permettono di comprendere il meccanismo di gating dei canali HCN, della modulazione dipendente dal nucleotide ciclico e della permeazione ionica. L'identificazione dei correlati struttura-funzione del canale HCN e l'apprezzamento delle differenze sottotipo-specifiche, aprirà la strada alla progettazione di farmaci più selettivi per il trattamento farmacologico di disturbi cardiaci e neurologici determinati dal malfunzionamento dei canali HCN.

BIBLIOGRAFIA

1. Brown HF, DiFrancesco D, Noble SJ. How does adrenaline accelerate the heart? *Nature* 1979, 280(5719):235-6.
2. DiFrancesco D, Tortora P. Direct activation of cardiac pacemaker channels by intracellular cyclic AMP. *Nature*, 1991 351(6322):145-7.
3. DiFrancesco D. Funny channel gene mutations associated with arrhythmias. *J Physiol*. 2013, 591(17):4117-24.
4. Nof E, Luria D, Brass D, Marek D, Lahat H, Reznik-Wolf H, Pras E, Dascal N, Eldar M, Glikson M. Point mutation in the HCN4 cardiac ion channel pore affecting synthesis, trafficking, and functional expression is associated with familial asymptomatic sinus bradycardia. *Circulation*, 2007, 116(5):463-70.
5. Servatius H, Porro A, Pless SA, Schaller A, Asatryan B, Tanner H, de Marchi SF, Roten L, Seiler J, Haeberlin A, Baldinger SH, Noti F, Lam A, Fuhrer J, Moroni A, Medeiros-Domingo A. Phenotypic Spectrum of *HCN4* Mutations: A Clinical Case. *Circ Genom Precis Med*. 2018, 11(2):e002033.
6. Lippi G, Montagnana M, Meschi T, Comelli I, Cervellin G. Genetic and clinical aspects of Brugada syndrome: an update. *Adv Clin Chem*. 2012, 56:197-208.
7. Bucchi A, Baruscotti M, DiFrancesco D. Current-dependent block of rabbit sino-atrial node I(f) channels by ivabradine. *J Gen Physiol*. 2002, 120(1):1-13.
8. Bucchi A, Tognati A, Milanesi R, Baruscotti M, DiFrancesco D. Properties of ivabradine-induced block of HCN1 and HCN4 pacemaker channels. *J Physiol*. 2006, 572(Pt 2):335-46.
9. Lee CH, MacKinnon R. Structures of the Human HCN1 Hyperpolarization-Activated Channel. *Cell* 2017, 168(1-2):111-120.

Istituto Lombardo (Rend. Scienze) 155, 169-196 (2021)

LA LEGGE GRAVITAZIONALE DELL'INVERSO DEL QUADRATO NEI PRINCIPIA DI NEWTON

Nota del s.c. ANTONIO GIORGILLI (*) e NICCOLÒ GUICCIARDINI (**)

(Adunanza del 21 ottobre 2021)

Sunto. – Si propone una rilettura della sezione IX, libro I dei *Principia* di Newton e delle sezioni del libro III in cui si pone il problema dell'accuratezza della legge gravitazionale dell'inverso del quadrato. Si mostra come il problema sia stato ampiamente trattato, e sostanzialmente risolto, da Newton stesso. In particolare si mette in evidenza la connessione con il ben noto *Teorema di Bertrand*, che affronta lo stesso problema in termini più astratti e facendo uso degli strumenti dell'Analisi. Si osserva però che gran parte della dimostrazione di Bertrand è sostanzialmente contenuta nei *Principia*.

* * *

Abstract. – We revisit the question concerning the accuracy of the inverse-square gravitational law, as raised in section IX, book I of Newton's *Principia*, and in some sections of book III. We argue that the problem has been thoroughly discussed and basically solved by Newton himself. We point out in particular the relations with the well-known *Bertrand's theorem*. Bertrand approached the same problem in more abstract terms. We remark, however, that much of Bertrand's proof is essentially contained in *Principia*.

1. Introduzione

Si legge spesso, in particolare nei nostri testi di Meccanica, che Newton dedusse la legge di gravitazione universale a partire dalla tre leggi di Kepler.

(*) Istituto Lombardo Accademia di Scienze e Lettere, Milano. Università degli Studi di Milano, Italy. E-mail: antonio.giorgilli@unimi.it

(**) Università degli Studi di Milano, Italy. E-mail: niccolo.guicciardini@unimi.it

Certamente, le leggi di Kepler giocano un ruolo importante nei *Principia*, e l'esposizione che troviamo nei nostri testi fa appello alle prime sezioni, fino all'ottava, del trattato di Newton. È meno conosciuto il fatto che Newton dimostrò un teorema notevole al fine di stabilire l'accuratezza della legge dell'inverso del quadrato.[1]

Nella prima metà del secolo XVIII la validità della legge di gravitazione newtoniana era argomento di discussione. In breve, possiamo ricordare due fatti, del resto noti a Newton stesso. Il primo è la precessione del perielio dell'orbita lunare: l'orbita non ha forma ellittica. Il secondo è la cosiddetta 'grande ineguaglianza' nei moti di Giove e Saturno: già Kepler, confrontando i suoi calcoli con le osservazioni dei secoli precedenti, aveva notato che Giove sembra accelerare e Saturno sembra rallentare; si può trovare un breve resoconto in [6]. Ambedue i problemi sono stati ampiamente discussi, e non sono mancati i tentativi di correggere la legge di gravitazione. Ad esempio, Clairaut nei suoi studi sul moto della Luna suggeriva di aggiungere al termine newtoniano un termine $1/r^4$, o eventualmente altre potenze, determinando i coefficienti tramite le osservazioni [4]; un'ipotesi respinta in seguito da lui stesso. Quasi due secoli dopo Newton il problema della dipendenza della legge di gravitazione dall'inverso del quadrato venne ripreso da Joseph Louis François Bertrand, in forma astratta e facendo uso dei metodi dell'analisi; le sue conclusioni sono oggi note come 'teorema di Bertrand', frequentemente citato nei trattati di Meccanica Celeste [1].

Ciò che è meno noto è che l'accuratezza della legge dell'inverso del quadrato è stata ampiamente discussa, e sostanzialmente dimostrata, dallo stesso Newton. In questo articolo proponiamo alcune informazioni sul contesto storico in cui Newton ha dimostrato il teorema e ne offriamo una nuova versione analitica comprensibile ai matematici dei giorni nostri. Il linguaggio matematico che utilizzeremo non era disponibile a Newton, ma la nostra dimostrazione ricalca in modo piuttosto fedele quanto si può leggere nei *Principia*. Speriamo con questo articolo di favorire la lettura di un classico della storia della scienza da parte dei matematici a noi contemporanei.

[1] Su questo ha insistito spesso George Smith, per esempio in [21].

2. Il contesto storico

2.1 La mela di Newton

Secondo una versione basata su ricordi senili di Newton — ricordi tramandati dai suoi corrispondenti e primi biografi, come John Conduitt, William Stukeley, Bernard le Bovier de Fontenelle — il giovane Isaac, allora studente a Cambridge, avrebbe concepito la teoria della gravitazione durante l'isolamento dovuto al diffondersi della peste in Inghilterra, quindi nel 1665, in seguito all'osservazione della caduta di una mela.[2] Effettivamente, i manoscritti che ci sono pervenuti mostrano come Newton si sia posto, negli anni 1665-1669, domande relative al moto della Luna e dei pianeti.

Va però subito detto che i manoscritti giovanili di mano newtoniana concernenti la matematizzazione del sistema solare sono veramente pochissimi: qualche riga nella prima pagina del cosiddetto 'Waste Book' (MS Add. 4004, fol. 1r), qualche conto piuttosto confuso sul retro di un documento legale in pergamena (MS Add. 3958, fol. 45v), e due pagine di appunti scritti con una grafia nitida e con poche correzioni (MS Add. 3958, fol. 87r-v). A questi è possibile aggiungere delle note sul moto dei corpi, sempre nel 'Waste Book' (MS Add. 4004, fols. 10-15, 38v). È molto difficile interpretarli con una qualche certezza. È possibile leggere in questi manoscritti una anticipazione della teoria matura dei *Principia* proprio perché, vista la loro brevità, è possibile completare e correggere quello che troviamo scritto da uno studente che prende appunti per sé stesso, più che per farsi capire da un lettore. Tuttavia, sembra a molti una grave forzatura leggere la teoria della gravitazione universale nei manoscritti giovanili newtoniani degli anni Sessanta del Seicento. Diamo una veloce occhiata a questi testi un po' enigmatici.[3]

Dallo studio dei (pochi) manoscritti giovanili dedicati al moto dei corpi e dei pianeti si ricava che Newton pensava, con Cartesio, che il moto circolare uniforme desse luogo a un 'conato a recedere dal centro' (*conatus a centro*), una sorta di forza centrifuga (*the force by which it endeavours from the center*), che deve essere controbilanciato da un 'conato' verso il

[2] Un'antologia commentata di biografie newtoniane settecentesche è [13].

[3] Tutti i manoscritti citati sono custoditi alla Cambridge University Library e sono facilmente accessibili on line alla sezione 'Newton Papers' della Cambridge Digital Library, https://cudl.lib.cam.ac.uk/collections/newton/1. Un'edizione consistente in una trascrizione, traduzione e commento è [11].

centro per mantenere il corpo a distanza costante dal centro stesso (per es. vedi MS Add. 4004, fol. 11v, in [11], pp. 146-7).

Con un semplice ragionamento geometrico, probabilmente già nel 1665, Newton dimostra, indipendentemente da Christiaan Huygens, che nel moto circolare uniforme il 'conato' centrifugo è proporzionale al quadrato della velocità e inversamente proporzionale al raggio dell'orbita circolare (MS Add. 4004, fol. 1r in [11], pp. 129-130). Questo risultato, che qui abbiamo formulato in termini moderni, verrà utilizzato da Newton negli anni seguenti, e resterà fondamentale anche nei *Principia*, dove però egli si riferisce a una 'forza centripeta' come causa del moto circolare uniforme.

In alcuni manoscritti giovanili risalenti alla seconda metà degli anni Sessanta (MS Add. 3958, fol. 45v (1665-6?) e MS Add. 3958, fol. 87r-v (1669?), in [11], pp. 183-191 e 193-195) Newton mette in relazione la gravità col moto circolare per rispondere ad una vecchia obiezione anticopernicana secondo la quale se la Terra ruotasse attorno al proprio asse allora la forza centrifuga scaglierebbe i corpi posti sulla superficie terrestre verso l'alto. Newton mostra che all'equatore terrestre la tendenza a recedere dal centro della Terra dovuta alla rotazione giornaliera (*conatus recedendi a centro*) è molto inferiore rispetto alla tendenza a muoversi verso il centro della Terra dovuta alla gravità (*conatus accedendi ad centrum virtute gravitatis*). E quindi 'la gravità impedisce che la rotazione della Terra causi l'allontanamento dei corpi e che essi salgano in alto nell'aria' ([11], p. 194).

Sempre in uno di questi manoscritti vergato con ogni probabilità alla fine degli anni Sessanta, vi è un passo in cui Newton compara la gravità dei corpi sulla superficie terrestre alla tendenza della Luna a recedere dal centro della sua orbita attorno alla Terra. Sulla base dei dati (erronei) in suo possesso Newton ottiene che la forza di gravità alla superficie terrestre è più di 4.000 volte maggiore rispetto alla tendenza della Luna a recedere dalla Terra (MS Add. 3958, fol. 87r-v in [11], p. 194). Forse Newton stava pensando alla gravità come ad una forza la cui intensità varia con l'inverso del quadrato della distanza, che si estende dalla Terra fino alla Luna (la cui distanza dalla Terra è pari a circa 60 raggi terrestri), e che controbilancia la tendenza della Luna a recedere dal centro della sua orbita?

Infine, Newton assume che le orbite planetarie siano circolari. Usando la legge 'di Huygens' per la determinazione del 'conato' centrifugo dei pianeti (*conatus a sole recedendi*) e la terza legge di Kepler, deduce che la tendenza dei pianeti a recedere dal Sole è inversamente proporzionale al quadrato della distanza dal Sole (MS Add. 3958, fol. 87v in [11], p. 195).

Che Newton fosse arrivato alla conclusione che la gravità varia con l'inverso del quadrato della distanza lo si può solo sostenere forzando i testi a nostra disposizione. Si noti che Newton nei manoscritti giovanili non prende in considerazione la seconda legge di Kepler e non dice che la gravità è una forza universale grazie alla quale tutti i corpi si attraggono mutualmente. Inoltre, Newton sembra considerare con favore la possibilità che i moti dei pianeti siano dovuti a vortici di materia sottile in rotazione attorno al Sole, una concezione cartesiana che due decenni più tardi egli rifiuterà nettamente come incompatibile con la teoria della gravitazione esposta nei *Principia*. Per esempio, in alcuni marginalia (1670 ca.) nella sua copia (Trinity College, Cambridge, NQ. 18.36) della *Astronomia Britannica* (London, 1669) di Vincent Wing Newton spiega la deviazione dell'orbita della Luna dalla sua orbita ellittica come dovuta al vortice circumsolare. Ancora nel 1681, nella corrispondenza con l'astronomo reale John Flamsteed, Newton parla dei moti delle comete come influenzati dai vortici di materia responsabili dei moti planetari ([17], p. 341). Il carattere poco sistematico di queste notazioni newtoniane sui vortici planetari non autorizza conclusioni certe sull'adesione di Newton alla teoria dei vortici, ma l'evidenza dei documenti a nostra disposizione scoraggia una retrodatazione della scoperta della teoria della gravitazione a prima degli anni Ottanta.

Senza dubbio il documento più importante per valutare le idee di Newton sulla gravità antecedenti un carteggio con Hooke a cui dedichiamo la prossima sezione è un importante saggio sulla natura della luce inviato nel dicembre del 1675 a Henry Oldenburg, segretario della Royal Society. Newton specula sulla gravità come dovuta a un etere diffuso nel sistema planetario. Lo 'spirit' che causa la gravitazione, spiega Newton, non è il 'main body of the flegmatic aether', ma qualcosa di più sottile di una natura 'untuosa, appiccicosa, tenace e elastica' (*unctuous, gummy, tenacious and springy nature*). Questo spirito sottile e untuoso discende rapidamente e si condensa nei 'pori della Terra', trascinando con sé i corpi che incontra. Newton aggiunge:

> *And, as the Earth, so perhaps may the Sun imbibe this Spirit copiously, to conserve his Shineing, & keep the Planets from receding further from him. And they that will, may also suppose, that this Spirit affords or carryes with it thither the solary fewel & material Principle of Light; And that the vast æthereal Spaces between us & the stars are for a sufficient repository for this food of the Sunn & Planets.* [16], p. 366.

Ci sembra quindi di poter concludere che, nonostante l'interesse di questi manoscritti giovanili, il giovane studente davanti al famoso melo fosse ancora lontano dall'aver concepito la teoria della gravitazione. La teoria della gravitazione non si costruisce in un singolo 'momento Eureka'. La teoria della gravitazione — e aggiungeremmo anche l'idrostatica di Archimede — richiede uno sforzo concettuale e di calcolo che non permette facili scorciatoie. Il che emergerà molto chiaramente in questa nota. La strada che porta Newton alla gravitazione universale è tortuosa ed è affascinante ripercorrerla, seppur brevemente.

Si deve in primo luogo osservare che Newton non è una mente isolata che si interroga sull'universo che si estende all'infinito, non è — come vuole William Wordsworth — un genio isolato. Il poeta ricorda l'immagine quasi inquietante che gli evocava la statua del grande scienziato collocata nell'anti-cappella di Trinity College:

'And from my pillow, looking forth by light
Of moon or favoring stars, I could behold
The antechapel where the statue stood
Of Newton, with his prism and silent face,
The marble index of a mind forever
Voyaging through strange seas of thought, alone'.

L'Inghilterra in cui si forma il giovane studente proveniente dal Lincolnshire è dominata da pensatori, come Francis Bacon, William Gilbert e Henry More, che concepiscono la Natura come non riducibile a forze puramente meccaniche, ai corpuscoli e agli urti della 'filosofia meccanica', difesa da Cartesio e da Hobbes. Le interazioni fra i corpi possono avvenire, secondo questi pensatori anti-cartesiani, grazie ad attrazioni e repulsioni a distanza, grazie quindi a forze che in qualche modo dotano la materia di 'poteri attivi'.[4]

Durante gli studi a Cambridge Newton legge con attenzione questi pensatori e condivide, forse anche per scrupoli religiosi, il loro atteggiamento anti-cartesiano e anti-hobbesiano, un atteggiamento che apre la strada a una visione della Natura come non retta da leggi puramente meccaniche. Newton, quindi, non è una mente isolata: è un pensatore che si forma intellettualmente leggendo le opere dei suoi contemporanei, opere che ispirano la sua nuova teoria del moto dei pianeti. È un grande

[4]Sugli argomenti trattati in questa e nella prossima sezione, ci permettiamo di riferire il lettore a [9].

sperimentatore inglese, di poco più anziano, a dargli un suggerimento importante relativo alle cause dei moti planetari. Questo importante filosofo della natura risponde al nome di Robert Hooke.

2.2 Il ruolo di Hooke

Hooke aveva iniziato la sua brillante carriera scientifica come collaboratore di Robert Boyle, col quale realizzò alcuni importanti esperimenti con la pompa a vuoto. Nel novembre del 1679 Hooke, appena eletto segretario della Royal Society, scrisse una breve e conciliante lettera a Newton nella quale manifestava l'intenzione di riallacciare i contatti deterioratisi durante la polemica sull'*experimentum crucis* di qualche anno prima e per proporgli una sua ipotesi sul moto dei pianeti. L'ipotesi in questione non era una novità: era già stata in parte comunicata da Hooke in alcune lezioni tenute alla Royal Society nel 1666 e nel 1670, e poi pubblicata nel 1674 in calce a un saggio intitolato *An Attempt to Prove the Motion of the Earth from Observations* dedicato alle sue osservazioni astronomiche volte a rilevare la parallasse stellare [2] [12]. Hooke proponeva all'attenzione dei suoi lettori un 'Sistema del Mondo' che differiva 'in molti dettagli da quelli finora conosciuti' e che era in accordo con le 'regole della meccanica'. Il nuovo sistema hookeano dipendeva da tre 'supposizioni'.

La prima era che tutti i corpi celesti sono dotati di un'attrazione o 'potere di gravitazione' verso i propri centri grazie al quale essi attraggono non solo le proprie parti ma anche gli altri corpi celesti 'all'interno della loro sfera di attività'. Sembra che Hooke pensasse a questa sfera di attività come finita. La seconda supposizione era che tutti i corpi si muovono in linea retta di moto uniforme fino a quando non sono deflessi da 'qualche potenza . . . in un cerchio, un'ellisse, o una curva più complessa'. La terza supposizione era che i 'poteri gravitazionali' sono più 'potenti' vicino ai centri di attrazione. Hooke descriveva il modo in cui i pianeti del sistema solare sarebbero attratti dal potere gravitazionale del Sole e come essi si attraggano l'un l'altro influenzando 'in modo considerevole' i propri moti, ed auspicava che gli astronomi si dedicassero alla determinazione della legge di variazione dei poteri gravitazionali in modo da ridurre 'tutti i moti celesti ad una regola certa'.

Dal carteggio fra Hooke e Newton intercorso fra il 1679 e il 1680 si evince che queste tre supposizioni colsero il professore lucasiano del tutto impreparato. Come sappiamo, fino ad allora Newton aveva pensato il moto dei pianeti in termini che presentano alcune analogie con la dottrina cartesiana: il moto di rivoluzione dei pianeti attorno al Sole genererebbe

un conato centrifugo (una tendenza dei pianeti ad allontanarsi dal Sole) controbilanciato da una forza diretta verso il Sole. La forza diretta verso il Sole sarebbe generata da un etere che riempie lo spazio, come aveva ribadito in una famosa lettera indirizzata a Boyle nel febbraio 1679.[5]

È notevole come Hooke comprenda che le interazioni gravitazionali fra il Sole e i pianeti sono reciproche: si intuisce da quello che egli scrive che proprio per questo motivo le orbite planetarie sono irregolari, non sono dei semplici cerchi o ellissi, ma delle 'curve più complesse' (*some other more compounded Curve Line*). Hooke scrive:

> *all Cœlestial Bodies whatever, have an attraction or gravitating power towards their own Centers, whereby they attract not only their own parts, and keep them from flying from them, as we observe the Earth to do, but that they do also attract all other Cœlestial Bodies that are within the sphere of their activity; and consequently not only the Sun and Moon have an influence upon the body and motion of the Earth , and the Earth upon them, but that ☿ also ♀, ♂, ♃, and ♄ by their attractive powers, have considerable influence upon its motion as in the same manner the corresponding attractive power of the Earth hath a considerable influence upon every one of their motion also.* ([12], p. 28)

L'intuizione fisica di Hooke sembra formidabile. Siamo di fronte alla prima intuizione delle perturbazioni planetarie dovute alla reciproca interazione gravitazionale fra i corpi del sistema solare? Forse interpretiamo le sue affermazioni alla luce della teoria della gravitazione sviluppata da Newton qualche anno più tardi.

È certo che il carteggio con Hooke squarciò un velo davanti agli occhi di Newton consentendogli di vedere molto lontano. Dall'evidenza documentaria che è a disposizione degli storici non è chiaro, però, fino a che punto Newton si sia spinto nel 1680. Secondo alcuni egli sarebbe già allora giunto ad un abbozzo della teoria della gravitazione. Secondo altri le cose non stanno così.

2.3 Verso i Principia

Comunque sia, siamo certi che nel dicembre del 1684 Newton aveva in mano una dimostrazione del fatto che le prime due leggi di Kepler implicano che un 'corpo' è attratto verso un fuoco da una forza che varia con l'inverso del quadrato della distanza. Questa dimostrazione si trova in un

[5] Newton a Boyle (28 febbraio 1679) in [17], pp. 288-96.

manoscritto, intitolato *De motu corporum in gyrum*, che Newton inviò a Edmond Halley (MS Add. 3965.7, fols. 55r-62r). In questo breve trattatello Newton affronta il problema del moto di un 'corpo' in un 'campo di forze centrali' (come diremmo oggi). Egli, in primo luogo, dimostra che la legge delle aree vale se e solo se il corpo è attratto (o respinto) da una forza centrale. Successivamente, dimostra che, se l'orbita è ellittica e la legge della aree vale per un fuoco S, allora la forza varia con l'inverso del quadrato della distanza dal fuoco S.

Newton intuì subito l'importanza di questo risultato matematico per la matematizzazione dei moti del sistema planetario e certamente a questo punto capì che l'intuizione di Hooke era fondata. Una forza gravitazionale che varia con l'inverso del quadrato poteva essere identificata come la causa dei moti planetari. Ma Newton era ben consapevole che il modello a un corpo del *De motu* era solo una semplificazione della realtà. Egli non poteva aver dimenticato la formidabile intuizione di Hooke sulle perturbazioni delle orbite planetarie. Newton dimostra presto che in un sistema a due corpi la terza legge di Kepler deve essere modificata. Infine, se la gravitazione è una forza universale le prime due leggi di Kepler non possono valere per un sistema a tre corpi, come il sistema Terra-Sole-Luna.

In un trattatello di poco successivo a quello inviato a Halley, intitolato 'De motu sphæricorum corporum in fluidis' (MS Add. 3965.7, fols. 40r-54r), leggiamo:

> *Cæterum totum cœli Planetarij spatium vel quiescit (ut vulgò creditur) vel uniformiter movetur in directum et perinde Planetarum commune centrum gravitatis (per Legem 4) vel quiescit vel una movetur. Utroque in casu motus Planetarum inter se (per Legem 3) eodem modo se habent, et eorum commune centrum gravitatis respectu spatij totius quiescit, atque adeo pro centro immobili systematis totius Planetarij haberi debet. Inde verò systema Copernicæum probatur a priori. Nam si in quovis Planetarum situ computetur commune centrum gravitatis hoc vel incidet in corpus solis vel ei semper proximum erit. Eo solis a centro gravitatis errore fit ut vis centripeta non semper tendat ad centrum illud immobile et inde ut planetæ nec moveantur in Ellipsibus exactè neque bis revolvant in eadem orbita. Tot sunt orbitæ Planetæ cujusque quot revolutiones, ut fit in motu Lunæ et pendet orbita unaquæque ab omnium Planetarum motibus conjunctis, ut taceam eorum omnium actiones in se invicem. Tot autem motuum causas simul considerare et legibus exactis calculum commodum admittentibus motus ipsos definire superat ni fallor vim omnem humani ingenij.* (fol. 4r).

Newton ha quindi subito chiare due idee. In primo luogo, per sviluppare un approccio matematico ai moti planetari basato sulla teoria della gravitazione universale non basta il modello a due corpi: bisogna almeno affrontare il problema a tre corpi. In particolare Newton ha in mente il moto della Luna, così importante per la determinazione della longitudine in mare. In secondo luogo, il metodo matematico cercato non può essere un calcolo facile (*commodum*), basato su leggi esatte. Una buona parte dei *Philosophiæ naturalis principia mathematica* (in breve i *Principia*), che vedono la luce pochi anni dopo, nel 1687, è dedicata proprio alla teoria matematica delle perturbazioni planetarie.

I *Principia* sono divisi in tre libri e si aprono con le celebri definizioni e le le tre 'leggi o assiomi' del moto. Nel Libro I, dopo aver posto i fondamenti del metodo dei 'primi e ultimi rapporti' — una sorta di metodo geometrico dei limiti — nella prima sezione, Newton procede nelle Sezioni 2 e 3 a esporre il modello a un corpo. Qui egli dimostra (Proposizioni 11-13. Sezione 3) che se un corpo si muove lungo una sezione conica e la legge delle aree vale per un fuoco, allora la forza è centrale, diretta verso un fuoco, e varia con l'inverso del quadrato della distanza. Nelle Sezione 4 e 5 vengono dimostrate una serie di interessantissime proposizioni relative alle coniche. Nella Sezione 6 viene affrontato il problema di Kepler (ovvero la determinazione approssimata della posizione in funzione del tempo di un pianeta che si muove lungo un'ellisse quando vale la legge delle aree). Nelle Sezioni 7 e 8 Newton riduce a quadratura il problema della determinazione della traiettoria di un corpo accelerato da una generica forza centrale (il caso preso in considerazione è quello di una forza che varia con l'inverso del cubo della distanza).

È nella Sezione 9 che Newton comincia ad affrontare il problema delle perturbazione delle orbite ellittiche. Chiaramente, egli ha in mente il moto della Luna, che sembra orbitare attorno alla Terra lungo una ellisse dotata di un moto di precessione. L'apogeo lunare infatti non è fisso ma è soggetto a un lento moto di precessione. Newton dimostra che, nel caso di orbite ellittiche con una ellitticità vicina a zero, la precessione può essere attribuita a un piccolo discostamento dalla legge dell'inverso del quadrato.

Questo risultato, a cui dedichiamo questa nota, ha una notevole importanza per la dimostrazione della gravitazione universale. Infatti, quando, nel Libro III dei *Principia*, Newton dimostra la legge dell'inverso del quadrato a partire dai fenomeni planetari, cita la quiescenza degli afeli come la miglior dimostrazione della dipendenza della legge di gravitazione

dall'inverso del quadrato della distanza. Un piccolo discostamento dall'esponente 2 porterebbe, in virtù dei risultati ottenuti nella Sezione 9 del Libro I (Proposizioni 43-45) a una precessione degli afeli planetari facilmente osservabile. Si deve sottolineare che la dimostrazione che le orbite ellittiche implicano la legge dell'inverso del quadrato (Proposizione 11, Libro I) è di poca utilità, dato che le orbite planetarie sono quasi circolari e possono essere approssimate da curve non ellittiche (per esempio le orbite proposte da Gian Domenico Cassini).

Newton, nel terzo libro, non dimostra la legge di gravitazione a partire dalla orbite ellittiche dei pianeti. Piuttosto, assume che le orbite siano circolari e in forza della terza legge di Kepler deduce la legge dell'inverso del quadrato. Si tratta di una dimostrazione semplicissima, che — come sappiamo — Newton aveva già ottenuto in gioventù, e che egli espone nella Proposizione 4 del Libro I. Ma poi Newton, nella Proposizione 2, del Libro III, scrive:

> *Vires, quibus Planetæ primarii perpetuo retrahuntur a motibus rectilineis, & in Orbibus suis retinentur, respicere Solem, & esse reciproce ut quadrata distantiarum ab ipsius centro.*
>
> [. . .] *Accuratissime autem demonstratur hæc pars [pars posterior] propositionis per quietem apheliorum. Nam aberratio quam minima a ratione duplicata (per corol. 1. prop. xlv. lib. i.) motum apsidum in singulis revolutionibus notabilem, in pluribus enormem efficere deberet. [15], p. 395–396.*

Ecco perché è così importante conoscere la Proposizione 45 del Libro I: è in forza di questo elegante risultato matematico che Newton ottiene una dimostrazione 'accuratissima' della legge dell'inverso del quadrato.

3. Geometria e calcolo: una possibile lettura dei Principia

Prima di procedere, è opportuno premettere qualche osservazione sul linguaggio decisamente anacronistico che adotteremo, un linguaggio basato sul calcolo che è ben lontano da quello utilizzato da Newton nei *Principia*.

Va detto che utilizzare un linguaggio anacronistico, ovvero non accessibile agli autori del passato, non deve essere visto come un delitto commesso contro le regole del metodo storico. In un certo senso, utilizzare il

linguaggio familiare a un matematico dei giorni nostri è inevitabile. Guardiamo sempre al passato da un punto di vista situato nel nostro presente. Inoltre, una trattazione condotta con un linguaggio in uso oggi può favorire l'accesso ai testi del passato da parte di matematici attivi nella ricerca e nell'insegnamento. Favorire il dialogo fra storici e matematici ha un valore che non deve essere sottostimato.[10]

Certamente, la traduzione del linguaggio matematico di Newton nel nostro comporta alcuni rischi di cui dobbiamo essere consapevoli. Spesso, le traduzioni proiettano sugli autori del passato concetti e metodi che non facevano parte della loro cultura matematica, una cultura che lo storico cerca — per quanto possibile – di ricostruire.

In verità, l'interpretazione storica dei testi matematici del passato è sempre frutto di un processo di 'fusione' fra il nostro presente e l' 'altro presente', per usare un termine di Giulio Preti ripreso da Paolo Rossi, degli attori storici.[19] Leggere un autore del passato implica un lavoro di traduzione che oscilla sempre fra un momento di 'familiarizzazione', in cui riscriviamo il testo nel nostro linguaggio, e un momento di 'distanziamento', in cui apprezziamo l'alterità del testo.

Tale alterità, tale lontananza, dipende dal fatto che la matematica del passato è stata praticata con obiettivi, accettando criteri di dimostrazione, e infine intendendo la disciplina stessa — che cosa insomma si intende per 'matematica' — secondo prospettive molto diverse dalla nostra, prospettive che sono situate in culture, appunto, lontane dal nostro presente. Non dobbiamo dimenticare che Newton non avrebbe definito sé stesso come uno 'scienziato', ma piuttosto come un 'filosofo della natura'.

Ma quali erano i metodi matematici adottati da Newton? In cosa differiscono dai nostri? Non possiamo rispondere qui a queste domande. Il discorso che dovremmo sviluppare sarebbe troppo complesso. Limitiamoci alle due seguenti osservazioni.

I metodi matematici dei Principia *newtoniani sono geometrici*. Chi sfoglia le prime tre sezioni dell'opera di Newton non può non rimanere sorpreso dall'assenza di una formula come $F = ma$ e dall'abbondanza di diagrammi geometrici, spesso molto complessi. Eppure, la geometria di Newton non è la geometria di Euclide, Apollonio o Archimede: è una geometria concepibile solo da chi, come Newton, ha contribuito in modo fondamentale alla scoperta del calcolo.

I metodi matematici dei Principia *newtoniani non sono solo geometrici*. Chi ha il coraggio di sfogliare le sezioni più avanzate dell'opera di Newton trova serie infinite, metodi di interpolazione, quadrature (ov-

vero, diremmo oggi, integrazioni). Per affrontare gli ardui problemi di Meccanica Celeste trattati nel Libro III, Newton aveva bisogno di metodi che forniscono predizioni numeriche (per esempio sulla precessione degli equinozi o sui moti delle comete) da confrontare con le osservazioni astronomiche. Tali metodi sono spesso simbolici, non geometrici.

Fatta questa doverosa premessa, passiamo ad un'analisi della dimostrazione di Newton di quello che oggi chiamiamo 'teorema di Bertrand'.

4. Il teorema di Newton sulle orbite soggette a precessione

La sez. IX dei *Principia* contiene un teorema, citato da Whittaker come *Newton's theorem on revolving orbits*.[6] Si tratta di un risultato notevole, ma poco noto. Chandrasekhar in [3] osserva che tra i testi più comuni di Meccanica Celeste non si trovano riferimenti al teorema di Newton, fatta eccezione per il solo trattato di Whittaker [23]; a questo possiamo aggiungere il trattato classico di Tisserand [20], e qualche raro articolo più recente [14][22][21]. Si tratta in realtà di un teorema molto rilevante al fine di stabilire l'accuratezza della legge dell'inverso del quadrato.

Newton enuncia il problema nel modo seguente:

> *Efficiendum est ut corpus in trajectoria quacunque circa centrum virium revolvente perinde moveri possit, atque corpus aliud in eadem trajectoria quiescente.*

Possiamo enunciare il problema in una forma a noi più abituale riferendoci alla *Fig. 1*. Supponiamo che un corpo, inizialmente in A, percorra un'orbita piana AP, rispettando la legge delle aree rispetto al centro O. Sia $\theta = \widehat{AOP}$ l'angolo descritto dal corpo dopo un tempo Δt. Supponiamo poi che una seconda orbita $A'P'$ coincida inizialmente con AP, ma nello stesso intervallo di tempo Δt ruoti rigidamente intorno a O di un angolo $\delta = \widehat{AOA'}$ proporzionale a θ; nel frattempo il punto P', inizialmente in $A = A'$, descrive l'angolo $\theta = \widehat{A'OP'}$. Nel nostro linguaggio, facendo uso di coordinate polari con origine in O, denotiamo con

[6] Nel testo latino Newton usa 'in orbibus mobilibus' che viene tradotto da Motte 'in movable orbits'. La traduzione italiana letterale adottata da Alberto Pala nell'edizione UTET [[18]] è 'lungo orbite mobili', ma preferiamo rendere con 'in orbite soggette a precessione' al fine di mettere in evidenza che si tratta di un movimento di rotazione; del resto Newton stesso scrive 'corpus . . . movebitur in perimetro figurae revolventis'. Più avanti diremo anche, più brevemente, 'orbite mobili'.

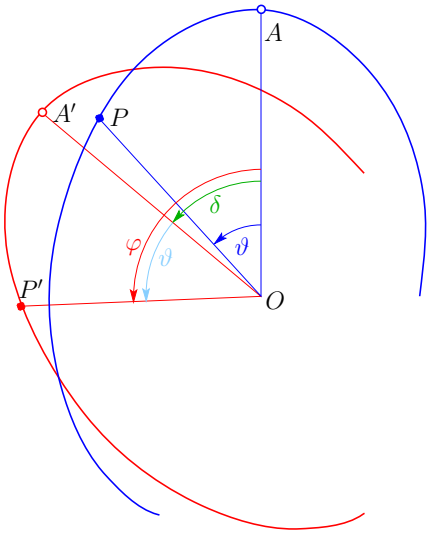


Fig. 1. L'orbita fissa (blu) e l'orbita soggetta a precessione (rossa).

$r(\theta)$ l'equazione dell'orbita AP e con $\varrho(\varphi)$ l'equazione dell'orbita $A'P'$. Allora, tenuto conto che δ è proporzionale a θ, abbiamo

$$\varphi = \delta + \theta = \gamma\theta\,, \qquad \varrho(\varphi) = r(\varphi/\gamma)\,,$$

con una costante γ.

Teorema 4.1. *Si considerino le orbite $r(\theta)$ e $\varrho(\varphi)$ appena descritte; sia $f(r)$ la forza centripeta che agisce sul punto P, e sia C la costante della velocità areolare. Allora l'orbita mobile $\varrho(\varphi)$ soddisfa la seconda legge di Kepler con una costante $C' = \gamma C$, e viene descritta sotto l'azione della forza centripeta*

$$F(\varrho) = f(\varrho) + \frac{C'^2 - C^2}{\varrho^3}\,. \tag{1}$$

La dimostrazione si svolge in modo abbastanza semplice se si ricorre ai metodi analitici che usiamo comunemente. Osservando che $\dot\varphi = \gamma\dot\theta$ si ricava subito

$$C' = \varrho^2\dot\varphi = r^2\Big|_{\theta=\varphi/\gamma}\gamma\dot\theta = \gamma r^2\dot\theta = \gamma C\,;$$

pertanto C' è costante, essendo proporzionale a C. Questo dimostra che l'orbita mobile soddisfa la seconda legge di Kepler, come affermato.

L'equazione dell'orbita fissa si scrive in modo alquanto semplice tramite la nota *formula di Binet*, e si ha

$$\frac{C^2}{r^2}\left(\frac{d^2}{d\theta^2}\frac{1}{r}+\frac{1}{r}\right)=f(r)\,.$$

L'equazione per l'orbita mobile, in coordinate polari ϱ, φ, si scrive in modo analogo grazie alla formula di Binet, pur di sostituire $C'=\gamma C$ per la costante della velocità areolare; si calcola così

$$\begin{aligned}\frac{\gamma^2C^2}{\varrho^2}\left(\frac{d^2}{d\varphi^2}\frac{1}{\varrho}+\frac{1}{\varrho}\right)&=\frac{\gamma^2C^2}{r^2}\left(\frac{1}{\gamma^2}\frac{d^2}{d\theta^2}\frac{1}{r}+\frac{1}{r}\right)\Bigg|_{\theta=\varphi/\gamma}\\&=\left[\frac{C^2}{r^2}\left(\frac{d^2}{d\theta^2}\frac{1}{r}+\frac{1}{r}\right)\right]_{\theta=\varphi/\gamma}+\frac{C^2(\gamma^2-1)}{r^3}\Bigg|_{\theta=\varphi/\gamma}\,.\end{aligned}$$

La sostituzione $\theta=\varphi/\gamma$ non ha effetto sul primo termine di quest'ultima espressione, in quanto esso dipende solo da r e coincide con $f(\varrho)$; nel secondo termine invece basta sostituire r con ϱ. Pertanto l'equazione dell'orbita $\varrho(\varphi)$ diventa

$$\frac{C'^2}{\varrho^2}\left(\frac{d^2}{d\varphi^2}\frac{1}{\varrho}+\frac{1}{\varrho}\right)=F(\varrho)\,,$$

con la forza

$$F(\varrho)=f(\varrho)+\frac{C^2(\gamma^2-1)}{\varrho^3}\,.$$

Ricordando che $C'=\gamma C$ si ottiene l'espressione della forza riportata nell'enunciato.

Come esempio particolarmente interessante consideriamo un'orbita ellittica, generata da una forza inversamente proporzionale al quadrato della distanza; ciò è considerato come dimostrato da Newton. Scriviamo la forza come $f(r)=\frac{C^2}{pr^2}$, dove $p=b^2/a=a(1-e^2)$ è il parametro, o semilatus rectum, dell'ellisse, avendo denotato con a e b i semiassi maggiore e minore. L'angolo polare θ dell'orbita fissa si incrementa di $\Delta\theta=2\pi=360^\circ$ ad ogni rivoluzione, sicché la linea degli apsidi (congiungente l'apocentro col pericentro) resta fissa.

Passiamo a considerare l'orbita generata dalla forza

$$F(r) = \frac{C^2}{pr^2} + \frac{C^2(\gamma^2-1)}{r^3}\,. \tag{2}$$

Per il teorema 4.1 l'angolo θ deve essere sostituito da $\gamma\theta$, e nel passaggio da un apocentro al successivo si incrementa di $\gamma\Delta\theta = 2\pi\gamma$. Ne segue che l'apocentro dell'ellisse è soggetto a una precessione $2\pi(\gamma-1)$ (*Principia,* Prop. XLIII, Corol. 2).

4.1 Orbite quasi circolari

Il teorema appena dimostrato, e in particolare l'esempio del caso di un'orbita kepleriana, permette a Newton di elaborare una risposta ingegnosa al problema seguente: *determinare il movimento della linea degli apsidi per un'orbita quasi circolare* (*Principia*, Libro I, sez. IX, probl. XXXI).

In termini più espliciti, sia data un'orbita circolare descritta sotto l'azione della forza $f(r)$ assegnata; supponiamo che le orbite vicine ad essa siano limitate, così da possedere un apocentro (e un pericentro). Ci si propone di assegnare all'orbita circolare un angolo di precessione $\Delta\theta_{\rm circ}$ visto come il limite dell'angolo $\Delta\theta$ per un'orbita infinitamente vicina.

Newton affronta il problema immaginando di deformare l'orbita circolare, trasformandola in un'orbita ellittica (o kepleriana), ma soggetta a precessione come descritto alla fine del paragrafo precedente. Propone poi di modificare $f(r)$ secondo la formula del teorema 4.1, imponendo la condizione che l'apocento dell'orbita kepleriana diventi fisso. La precessione indotta dal termine cubico diventa la quantità $\Delta\theta_{\rm circ}$ cercata.

Come abbiamo mostrato, l'orbita kepleriana mobile è generata dalla forza

$$F(r) = \frac{C^2}{pr^2} + \frac{C^2(\gamma^2-1)}{r^3} = \frac{C^2\,(r+p(\gamma^2-1))}{p\,r^3}\,. \tag{3}$$

Proposizione 4.2. *Supponiamo che l'orbita circolare di raggio $\overline{r}$ sia generata dalla forza centripeta $f(r)$, e sia $\Phi(r) = r^3 f(r)$. Sotto l'ipotesi che le orbite prossime a quella circolare siano limitate possiamo assegnare all'orbita circolare la quantità*

$$\Delta\theta_{\rm circ} = 2\pi\sqrt{\frac{\Phi(\overline{r})}{\overline{r}\Phi'(\overline{r})}} = 2\pi\left(3+\frac{\overline{r}\,f'(\overline{r})}{f(\overline{r})}\right)^{-1/2}\,. \tag{4}$$

Denotiamo con $r_{\max}$, l'apocentro dell'orbita ellittica deformata, e definiamo la variabile ϱ mediante la relazione $r = r_{\max} - \varrho$. Per ϱ abbastanza piccolo sviluppiamo in serie il numeratore di $\Phi(r)/r^3$, scrivendo

$$\frac{\Phi(r)}{r^3} = \frac{\Phi(r_{\max}) - \varrho\Phi'(r_{\max}) + \varrho^2\Phi''(r_{\max})/2 + o(\varrho^2)}{r^3} \tag{5}$$

(qui gli apici indicano le derivate rispetto a r).

Lo sviluppo del numeratore dell'espressione (3) si riduce alla sostituzione di r con $r_{\max} - r$, e abbiamo

$$F(r) = \frac{C^2\,(r_{\max} + p(\gamma^2 - 1) - \varrho)}{pr^3}\,,$$

Confrontando i termini dello stesso ordine in ϱ nei numeratori delle ultime due espressioni, e trascurando i termini $o(\varrho)$, possiamo identificare

$$\frac{C^2}{p}\left(r_{\max} + p(\gamma^2 - 1)\right) = \Phi(r_{\max})\,, \quad \frac{C^2}{p} = \Phi'(r_{\max})\,.$$

Nel limite $\varrho \to 0$ sia $r_{\max}$ che p tendono al raggio $\overline{r}$ dell'orbita circolare; quindi le due equazioni appena scritte danno

$$\gamma^2 = \frac{\Phi(\overline{r})}{\overline{r}\Phi'(\overline{r})}\,. \tag{6}$$

Ponendo questa quantità nella (2) e ricordando che per l'orbita kepleriana si ha $\Delta\theta_{\text{circ}} = 2\pi(\gamma - 1)$ si ricava immediatamente la (4).

Per noi è del tutto spontaneo rappresentare le posizioni successive degli apocentri di una data orbita su una circonferenza. Riconduciamo così il problema a quello della cosiddetta *mappa della rotazione del cerchio*: la distanza angolare tra due apocentri (o due pericentri) successivi è l'angolo $\Delta\theta_{\text{circ}}$. L'orbita in esame risulta chiusa se e solo se $\Delta\theta_{\text{circ}}/\pi$ è un numero razionale. Questo fatto è ben noto a Newton, anche se non descritto in termini moderni.

Tra gli esempi proposti da Newton se ne trovano due particolarmente interessanti. Il primo è quello della forza centripeta $f(r) = kr^\alpha$, proporzionale a una potenza $\alpha > -3$ della distanza; si dimostra facilmente che una tale forza ammette sempre un'orbita circolare. Ponendo

$\Phi(r) = kr^{3+\alpha}/r^3$, dalla proposizione 4.2 si ricava

$$\Delta\theta_{\rm circ} = 2\pi\sqrt{\frac{k\overline{r}^{3+\alpha}}{k(3+\alpha)\overline{r}^{3+\alpha}}} = \frac{2\pi}{\sqrt{3+\alpha}}\,. \tag{7}$$

Nel caso kepleriano, $\alpha = -2$, si trova $\gamma = 1$ e $\Delta\theta_{\rm circ} = 2\pi$, sicché la linea degli apsidi resta quiescente. Nel caso armonico, $\alpha = 1$, si trova $\Delta\theta_{\rm circ} = \pi$. In ambedue i casi l'orbita è un'ellisse, ma il centro delle forze coincide con uno dei fuochi nel caso kepleriano, e col centro dell'ellisse nel caso armonico; Newton lo ha già dimostrato nelle sezioni 7 e 8. Nel caso armonico dunque la linea degli apsidi non è quiescente, ma ruota di π tra un apocentro e il successivo.

Il secondo esempio di Newton è una forza $f(r) = br^\alpha + cr^\beta$ con costanti reali b, c, α e β. Posto $\Phi(r) = (br^{3+\alpha} + cr^{3+\beta})/r^3$ la proposizione 4.2 ci dà

$$\Delta\theta_{\rm circ} = 2\pi\sqrt{\frac{b + c\overline{r}^{\beta-\alpha}}{b(3+\alpha) + c(3+\beta)\overline{r}^{\alpha-\beta}}}\,. \tag{8}$$

Pertanto, per α e β fissati, troviamo una quantità che dipende da tre parametri, ivi compreso il raggio $\overline{r}$ dell'orbita circolare. Newton pone $\overline{r} = 1$, il che è possibile pur di riaggiustare i parametri b e c.

Gli esempi portati da Newton hanno la funzione di illustrare un procedimento affatto generale, valido per una forza generica: Newton rimanda esplicitamente al suo metodo di sviluppo in serie di potenze (*Principia,* Prop. XLIV, Exem. 3.)

Aggiungiamo un commento alla discussione di Newton. Il caso della forza $f(r) = kr^\alpha$ ha una caratteristica interessante: l'espressione (7) mostra che l'angolo $\Delta\theta_{\rm circ}$ non dipende dal raggio dell'orbita circolare; si tratta di un fatto certamente rilevante per il problema planetario, perché le osservazioni mostrano che le orbite sono quasi circolari, e non ci sono differenze osservabili nel comportamento delle linee degli apsidi dei Pianeti. Non è così invece se la forza è composizione di due o più potenze: l'espressione (8) suggerisce con tutta evidenza che $\Delta\theta_{\rm circ}$ debba dipendere da $\overline{r}$. Se vogliamo rendere l'argomento più rigoroso, secondo i nostri canoni, ci basta dimostrare la proprietà che segue.

Proposizione 4.3. *Le sole forze centripete per cui l'angolo* $\Delta\theta_{\text{circ}}$ *è indipendente dal raggio dell'orbita circolare hanno la forma* $f(r) = kr^{\alpha}$*, con* $\alpha > -3$*. In tal caso si ha*

$$\Delta\theta_{\text{circ}} = \frac{2\pi}{\sqrt{3+\alpha}}\,. \tag{9}$$

La dimostrazione richiede un calcolo alquanto semplice. Grazie alla proposizione 4.2 ricaviamo che $\Phi(r)$ debba soddisfare l'equazione differenziale

$$r\Phi'(r) = n\Phi(r)$$

con una costante n arbitraria. La soluzione si calcola per separazione delle variabili, e si trova $\Phi(r) = kr^n$ con una costante di integrazione k. Posto $\alpha = n - 3$, la conclusione è immediata.

5. La legge dell'inverso del quadrato

Come abbiamo già detto, Newton perviene alla formulazione della legge di gravitazione nel Libro III dei *Principia*, Propositio II. Qui è utile richiamare succintamente il percorso che troviamo comunemente nei nostri testi, fondato sulle leggi di Kepler. Dalla legge delle aree, tramite la formula di Binet, si ricava che l'accelerazione debba essere diretta verso il Sole. Dalla prima legge di Kepler, ossia la forma ellittica dell'orbita, si ricava che l'accelerazione è diretta verso uno dei fuochi dell'ellisse ed è inversamente proporzionale al quadrato della distanza. La terza legge di Kepler mostra poi che la costante di proporzionalità dell'accelerazione è la stessa per tutti i Pianeti, sicché si può pensare a un campo di forza generato dal Sole. Infine si giustifica la legge di gravitazione universale grazie al principio di azione e reazione, ammettendo che la forza gravitazionale possa essere generata da ciascun corpo celeste o, ancor più in generale, da qualunque massa.

In effetti le argomentazioni che troviamo nel primo libro dei *Principia*, fermandoci alla fine della sezione VIII, sembrano suggerire il procedimento che abbiamo sintetizzato. In realtà Newton segue un percorso molto più articolato, che ci suggerisce di ampliare in modo significativo gli argomenti che troviamo comunemente nei nostri testi. Sembra ragionevole interpretare il percorso intellettuale di Newton come ricerca di risposta a una domanda cruciale: *Quanto è accurata la legge gravitazionale dell'inverso del quadrato?*

Newton parte dalla considerazione che nel Sistema Solare si possono identificare tre sottosistemi: quello dei satelliti di Giove, quello dei satelliti di Saturno, e quello formato dai cinque pianeti primari. Per ciascuno di essi le osservazioni astronomiche disponibili mostrano che le orbite sono prossime a cerchi, vale la legge delle aree rispetto al centro del sottosistema, e i periodi di rivoluzione concordano con le previsioni della terza legge di Kepler.

La Terra e la Luna vengono considerate a parte. Anzitutto, prendendo in considerazione i cinque pianeti primari, si osserva che la legge delle aree non vale se si pone la Terra al centro. La legge delle aree vale invece se si considera il moto del Sole rispetto alla Terra, o, equivalentemente, della Terra rispetto al Sole; ciò induce a equiparare la Terra ai Pianeti primari.

Il moto della Luna presenta qualche anomalia. L'orbita è approssimativamente circolare, con centro nella Terra, e rispetta la legge delle aree, ma la linea degli apsidi non è fissa: ad ogni rivoluzione l'apogeo avanza di circa $3^\circ\,3'$; di conseguenza l'orbita non è esattamente ellittica. Non sembra dunque possibile, in prima battuta, mettere in relazione il sottosistema Terra-Luna con i sottosistemi di Giove o di Saturno. Come spiegare questo comportamento singolare?

Newton prende anzitutto in considerazione l'idea di correggere la forza centripeta agente sulla Luna, assumendo $f(r) \propto r^\alpha$, calcolando l'esponente α grazie alla formula (7). Trova così $\alpha \approx -2.0167$, un valore molto vicino a -2; ciò induce a pensare che si possa spiegare il fenomeno senza modificare la legge dell'inverso del quadrato.

Una via d'uscita possibile consiste nel prendere in considerazione la forza centripeta che il Sole esercita sia sulla Terra che sulla Luna. A tal fine Newton propone di sfruttare la formula (8), valida per una forza somma di due potenze. Suppone dunque che la forza totale agente sulla Luna possa scriversi come $f(r) = 1/r^2 - cr$ con una costante c da valutare in qualche modo. Ciò corrisponde a considerare l'orbita lunare come risultato della composizione del moto kepleriano con un secondo moto su un'ellisse che ha centro nella Terra. Posto $b = 1$ nella (8), il valore della costante c viene determinato tramite il rapporto tra la forza esercitata dalla Terra sulla Luna e la componente della forza esercitata dal Sole sulla Luna lungo la direzione congiungente il pianeta col satellite. Newton trova un valore approssimato valutando il rapporto tra le distanze Terra-Luna e Sole-Luna, e calcola $c \approx 1/357.45$. Posta $\overline{r} = 1$ la distanza media Terra-Luna, si trova $\Delta\theta_{\text{circ}} = 2\pi\sqrt{\frac{1-c}{1-4c}} \approx 2.00847\pi$; ciò corrisponde a un incremento di circa $1^\circ\,31'\,28''$ su 360°, pari a circa la metà dell'incre-

mento osservato dell'apogeo della Luna (*Principia,* Libro I, Prop. XLV, Probl. XXXI, Corol. 2). Newton osserva anche che raddoppiando il valore di c, ossia ponendo $c = 2/357.45 = 1/178.725$ si ottiene un'approssimazione molto migliore (*Principia*, Libro III, Prop. III, Probl. III). La conclusione è che a patto di trascurare la perturbazione dovuta al Sole è lecito assumere che la legge $f(r) \propto 1/r^2$ valga anche per l'azione esercitata dalla Terra sulla Luna. Questa ipotesi viene sviluppata in seguito studiando la dinamica di un sistema formato da tre corpi.

Resta ora da mostrare che la legge dell'inverso del quadrato è la sola accettabile. Anzitutto si devono escludere tutte le forze rispondenti a una legge $f(r)$ che non sia una singola potenza della distanza. La motivazione si fonda sulla proposizione 4.3: se $\Delta\theta_{\text{circ}}$ dipendesse dal raggio dell'orbita circolare non potrebbe accadere che tutti i Pianeti e i satelliti posseggano una linea degli apsidi praticamente quiescente.

Il caso della forza $f(r) \propto r$, pur generando orbite ellittiche, è da escludere sia perché il Sole non è al centro dell'orbita, sia perché l'orbita si chiuderebbe ogni due apocentri, contro la quiescenza della linea degli apsidi; questi sono fatti che risultano dalle osservazioni. Resta da esaminare il caso di una forza $f(r) \propto r^\alpha$ con $\alpha \neq -2,\ 1$. Supponiamo, ad esempio, che sia $\alpha = -2 + \varepsilon$. Allora la formula (7) ci dà

$$\Delta\theta_{\text{circ}} = \frac{2\pi}{\sqrt{1+\varepsilon}} \sim 2\pi\left(1 - \frac{\varepsilon}{2}\right) .$$

Dal momento che le orbite dei pianeti sono quasi circolari, l'angolo appena calcolato fornisce un'ottima approssimazione di quello dell'orbita vera. Ne risulta un'orbita 'a rosetta', in cui l'angolo tra due apocentri successivi differisce da 2π di una quantità $\varepsilon\pi$; un tal fenomeno viene detto *precessione degli apsidi*. Ad esempio, ponendo $\varepsilon = 10^{-4}$, che è un valore molto piccolo, avremmo un angolo di precessione di circa 0.0001π, pari a circa $1'\,5''$ per ciascuna rivoluzione. Inoltre tale precessione sarebbe praticamente la stessa per ogni pianeta, e si accumulerebbe nel tempo. Con un rapido calcolo si vede che dovremmo osservare una deviazione di oltre un grado in 60 anni per la Terra, un secolo per Marte e 6 secoli per Giove. Un tal fenomeno non potrebbe sfuggire alle osservazioni degli astronomi, che mostrano invece che gli apsidi sono praticamente quiescenti da molti secoli.

Alla luce di tutto questo Newton conclude che la legge dell'inverso del quadrato è la sola accettabile (*Principia*, Liber III, Prop. II, Teor. II). La sua conclusione è riportata nella citazione alla fine del paragrafo 2.3.

Dopo Lagrange sappiamo che gli afeli dei Pianeti sono soggetti a precessione. Tuttavia ciò non invalida l'argomento di Newton. In effetti la teoria sviluppata da Lagrange, e ancor oggi in uso, spiega la precessione come effetto delle perturbazioni mutue dei Pianeti; ciò era già stato previsto, anche se non calcolato, da Newton.

5.1 Il teorema di Bertrand

Il problema dell'accuratezza della legge dell'inverso del quadrato è stato ripreso da Bertrand, quasi due secoli dopo Newton, in una forma più astratta e facendo uso dei metodi dell'analisi, ormai ampiamente sviluppati [1]. Possiamo riprendere l'enunciato del problema nella forma datagli da Tisserand [20]: *Supponiamo che un Pianeta sia attratto dal Sole con una forza centrale, dipendente dalla sola distanza, e che l'orbita sia chiusa per qualunque dato iniziale. Si chiede di determinare la legge della forza.*

A differenza di Newton, Bertrand non fa alcun riferimento alla linea degli apsidi, che invece per Newton assume un ruolo fondamentale. L'ipotesi che l'orbita sia chiusa non esclude orbite a rosetta, purché lo spostamento $\Delta\theta$ dell'afelio sia in rapporto razionale con 2π. Ad esempio, l'ellisse del caso armonico viene subito esclusa da Newton, con l'argomento che abbiamo esposto, ma non da Bertrand. Il teorema di Bertrand afferma:

Teorema 5.1. *Le sole forze centrali per cui tutte le orbite limitate siano anche chiuse sono la forza armonica $f(r) = -kr$ e la forza gravitazionale $f(r) = -k/r^2$, con k costante.*

Si noti che in questo enunciato e nel seguito c'è un cambiamento di segno rispetto alle notazioni di Newton: per Newton la forza centripeta ha segno positivo; nella notazione di Bertrand, che adottiamo in questo paragrafo, il segno è negativo.

La dimostrazione di Bertrand segue la traccia di quella di Newton, solo riesposta in termini analitici a noi più abituali, e se ne discosta solo alla fine, quando si escludono orbite chiuse a rosetta, ma non ellittiche. Ne diamo una breve traccia.

Seguendo un procedimento comune nel secolo XIX, sostituiamo il raggio r con il suo inverso $w = 1/r$ e introduciamo l'angolo θ come variabile indipendente al posto del tempo. Facendo uso della formula di Binet, riscriviamo dunque l'equazione dell'orbita nella forma

$$\frac{d^2w}{d\theta^2} + w = -\frac{f(1/w)}{L^2w^2}\,, \quad \dot\theta = Lw^2\,.$$

La seconda equazione altro non è che la conservazione del momento angolare in cui si ponga $m = 1$, ovvero, ponendo $L = 2C$, la legge delle aree. La prima equazione può sostituirsi con la conservazione dell'energia introducendo il potenziale $V(r)$ tramite la relazione $f(r) = -\frac{dV}{dr}$, e il potenziale efficace $\mathcal{V}^*(w)$ definito come

$$\mathcal{V}^*(w) = \frac{1}{2}w^2 + \mathcal{V}(w)\,, \quad \mathcal{V}(w) = \frac{1}{L^2}V\left(\frac{1}{w}\right)\,.$$

La conservazione dell'energia assume così la forma

$$\frac{1}{2}\left(\frac{dw}{d\theta}\right)^2 + \mathcal{V}^*(w) = h\,,$$

con una costante h. Questa è un'equazione ben nota in Meccanica; richiamiamo in breve alcuni fatti noti. Un punto stazionario $\overline{w}$ del potenziale efficace corrisponde a un'orbita circolare di raggio $\overline{r} = 1/\overline{w}$. Supponiamo che $\overline{w}$ sia un minimo e in particolare che valga $1+\mathcal{V}''(\overline{w}) > 0$. Allora esiste un intervallo di valori di $h > \mathcal{V}^*(\overline{w})$ per cui $w = 1/r$ oscilla entro due estremi $[w_{\min}, w_{\max}]$. Il periodo $\Delta\theta$ di oscillazione rappresenta precisamente l'incremento $\Delta\theta_{\text{circ}}$ dell'angolo θ tra due apocentri (o pericentri) consecutivi. Per orbite molto vicine a quella circolare possiamo approssimare $\mathcal{V}^*(w)$ con la sua parte quadratica; questo ci permette di calcolare l'approssimazione

$$\Delta\theta_{\text{circ}} = \frac{2\pi}{\sqrt{1 - \frac{\overline{w}\mathcal{V}''(\overline{w})}{\mathcal{V}'(\overline{w})}}}\,.$$

Questo coincide col valore (4) di $\Delta\theta_{\text{circ}}$ calcolato da Newton.

Nel seguito servirà anche determinare il periodo $\Delta\theta$ in funzione dell'ampiezza dell'oscillazione. A tal fine occorre calcolare l'integrale

$$\Delta\theta = 2\int_{w_{\min}}^{w_{\max}} \frac{\mathrm{d}w}{\sqrt{2[h - \mathcal{V}^*(w)]}}\,, \tag{10}$$

Veniamo ora al caso di una forza a potenza. In termini di potenziale la proposizione 4.3 si riformula come segue: *i soli potenziali per cui* $\Delta\theta_{\text{circ}}$ *risulta indipendente dal raggio dell'orbita circolare sono*

$$V(r) = \frac{k}{\beta}r^\beta\,, \quad \beta \neq 0\,,\ \beta > -2\,,$$
$$V(r) = k\ln r\,.$$

Qui l'esponente β in $V(r)$ corrisponde a $\alpha+1$ se la forza è $f(r) \propto r^\alpha$; il caso del potenziale logaritmico corrisponde a $\alpha = -1$; la formula (9) di Newton si riscrive come (si noti che $\beta = \alpha + 1$)

$$\Delta\theta_{\rm circ} = \frac{2\pi}{\sqrt{2+\beta}}\,, \tag{11}$$

Qui viene l'aggiunta di Bertrand ai risultati di Newton. Volendo considerare anche il caso di orbite chiuse a rosetta occorre selezionare i potenziali per cui il periodo $\Delta\theta$ risulta essere in rapporto razionale con 2π anche per tutte le orbite non circolari. D'altra parte le orbite non circolari, per fissato L, sono parametrizzate da h. Dunque si deve imporre che $\Delta\theta$ debba coincidere con $\Delta\theta_{\rm circ}$ per tutti i valori di $h > h_{\rm min} = \mathcal{V}(\overline{w})$ tali che l'orbita risultante sia limitata. Questo è vero per $h_{\rm min} \le h$ nel caso $\beta > 0$ e nel caso logaritmico, mentre per $-2 < \beta < 0$ si deve imporre $h_{\rm min} \le h < 0$. Nel caso kepleriano, ossia $\beta = -1$, e in quello armonico, $\beta = 2$, sappiamo già che l'orbita è sempre chiusa. In tutti gli altri casi si calcola che $\Delta\theta$ non è costante al variare di h. In effetti, osserva Bertrand, basta verificare che per un valore di $h > h_{\rm min}$ si ha $\Delta\theta \neq \Delta\theta_{\rm circ}$; ciò segue dalla continuità di $\Delta\theta$ al variare di h. Seguendo un suggerimento di Arnold basta verificare che ciò accade nel limite $h \to \infty$ nel caso $\beta > 0$ e nel caso di potenziale logaritmico, e per $h \to 0^-$ nel caso $\beta < 0$. A tal fine occorre calcolare il limite dell'integrale (10) per i potenziali che stiamo esaminando.

Con calcoli elementari si verifica che

$$\lim_{h\to+\infty} \Delta\theta = \pi$$

per $\beta > 0$ e per il caso logaritmico, e che

$$\lim_{h\to0^-} \Delta\theta = \frac{2\pi}{2+\beta}$$

per $-2 < \beta < 0$. Per confronto con la formula (11) si vede che la condizione $\Delta\theta = \Delta\theta_{\rm circ}$ è verificata solo per $\beta = -1,\ 2$. Questo conclude la dimostrazione del teorema di Bertrand.

6. Conclusioni

Nelle nostre intenzioni questo articolo mostra che il 'teorema di Bertrand', o meglio dovremmo dire il 'teorema di Newton', a volte citato di sfuggita

da parte dei colleghi che insegnano Meccanica Celeste, riveste un'importanza storica notevole, essendo centrale nella dimostrazione newtoniana della legge di gravitazione universale. La dimostrazione moderna che abbiamo proposto apre la spinosa questione della lettura dei testi matematici del passato [10]. Newton utilizza un linguaggio geometrico, nel quale emergono però anche tecniche analitiche. In questo caso Newton utilizza serie di potenze, e lo fa non in manoscritti preparatori, ma nel testo a stampa stesso dei *Principia*. Comprendere storicamente il testo di Newton comporterebbe una familiarizzazione con il linguaggio dell'autore, una complessa combinazione di metodi geometrici e algebrici, che qui non abbiamo tentato. D'altronde, la lettura dei testi del passato, situati come sono nell' 'altro' presente, per usare un'espressione di Preti e Rossi, dei nostri predecessori non può che prendere le mosse dal 'nostro' presente [19]. Come primo passo nel processo di interpretazione del testo non possiamo che partire dal nostro linguaggio. In un secondo momento, per pervenire a una lettura storica, dobbiamo distanziare il testo per ricollocarlo nella cultura in cui è stato concepito. Sarebbe interessante mettere in luce come le nozioni di funzione o di potenziale, per fare due esempi, siano emerse lentamente nel Settecento, a partire da intuizioni che certamente sono presenti nelle opere di Newton, di Leibniz, e dei loro contemporanei. La lettura di un testo matematico del passato, comunque, non è mai un processo semplice: è un'avventura intellettuale che ci obbliga a un esercizio a un tempo di familiarizzazione e di distanziamento, il cui fascino, speriamo, è evidente da quanto abbiamo proposto al lettore in questo nostro lavoro.

Ringraziamenti. La ricerca di Niccolò Guicciardini è stata finanziata dal Dipartimento di Filosofia 'Piero Martinetti' dell'Università degli Studi di Milano nell'ambito del progetto 'Dipartimenti di Eccellenza 2018-2022' attribuito dal Ministero dell'Istruzione, Università e Ricerca (MIUR).
La ricerca di Antonio Giorgilli rientra nell'ambito del progetto MIUR-PRIN 20178CJA2B 'New Frontiers of Celestial Mechanics: theory and Applications'.

BIBLIOGRAFIA

[1] J. Bertrand: *Théorème relatif au mouvement d'un pont attiré vers un centre fixe,* Comptes Rendus de l'Académie des Sciences **LXXVII**, 849–853 (1875).

[2] T. Birch: *The History of the Royal Society of London*, Millar, Londra (1756), pp. 191-2; ristampa in R. T. Gunther: *Early Science in Oxford*, vol. 6, Oxford University Press, Londra (1930), p. 256.

[3] S. Chandrasekhar: *Newton's Principia for the common reader*, Oxford University Press (1995).

[4] A-C. Clairaut: *Du système du monde dans les principes de la gravitation universelle*, Histoire de l'Académie Royale des Sciences (1745).

[5] *Leonhardi Euleri Mechanica sive motus scientia analytice exposita*, Typographia Academiæ Scientiarum, Petropoli (1736). Ristampato in: *Opera Omnia*: Series 2, Volumes 1 and 2.

[6] A. Giorgilli: *A Kepler's note on secular inequalities,* Rendiconti dell'Istituto Lombardo Accademia di Scienze e Lettere, Classe di Scienze Matematiche e Naturali, **145**, 97-119 (2011).

[7] A. Giorgilli: *The unaccomplished perfection of Kepler's world,* in *I-CELMECH Training School. New frontiers of Celestial Mechanics: theory and applications.* G. Bau, S. di Ruzza, R.I. Paez, T. Penati, M. Sansottera eds., Springer Proceedings in Mathematics & Statistics, in press.

[8] N. Guicciardini: *Reading the Principia: The Debate on Newton's Mathematical Methods for Natural Philosophy from 1687 to 1736*, Cambridge University Press (1999).

[9] N. Guicciardini: *Newton,* Carocci Editore (2011).

[10] N. Guicciardini: *Introduction: The historical interpretation of mathematical texts and the problem of anachronism*, in: *Anachronisms in the History of Mathematics: Essays on the Historical Interpretation of Mathematical Texts*, Proceedings of the Bacon Conference held at Caltech, Pasadena, April 13–14, 2018, Cambridge University Press (2021), pp. 1-41 .

[11] J. Herivel: *The Background to Newton's Principia: A Study of Newton's Dynamical Researches in the Years 1664-84*, Oxford at Clarendon Press (1965).

[12] R. Hooke: *An Attempt to Prove the Motion of the Earth from Observations*, Londra (1674), ristampa in R. T. Gunther: *Early Science in Oxford*, vol. 8, Oxford University Press, Londra (1931), pp. 1-28.

[13] R. Iliffe: *Early Biographies of Isaac Newton (1660-1885), vol. 1: Eighteenth-Century Biographies of Isaac Newton, the Unpublished Manuscripts and Early Texts*, London, Pickering and Chatto (2006).

[14] D. Lynden-Bell, R. M. Lynden-Bell: *On the Shapes of Newton's Revolving Orbits,* Notes and Records of the Royal Society of London **51**, 195-198 (1997).

[15] I. Newton: *Philosophiæ Naturalis Principia Mathematica*, autore Is. Newton, Trin. Coll. Cantab. Soc. Matheseos Professore Lucasiano, & Societatis Regalis Sodali, Londini, jussu Societatis Regiæ ac typis Josephi Streater, Anno MDCLXXXVII. Terza edizione: Guil & Joh. Innys, Regiæ Societatis typographos, Londini (MDCCXXVI).

[16] I. Newton: *The Correspondence of Isaac Newton, vol. I 1661-1675*, a cura di H. W. Turnbull, Cambridge University Press (1960).

[17] I. Newton: *The Correspondence of Isaac Newton, vol. II 1676-1687*, a cura di H. W. Turnbull, Cambridge University Press (1960).

[18] I. Newton: *Principi matematici della filosofia naturale, a cura di Alberto Pala* Torino, UTET (1965).

[19] P. Rossi: *Un altro presente: saggi sulla storia della filosofia*. Bologna, Il Mulino (1999).

[20] F. Tisserand: *Traité de mécanique célèste*, Gauthier–Villard, Parigi (4 volumi: 1891–1896).

[21] G. Smith: *Newton's Philosophiae Naturalis Principia Mathematica*, The Stanford Encyclopedia of Philosophy (Winter 2008 Edition), Edward N. Zalta (ed.), URL = `https://plato.stanford.edu/archives/win2008/entries/newton-principia/`.

[22] S. R. Valluri, P. Yu, G. E. Smith, P. A. Wiegart, *An Extension of Newton's Apsidal Precession Theorem,* Monthly Notices of the Royal Astronomical Society, **358**, 1273–1284 (2005).

[23] E.T. Whittaker: *A treatise on the analytical dynamics of particles and rigid bodies*, quarta edizione, Cambridge University Press, London (1937). Le edizioni precedenti sono del 1904, 1917 e 1927.

Istituto Lombardo (Rend. Scienze) 155, 197-218 (2021)

IL CENTRO NAZIONALE DI ADROTERAPIA ONCOLOGICA: INNOVAZIONI TECNICO-SCIENTIFICHE E NUOVE PROSPETTIVE DELLA BNCT PER LA LOTTA AI TUMORI

SANDRO ROSSI (*) e GIANLUCA VAGO (**)

Nota presentata dal m.e. Antonio Pedotti
(Adunanza dell'11 novembre 2021)

SUNTO. – I protoni e gli ioni carbonio (adroni) possiedono delle proprietà utili per il trattamento di pazienti affetti da patologie oncologiche. Sono più precisi dei raggi X convenzionali e possiedono caratteristiche radiobiologiche adatte a trattare tumori radioresistenti o tumori inoperabili. Questo articolo presenta una panoramica dello stato dell'adroterapia nel mondo. Si concentra in particolare sul Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica (CNAO), descrivendo il centro stesso e i progetti di espansione. Ci sono prove sempre più evidenti che attestano la sicurezza e l'efficacia dell'adroterapia per svariati casi clinici. Tuttavia, mancano ancora prove di alto livello che confrontino l'adroterapia con le moderne tecniche di radioterapia convenzionale. I risultati forniscono una panoramica degli studi di ricerca pre-clinica e clinica e dei trattamenti di 3700 pazienti effettuati al CNAO. Il successo e lo sviluppo dell'adroterapia è strettamente associato alla creazione di reti tra strutture di adroterapia, cliniche, università e istituti di ricerca.

***

ABSTRACT. – Protons and carbon ions (hadrons) have useful properties for the treatments of patients affected by oncological pathologies. They are more precise than conventional X-rays and possess radiobiological characteristics suited for treating radio-

(*) Fondazione CNAO, Pavia, Italy. E-mail: sandro.rossi@cnao.it
(**) Fondazione CNAO, Pavia; Dipartimento di Oncologia ed Emato-ocologia, Università degli Studi di Milano, Italy. E-mail: presidenza@cnao.it

resistant or inoperable tumors. This paper gives an overview of the status of hadron therapy around the world. It focusses on the Italian National Centre for Oncological Hadron therapy (CNAO), describing the centre and the expansion projects. There is growing evidence that supports safety and effectiveness of hadron therapy for a variety of clinical situations. However, there is still a lack of high-level evidence directly comparing hadron therapy with modern conventional radiotherapy techniques. The results give an overview of pre-clinical and clinical research studies and of the treatments of 3700 patients performed at CNAO. The success and development of hadron therapy is strongly associated with the creation of networks among hadron therapy facilities, clinics, universities and research institutions.

1. Razionale e diffusione della adroterapia nel mondo

"Adroterapia", termine che è entrato nel vocabolario della medicina, indica l'uso terapeutico degli adroni, particelle nucleari note nel passato soltanto nei centri di ricerca in fisica. Gli adroni usati oggigiorno nei centri di adroterapia in tutto il mondo sono protoni, ioni carbonio e molto recentemente ioni elio [1]. I trattamenti con fasci di ioni carbonio sono spesso citati con la sigla CIRT (Carbon Ions Radiation Therapy).

I nuclei atomici carichi, quali i protoni e gli ioni carbonio, hanno una curva di deposizione dell'energia completamente diversa da quella dei raggi X e mostrano il caratteristico picco di Bragg alla fine del loro percorso nei tessuti (*Fig. 1*) [2].

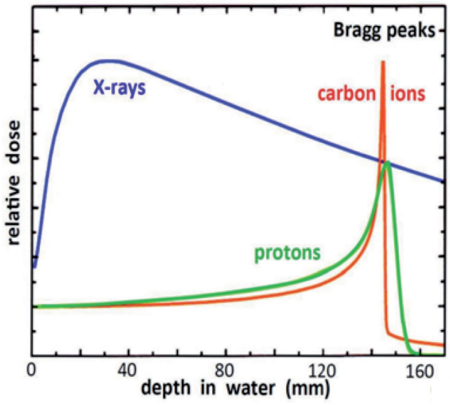


Fig. 1. La deposizione dell'energia in acqua da raggi X, protoni e ioni carbonio. L'energia iniziale dei raggi X è 21 MeV. L'energia delle due particelle è selezionata per fornire lo stesso percorso in acqua: 148 MeV/u per i protoni e 270 MeV/u per gli ioni carbonio.

L'energia depositata per grammo di materia (cioè la "dose") è bassa quando il fascio di adroni penetra nel corpo ed è principalmente concentrata alla fine del range. Il cosiddetto picco di Bragg è piuttosto stretto (pochi millimetri) e per coprire l'estensione longitudinale totale del tumore è necessaria una sovrapposizione di picchi di Bragg con differenti altezze e profondità, per creare un picco di Bragg allargato (Spread-Out Bragg Peak: SOBP). L'uso di un fascio di dimensioni trasversali millimetriche, spostato da magneti di scansione nel piano perpendicolare alla sua direzione, permette di ricoprire di dose le fette di un tumore. La combinazione dello spostamento del fascio longitudinale (tramite variazione di energia del fascio) e trasversale (tramite scansione magnetica) crea una copertura tridimensionale quasi ideale del volume del tumore e solo una dose bassa di radiazione che si deposita al di fuori di esso. Gli ioni carbonio sono più precisi dei protoni poiché, a causa della maggiore massa, hanno una variazione di percorso longitudinale (straggling) ridotta e una diffusione laterale (scattering) minore e quindi una penombra laterale meno accentuata [3].

Gli ioni carbonio, rispetto ai protoni e ai raggi X, agiscono diversamente sulle cellule degli organi che attraversano. Alla fine del loro percorso, la deposizione di energia per unità di lunghezza (il Trasferimento Lineare di energia o LET) produce un numero maggiore di rotture irreparabili del DNA della cellula tumorale, quindi una probabilità sensibilmente maggiore di uccisione della cellula stessa [4]. Questa azione è solitamente espressa in termini di efficacia biologica relativa (RBE), che è definita come rapporto tra la dose del fotone e la dose della radiazione della particella che produce lo stesso effetto biologico. La RBE degli ioni carbonio sul tumore può raggiungere un valore di 3, permettendo quindi la deposizione di una dose biologica maggiore nel bersaglio tumorale rispetto a fotoni e protoni, e in parallelo mantenendo la stessa dose biologica nei tessuti circostanti normali o, a parità di dose nel tumore, di ridurre i danni ai tessuti normali.

L'idea di usare protoni per trattare tumori risale al 1946, quando lo scienziato americano Bob Wilson [5] comprese il loro potenziale dovuto alle caratteristiche fisiche della dose depositata. È importante rilevare che, fino alla fine degli anni 80, i pazienti venivano irradiati presso acceleratori costruiti per la ricerca nucleare e sub-nucleare e adattati alla radioterapia, con tutti gli inconvenienti correlati. All'inizio degli anni 90, iniziò finalmente l'era della moderna adroterapia, con centri dedicati esclusivamente all'attività clinica.

Il primo impianto ospedaliero di protonterapia è il Loma Linda University Medical Centre, in California [6]. Tre sale sono dotate di sistemi magnetici rotanti (*gantry* isocentrici) di circa dieci metri di diametro e una massa di circa 100 tonnellate, che consentono, per la prima volta, di variare la direzione di incidenza del fascio di protoni sul paziente, come avviene di solito in radioterapia convenzionale. In Giappone, nel giugno 1994, fu trattato il primo paziente con un fascio di ioni carbonio di circa 4000 MeV allo Heavy Ion Medical Accelerator Centre di Chiba [7]. Qualche anno fa, il centro fu aggiornato con l'aggiunta di nuove sale di trattamento, una delle quali dotata di un *gantry* per ioni carbonio fatto di magneti superconduttori.

Il Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica (CNAO) opera a Pavia, in Italia. I trattamenti dei pazienti hanno avuto inizio nel 2011 e prevedono la somministrazione sia di protoni che di ioni carbonio, in tre sale di trattamento. Ciascuna sala ha un fascio orizzontale e la sala 2 ha una linea aggiuntiva verticale. Una quarta sala, con una linea di fascio orizzontale, è interamente dedicata alla ricerca. La *Fig. 2* mostra l'impianto ospedaliero e il sincrotrone della Fondazione CNAO.

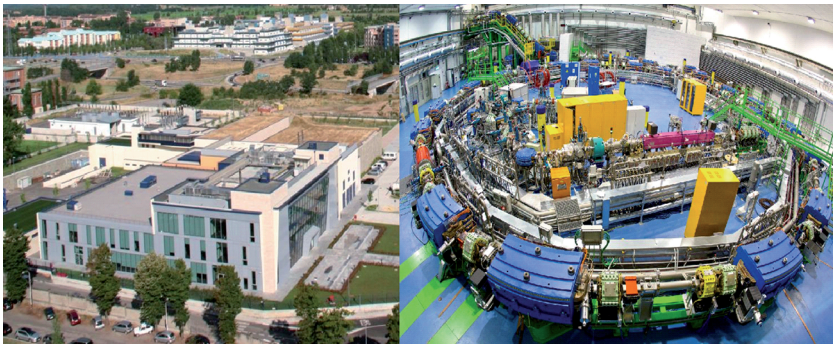


Fig. 2. A sinistra: in primo piano l'edificio ospedaliero del Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica (CNAO), nel retro l'impianto dell'energia e il tetto del sincrotrone. A destra: vista del sincrotrone e delle linee di trasporto del fascio.

Attualmente, la protonterapia e la CIRT si stanno espandendo in tutto il mondo con 95 centri per protoni, come riportato sul sito web del Particle Therapy Group [8]. I sincrotroni di tredici centri effettuano la CIRT con energia massima di ioni di circa 400 MeV/nucleone, corrispondente a un range di 27 cm in acqua.

I centri di protonterapia sono principalmente situati negli Stati

Uniti (41 centri), Europa (19 centri), Giappone (17 centri) e Gran Bretagna (5 centri). I centri di ioni carbonio sono situati in Giappone (7 centri), Europa (4 centri) e in Cina (2 centri). Quattro centri clinici europei (CNAO, Heidelberg Ion Therapy Centre – HIT, MedAustron e Marburger Ionenstrahl-Therapiezentrum – MIT), un centro giapponese e uno cinese producono sia ioni carbonio che protoni, e perciò sono denominati "centri multi-particelle". Esistono attualmente 31 centri per protoni e 5 centri per ioni carbonio in costruzione. Inoltre, 29 nuovi impianti per protoni e due per ioni carbonio, incluso il primo in USA, si trovano in fase di programmazione. Il numero complessivo dei pazienti trattati con protoni è arrivato a 290,000 e aumenta di oltre 35,000 per anno. Più di 40,000 pazienti sono stati irradiati con CIRT nel mondo.

2. Il Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica (CNAO)

Le configurazioni di tutti gli impianti in funzione per la CIRT sono simili. Tipicamente, le loro caratteristiche sono:

- una o più sorgenti di ioni;
- un iniettore linac;
- un sincrotrone a *temperatura ambiente*;
- una linea di trasporto ad alta energia, fatta di magneti che orientano e focalizzano il fascio; una o più linee di fascio orizzontali e almeno una linea di fascio verticale, dotata di strumenti che attivamente producono le distribuzioni di dose richieste dal Sistema di Pianificazione del Trattamento.
- nel caso di HIT (Heidelberg) e NIRS (Chiba) un *gantry* per ioni carbonio ruota anche il fascio attorno al lettino del paziente;
- apparecchiature robotiche per il posizionamento del paziente e sistemi di verifica della posizione con immagini radiografiche in sala.

Il CNAO è uno dei quattro centri in Europa, e dei sei nel mondo, che offrono il trattamento dei tumori con protoni e ioni carbonio. Tre sale di trattamento con quattro linee di fascio (tre orizzontali e una verticale), più una sala dedicata ad attività sperimentali sono attualmente disponibili. Il sincrotrone del CNAO fornisce energie fino a 400 MeV/u per gli ioni carbonio (corrispondenti ad un range massimo di 27 cm in acqua) e fino e 250 MeV per i protoni (corrispondenti a 38 cm in acqua). In tutte le sale, il fascio è distribuito con lo stesso sistema di

scansione attiva, con un campo di irradiazione di dimensioni 200x200 mm^2. Le principali specifiche del sistema acceleratore del CNAO sono riassunte nella *Tab. 1.* I parametri sono stati definiti da fisici acceleratoristi, insieme a fisici medici e a clinici, con lo scopo di soddisfare al meglio i requisiti per un trattamento ottimale di adroterapia.

Tab. 1. Principali specifiche del sistema di adroterapia del CNAO.

Tipi di particelle	p,He^{2+}, Li^{3+}, Be^{4+}, B^{5+}, C^{6+}, O^{8+}
Durata del cambio particella	≤ 10 min.
Range del fascio	1.0 g/cm^2 a 27 g/cm^2 in una sala di trattamento 3.1 g/cm^2 a 27 g/cm^2 in due sale di trattamento Fino a 20 g/cm^2 per ioni O^{8+}
Modulazione del picco di Bragg	0.1 g/cm^2
Passo di regolazione del range	0.1 g/cm^2
Accuratezza di modulazione/regolazione	≤ ± 0.025 g/cm^2
Rateo medio di dose	2 Gy/min. (per volumi di trattamento di 1000 cm^3)
Precisione della dose somministrata	≤ ± 2.5 %
Altezza dell'asse del fascio	150 cm (linea di fascio per testa-collo) 120 cm (in altri siti)
Dimensione del fascio[1]	4 a 10 mm FWHM per ciascuna direzione indipendentemente
Variazione dimensione fascio[1]	1 mm
Accuratezza dimensione fascio[1]	≤ ± 0.25 mm
Passo di regolazione posizione fascio[1]	0.8 mm
Accuratezza posizione fascio[1]	≤ ± 0.2 mm
Dimensione campo[1]	5 mm a 34 mm (diametro per trattamenti oculari) 2×2 cm^2 a 20×20 cm^2 (per fasci oriz. e vert.)
Accuratezza posizione campo[1]	≤ ± 0.5 mm
Passo di regolazione dimensione campo[1]	1 mm
Accuratezza dimensione campo[1]	≤ ± 0.5 mm

[1]All'isocentro.

Il disegno originale del sistema di accelerazione dei fasci proviene dal Proton Ions Medical Machine Study (PIMMS [9, 10]), studio svolto al CERN alla fine degli anni 90. Il disegno PIMMS è stato adattato dalla Fondazione TERA [11] ad una disposizione più compatta per favorire la sua installazione in ambiente ospedaliero (*Fig. 3* [12]). L'impianto di Pavia è stato costruito tra il 2005 e il 2009 con la collaborazione di molti istituti quali l'INFN, l'Università di Pavia,

l'Università di Milano, il Politecnico di Milano, il CERN, il GSI (Darmstadt, Germania), l'LPSC (Laboratorio di Fisica subatomica e Cosmologia, Grenoble) e altri.

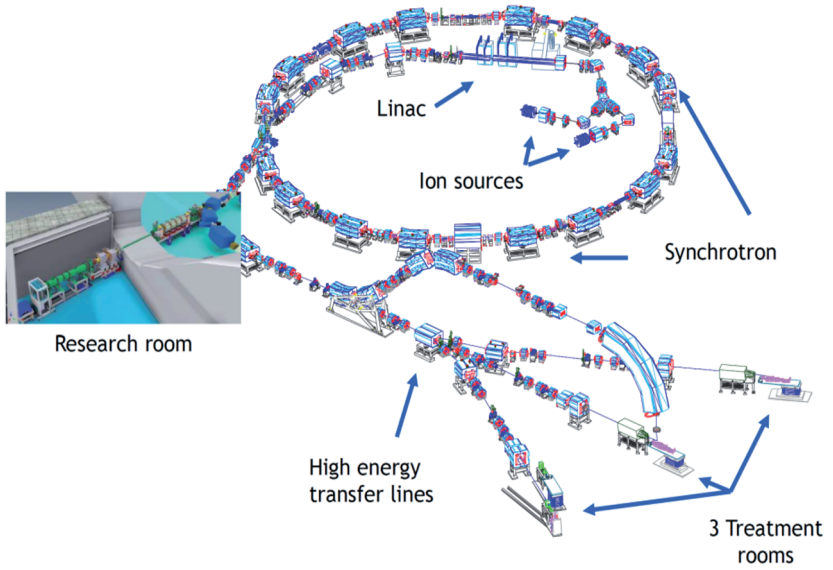


Fig. 3. Modello della disposizione compatta del sincrotrone del CNAO, la catena di iniezione si trova dentro l'anello e tre linee di fascio orizzontali sono selezionate da un singolo magnete fan-out. Inoltre, è mostrata la sala sperimentale. Il diametro del sincrotrone è di circa 25 m.

Esperimenti di ricerca vengono svolti al CNAO nella sala sperimentale costruita in collaborazione con l'INFN, dove la linea di fascio può essere sistemata in diverse configurazioni, o secondo lo spazio necessario a valle del bersaglio o in termini di dimensioni della misura del campo di irradiazione. Questa sala opera in parallelo con le sale di trattamento ed è accessibile indipendentemente, quindi la messa in opera degli esperimenti non interferisce con l'attività clinica quotidiana. Laboratori con strumenti di diverso tipo e aree di preparazione aggiuntive completano i servizi di supporto alla ricerca.

Le sale di trattamento sono dotate di apparecchiature robotiche che consentono il posizionamento del paziente in modo estremamente accurato e la verifica della corretta posizione del paziente per mezzo di un sistema di immagini radiografiche in sala (*Fig. 4*).



Fig. 4. Le apparecchiature di allineamento dentro la sala di trattamento del CNAO. In blu, il lettino robotico pantografico che ha 6 gradi di libertà di movimento. Le apparecchiature di allineamento sul soffitto: il cilindro che incorpora i due tubi ortogonali a raggi X e i pannelli radiografici contrapposti. Al di sopra del lettino sono anche visibili tre camere a raggi infrarossi, che sono usate per monitorare in tempo reale la posizione spaziale dei markers rifrangenti situati sulla maschera del paziente.

Per adeguarla alla selettività intrinseca della terapia con particelle, l'accuratezza nel posizionamento del paziente è di ±0.3 mm in traslazione e ±0.1° in rotazione. Lo sviluppo di apparecchiature di posizionamento e di immagini su misura è stato il centro focale di una lunga collaborazione con il Politecnico di Milano. In particolare, apparecchiature robotiche industriali sono state sfruttate per sviluppare tecniche per immagini volumetriche in sala, basate su bracci rotanti a forma di C, dotati di tubi per raggi X e rivelatori digitali, in grado di effettuare ricostruzioni di immagini di Tomografia Computerizzata (CT) e registrazioni tridimensionali [13]. Strumenti speciali sono anche stati sviluppati per il monitoraggio ottico dello spostamento del bersaglio in tempo reale usando camere a infrarossi montate sopra il lettino [14]. È altresì in uso clinico un nuovo sistema di allineamento robotico per orientare la direzione dello sguardo del paziente e monitorare la posizione dell'occhio nel trattamento delle lesioni oculari [15].

2.1. Una nuova sorgente al CNAO

Il CNAO utilizza due sorgenti commerciali identiche della famiglia Supernanogan ECR (Electron Cyclotron Resonance) [16], modificate dal CNAO con i Laboratori Nazionali del Sud (INFN-LNS), delle quali una produce fasci di protoni, l'altra di ioni carbonio.

Queste sorgenti commerciali hanno intensità di corrente sufficienti per minimizzare il tempo di trattamento del paziente e sono anche caratterizzate da alta affidabilità, stabilità e riproducibilità dei fasci prodotti. Il piano di espansione, approvato recentemente dal Ministero della Salute, include l'aggiunta di una terza sorgente, in grado di produrre altre specie di ioni. Il progetto è stato finanziato dalla Regione Lombardia con fondi europei (progetto INSpIRIT – Innovative accelerator facility with Sources Ions for Research and radiation hardness studies with IndusTrial and clinical applications [17]). Le nuove specie di ioni includono l'elio, il litio, il boro, l'ossigeno, l'argon e anche il ferro, che è utile per la ricerca biospaziale.

La nuova sorgente, chiamata AISHa (Advanced Ion Source for Hadron therapy), è stata realizzata da INFN-LNS ed è basata sui più recenti sviluppi teoretici nel campo [18]. Il progetto include innovazioni tecnologiche che, a confronto con le sorgenti disponibili attualmente, permettono di ottenere più alte performance in termini di stato di carica, intensità di corrente e versatilità delle specie di ioni, mantenendo in parallelo tutte le caratteristiche richieste per le configurazioni ospedaliere.

Nella *Tab. 2*, sono riportate in una lista le specie di ioni e le relative correnti prodotte da AISHa, comparate con le sorgenti ECR attualmente in uso.

La terza sorgente sarà installata all'interno dell'anello del sincrotrone in una configurazione che consentirà alle tre sorgenti di funzionare simultaneamente, e sarà inizialmente utilizzata nella sala sperimentale per attività di ricerca.

Ciascuna sorgente manterrà la propria funzionalità anche se non in uso per le fasi di accelerazioni successive. INSpIRIT include anche il fascio di trasporto a bassa energia (LEBT) per iniettare il fascio nel linac e nuove componenti per la commutazione rapida tra le specie di ioni nelle sale di trattamento.

Tab. 2. Lista delle specie di ioni e delle relative correnti prodotte da sorgenti ECR (Electron Cyclotron Resonance) attualmente in uso al CNAO e dalla nuova sorgente AISHa (Advanced Ion Source for Hadrontherapy).

Ione	**Sorgenti ECR (eμA)**	**AISHa (eμA)**
H^+	2000	4000
H_2^+	1200	2000
H_3^+	1000	1500
$^3He^+$	800	2000
$^{12}C^{4+}$	250	800
$^6Li^{2+}$-$^7Li^{2+}$	-	800
$^{10}B^{3+}$-$^{11}B^{3+}$	-	600
$^{16}O^{6+}$	400	1200
$^{21}Ne^{7+}$	120	500
$^{40}Ar^{12+}$	20	140

2.2. Nuova sala per terapia con protoni

La decisione originaria del CNAO di focalizzarsi soprattutto sull'uso di ioni carbonio ha condotto all'adozione di fasci fissi, orizzontali e verticali. Infatti, gli ioni carbonio, oltre a una grande precisione, possono vantare un'efficacia radiobiologica accentuata, che permette una buona distribuzione, raggiunta con il solo uso di fasci fissi. Allo stato attuale però, la indisponibilità di un *gantry* per protoni rappresenta una limitazione. Il recente progresso tecnologico ha messo a disposizione soluzioni interessanti, compatte e abbordabili per avere a disposizione fasci rotanti di protoni. Il *gantry* consente al fascio di muoversi attorno al paziente, riducendo i tempi di posizionamento da un canto, e aumentando le soluzioni terapeutiche dall'altro.

L'installazione di un acceleratore per protoni a servizio di un *gantry* ha un duplice scopo: garantisce la produttività indipendente in termini di quantità di pazienti e rappresenta un back-up per i trattamenti di pazienti in caso di manutenzione o di tempi di arresto del sincrotrone esistente. Il 5 Dicembre 2019, la Fondazione CNAO ha firmato un contratto con Hitachi Ltd per la fornitura di un nuovo sincrotrone e di un *gantry* per protoni. La *Fig. 5* presenta il modello del sistema che sarà installato in una sala dedicata e la *Tab. 3* riassume le principali caratteristiche del nuovo impianto.



Fig. 5. Modello della tecnologia per terapia con protoni proposto da Hitachi *(Cortesia di Hitachi)*.

Tab. 3. Caratteristiche principali del sistema Hitachi da installare al CNAO.

Elemento	**Specifiche**
Acceleratore	Sincrotrone
Specie particella	Protoni
Intervallo di energia	70–230 MeV
Range massimo	32 g/cm^2
Range minimo	4 g/cm^2
Massima dimensione del campo all'isocentro	40 cm × 30 cm
Rateo di dose	≥1.4 Gy/min.
Metodo di modulazione del range	Cambio attivo dell'energia con acceleratore oppure cambio con range shifter
Gantry	*Gantry* rotante di 360 gradi
Lettino robotico	6 DOF lettino robotico basculante con correzione di errore w
Immagini	Apparecchiatura per immagini ortogonali (radiografia, fluoroscopia, CBTC con capacità di rendere immagini in tempo reale)

Il campo massimo di trattamento, uguale a 30x40 cm^2, è stato un importante parametro nella valutazione delle performance del sistema. Questo è particolarmente utile per trattare le lesioni pelviche estese e i pazienti pediatrici, ogniqualvolta siano necessarie irradiazioni cranio-spinali: un campo esteso evita il ricorso a tecniche di trattamento che impiegano isocentri multipli con conseguente giunzione di campi adiacenti, e riduce la criticità complessiva del piano di trattamento.

Si noti che il protonsincrotrone di Hitachi è simile al sincrotrone esistente al CNAO, e ciò permette il coinvolgimento del personale del CNAO nella fase gestionale, risparmiando sui costi di manutenzione e accentuando la rapidità di qualsiasi intervento. Altre sinergie si verificheranno certamente nello sviluppo dell'innovazione applicabile a entrambi i sistemi.

2.3. BNCT, una speranza per la cura di tumori metastatici

La Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) è una forma sperimentale di adroterapia, basata sull'irradiazione del tumore con neutroni dopo una perfusione dei tessuti con un composto di boro in grado di concentrare atomi ^{10}B nelle cellule tumorali. La reazione di cattura neutronica su ^{10}B è altamente probabile e genera due particelle ionizzanti: una particella e uno ione ^{7}Li. Queste particelle perdono tutta la loro energia su una distanza che è paragonabile al diametro della cellula e possono causare danni irreversibili al DNA della stessa. Se le cellule tumorali catturano sufficiente boro, cosicché si ottenga un'alta proporzione di concentrazione di boro tra il tumore e le cellule sane, un'irradiazione con neutroni può rilasciare una dose terapeutica al tumore, risparmiando i tessuti sani. La selettività di questa terapia è basata sulla distribuzione del boro. Questo rende la BNCT un'opzione adatta al trattamento di tumori diffusi: l'irradiazione a neutroni dell'organo intero interesserebbe tutti i noduli tumorali senza bisogno di conoscerne il numero, la distribuzione o la forma [19].

Lo sviluppo di sorgenti di neutroni provenienti da acceleratori, sostituendo i reattori nucleari, rappresenta l'innovazione recente più importante nel campo della BNCT [20]. Per questo motivo, questa tecnica e le sue applicazioni ai nuovi tumori sono ora dispiegabili in ambiente ospedaliero. La *Fig. 6* mostra l'acceleratore Tandem, prodotto dalla compagnia statunitense TAE Life Sciences (TLS). Tra TLS e CNAO è stata firmata una collaborazione il 22 novembre 2020, in base alla quale

l'acceleratore, le linee di fascio, il complesso di conformazione del fascio (BSA) e il posizionamento per la BNCT saranno resi disponibili in una nuova struttura presso il CNAO. Per la prima volta in Italia, un acceleratore di particelle relativamente piccolo per la produzione di fasci di neutroni sarà installato in uno spazio dedicato, pensato per attività cliniche e di ricerca. Questa macchina sarà poi utilizzata da un consorzio, formato da CNAO con INFN, Università di Pavia, Politecnico di Milano e aperto a collaborazioni internazionali, per lanciare i test pre-clinici e clinici che intendono dimostrare la sicurezza e l'efficacia della BNCT.



Fig. 6. Acceleratore Tandem con sorgente (a sinistra) e linee di fascio. L'energia del fascio di protoni è 2.5 MeV, l'intensità è 10mA *(Cortesia di TAE Life Sciences)*.

3. Attività cliniche: patologie e risultati

Il CNAO ha trattato oltre 3700 pazienti affetti da una vasta gamma di patologie, i cui ratei di incidenza sono indicati in *Fig. 7A*. Poco più della metà (55%) è stata trattata con ioni carbonio.

Dopo una fase iniziale di test clinici, necessaria per ottenere la certificazione CE del dispositivo medico del CNAO, il numero di pazienti trattati per anno è aumentato di anno in anno (*Fig. 7B*). Attualmente, il Centro tratta quasi 600 pazienti all'anno e la sua capacità operazionale potrebbe essere ancora aumentata di circa il 20%. Il Ministero della Salute italiano ha introdotto una lista di patologie per le quali i trattamenti sono autorizzati e rimborsati dal Sistema Sanitario Nazionale, i cosiddetti Livelli Essenziali di Assistenza (LEA).

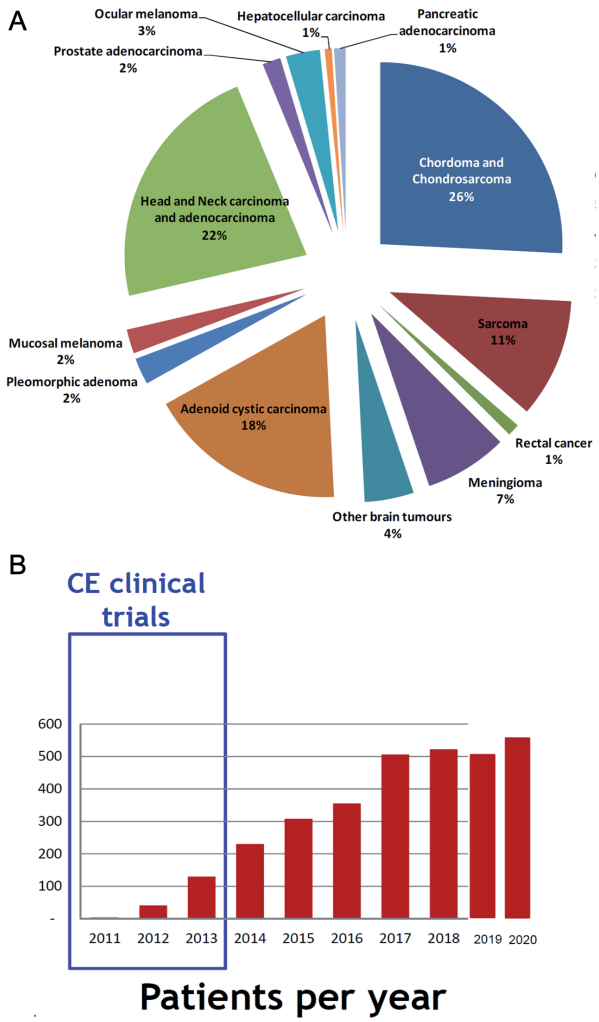


Fig. 7. A. Incidenza di patologie tumorali trattate al CNAO. B. Numero di pazienti trattati annualmente al CNAO.

Le patologie ammesse sono le dieci seguenti:

1. cordomi e condrosarcomi (della base del cranio e del midollo spinale);
2. meningiomi;
3. tumori cerebrali (tronco);

4. carcinomi adenoideo-cistici delle ghiandole salivari;
5. tumori dell'orbita oculare incluso il melanoma;
6. carcinomi sino-nasali;
7. sarcomi dei tessuti molli e delle ossa (tutti i siti);
8. tumori ricorrenti (ritrattamenti);
9. pazienti con disordini immunologici;
10. tumori pediatrici solidi.

Il Ministero della Salute sta attualmente discutendo altre categorie, considerando criteri di selezioni basati sulla valutazione dei parametri NTCP (Normal Tissue Complication Probability, probabilità di complicanze nei tessuti normali a seguito dell'irraggiamento) o TCP (Tumor Control Probability, probabilità di controllo del tumore).

La selezione dei pazienti basata sulla NTCP per neoplasie maligne ematologiche è attualmente attuata al CNAO in collaborazione con l'Istituto Curie di Parigi (Francia). Nell'ambito delle dieci categorie identificate dai LEA, si stima che ogni anno, in Italia, circa 5000 pazienti dovrebbero essere trattati con protoni e circa 1000 con ioni carbonio su una popolazione totale di 60 milioni.

Per questo motivo sembra essenziale creare una rete, in cui CNAO operi come hub, collegato ad altri centri di protonterapia nazionali. Questo modello di distribuzione è idealmente interessante, ma necessita di meccanismi solidi e definiti di selezione dei pazienti e di interazioni interdisciplinari tra CNAO e altri ospedali, per gestire la complessità a tutto tondo dei pazienti di adroterapia.

I dati dei pazienti mostrano che circa il 25-30% è stato trattato al CNAO in un contesto di re-irradiazione e il 15% dei pazienti ha grossi volumi di tumori (>500 cc); ciononostante, il controllo locale appare promettente e coerente con i dati della letteratura disponibili per simili trattamenti adroterapici.

Le tossicità loco-regionali, conteggiate di routine secondo le scale di riferimento internazionali – Common Toxicity Criteria Adverse Events (CTCAE), sono tenui e in alcuni casi anche migliori che nella letteratura, grazie anche alla performance del sistema di scansione attiva e all'attenta pianificazione dei trattamenti.

Durante gli ultimi due anni, oltre 100 contributi sono stati pubblicati su giornali scientifici da ricercatori del CNAO. Nel 2021, sono state fatte 50 pubblicazioni con Impact Factor globale di 290.5.

3.1. Test di ricerca clinica

Attualmente, CNAO sta anche conducendo ricerca clinica ed è in corso la selezione di pazienti per i seguenti studi.

1. PIOPPO – trattamento pre-operatorio con chemioterapia e radioterapia con ioni carbonio di adenocarcinomi pancreatici borderline operabili [21]: uno studio di fase 2, per la valutazione dell'approccio neo-adiuvante combinato con chemioterapia seguita da radioterapia con ioni carbonio per adenocarcinomi pancreatici borderline [22];
2. CYCLE – terapia con ioni carbonio nel trattamento di melanomi delle mucose nel tratto genitale femminile inferiore: uno studio di fase 2 per testare l'efficacia e la tollerabilità dei trattamenti con ioni carbonio dei melanomi ginecologici della mucosa non resecabili;
3. CYCLOPS – studio clinico sulla re-irradiazione delle recidive laterali pelviche di malignità ginecologiche: studio di fase 2, per valutare efficacia e tollerabilità della re-irradiazione con ioni carbonio per ricadute centrali di neoplasie ginecologiche al margine della precedente radioterapia con fascio di fotoni;
4. 4D-MRI – linee guida per la gestione del movimento degli organi nei trattamenti con particelle di tumori toracico-addominali: un test clinico per lo studio con 4D MRI del movimento delle neoplasie degli organi toracico-addominali;
5. INSIDE – studio osservativo sperimentale dal vivo in tempo reale del range delle particelle. Questo studio mira all'identificazione anticipata delle potenziali modifiche morfologiche del bersaglio o delle aree adiacenti, che potrebbero causare un'anomalia nella distribuzione della dose.

Il CNAO sta anche attivamente partecipando alla messa in atto di test clinici internazionali, quali:

STOPSTORM – studio di validazione in prospettiva europea per la terapia stereotattica dell'aritmia ventricolare: mira alla definizione e all'armonizzazione delle opzioni di trattamento radioterapico dell'aritmia ventricolare; da notare che, alla fine del 2019, in collaborazione con la Fondazione IRCSS Policlinico San Matteo di Pavia, per la prima volta in letteratura, un paziente affetto da aritmia ventricolare (VT) è stato trattato con successo con fasci di protoni al CNAO [23].

PROTECT – Terapia con Protoni verso Terapia con fotoni per il Tumore Esofageo, una strategia Trimodale: uno studio clinico rando-

mizzato che mira a produrre prova scientifica (in termini di efficacia e tossicità) sul trattamento con protoni pre-operatorio, combinato con la chemioterapia, per il cancro all'esofago. Questo test clinico è poi paragonato al trattamento gold standard attuale, che è una combinazione di chemioterapia e IMRT.

Inoltre, il CNAO è un partner attivo di ETOILE, uno studio internazionale randomizzato, che mira a paragonare il trattamento con ioni carbonio alle tecniche tradizionali di radioterapia a basso LET (fotoni e protoni) per istologie radio-resistenti. Di più, è coinvolto nello studio osservativo randomizzato chiamato SACRO, promosso dal Gruppo Italiano per i Sarcomi (ISG), che mira a paragonare la chirurgia alla terapia con particelle in pazienti affetti da cordoma sacrale.

Il CNAO è anche un partner, insieme alla Fondazione IRCSS Istituto Nazionale dei Tumori di Milano, di uno studio prospettico promosso dall'Istituto Europeo di Oncologia (Milano) e finanziato dall'AIRC (Associazione Italiana per la ricerca sul Cancro). L'obiettivo di questo studio è la valutazione dell'efficacia e della tossicità di un trattamento di ioni carbonio, seguito da IG-IMRT cioè guidato da immagini, per tumore della prostata ad altro rischio.

Infine, il CNAO sta analizzando i risultati dei due studi clinici multicentrici di fase 2 SINTART1 e SINTART2, concepiti per valutare innanzitutto l'efficacia di un trattamento multimodale (chemioterapia, chirurgia, radioterapia con fotoni e/o ioni pesanti) di pazienti con carcinoma sino-nasale operabile (SINTART1) e inoperabile (SINTART2).

4. Conclusioni

L'adroterapia sta divenendo sempre di più una prassi clinica per il trattamento efficace di un numero crescente di patologie. Centri per protoni sono sparsi ampiamente nel mondo e la soglia di 100 centri sta per essere ben presto superata. Quasi 300,000 pazienti sono stati trattati con protoni. Il numero dei centri che somministrano ioni carbonio è ancora limitato, a causa dei costi della tecnologia e delle infrastrutture, e solo una dozzina sono attualmente operativi con circa 40,000 pazienti trattati, ma il futuro appare promettente, grazie all'introduzione di nuove tecnologie che potrebbero ridurre costi e dimensioni.

La sfida dell'adroterapia è raccogliere prove cliniche. La prova della sicurezza e dell'efficacia della terapia con particelle è in crescita

per una varietà di situazioni cliniche. Tuttavia, mancano ancora prove di alto livello che paragonino direttamente la terapia con protoni con le tecniche di radioterapia convenzionale. Certi studi randomizzati che paragonano la radiazione convenzionale con la protonterapia sono in corso (per il glioma di basso grado, il cancro orofaringeo e quello esofageo). Per alcune patologie quali i cordomi, i condrosarcomi e i tumori delle ghiandole salivari, la terapia con ioni carbonio (CIRT) si è dimostrata essere altamente efficace. Per molti altri tipi di tumori quali il cancro inziale dei polmoni, il cancro esofageo, il carcinoma epato-cellulare, il cancro del pancreas, i tumori ginecologici o della prostata, il trattamento CIRT è sotto analisi, principalmente su serie di casi e alcuni studi prospettici. Il maggiore fattore che guida la messa in atto della terapia con particelle è la riduzione della dose integrale, a confronto con i piani con fotoni, ai tessuti normali. Ciò dovrebbe tradursi in riduzione di tossicità acuta e a lungo termine, e in una migliore qualità di vita post terapia. Il vero impatto della terapia con particelle sul controllo locale del tumore (LC) o sulla sopravvivenza globale (OAS) può essere determinata soltanto da studi clinici.

Le attività di ricerca sono importanti e necessarie per sfruttare appieno i fasci di adroni, sia in termini di precisione balistica degli adroni, che non è ancora al pieno del suo potenziale, sia rispetto all'efficacia radiobiologica dei fasci terapeutici, che ancora richiede esperimenti radiobiologici pre-clinici sistematici.

Il centro per Adroterapia Oncologica (CNAO) rappresenta un centro di eccellenza sostenuto dal Ministero della Salute italiano e dalla Regione Lombardia. Più di 3700 pazienti sono stati trattati con buoni risultati e molte attività di ricerca sono in corso per migliorare l'esito dei trattamenti. Nuove modalità saranno introdotte nel futuro prossimo, e precisamente una nuova sala per protonterapia con *gantry*, una terza sorgente di ioni per avere a disposizione nuove specie per la ricerca e le applicazioni cliniche, un nuovo acceleratore per produrre fasci di neutroni per attivare la Boron Neutron Capture Therapy (BNCT).

Il personale del CNAO rappresenta il valore più importante dell'organizzazione. A oggi, lo staff del CNAO conta 154 membri. La presenza in termini di genere è prossima al 50-50 [24, 25]. Le caratteristiche distintive dello staff sono l'età media relativamente bassa (40 anni), l'alto livello di istruzione (79% laureati, 39% con specializzazione e/o dottorati) e un livello notevole di specializzazione (intorno a venti diverse posizioni organizzative).

In prospettiva, la creazione di reti tra impianti di adroterapia e ospedali convenzionali, cliniche di ricerca, università e istituti di ricerca è fondamentale. Queste reti da un lato possono garantire la crescita della conoscenza culturale dell'adroterapia, e dall'altro favoriscono il reclutamento di pazienti e infine, ma non ultimo come importanza, mettono a disposizione le necessarie competenze per programmi di Ricerca e Sviluppo (R&D).

Informazione

Le attività di ricerca presso il CNAO sono parzialmente sostenute da fondi Horizon 2020 dell'Unione Europea e dal programma di innovazione sotto l'egida dell'accordo N. 101008548 (HITRI*plus*).

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare lo Staff del CNAO e gli istituti collaboranti che sono al lavoro per lo sviluppo dei progetti del CNAO.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Haberer, T. Ion Beam Therapy at HIT: Options for Multi-Ion Treatment and Research. Talk at the 3rd HITRIplus Seminar, 13 October 2021, Heidelberg University Hospital, Heidelberg, Germany. Available online: https://indico.cern.ch/event/1081649/ (accessed on 30 November 2021).
2. Krämer, K.; Durante, M. Ion beam transport calculations and treatment plans in particle therapy. *Eur. Phys. J.* ***2010****, 60, 195–202.*
3. Suit, H.; DeLaney, T.; Goldberg, S.; Paganetti, H.; Clasie, B.; Gerweck, L.; Niemierko, A.; Hall, E.; Flanz, J.; Hallman, J.; et al. Proton vs carbon ion beams in the definitive radiation treatment of cancer patients. *Radiother. Oncol.* **2010**, *95*, 3–22. https://doi.org/10.1016/j.radonc.2010.01.015.
4. Durante, M.; Loeffler, J.S. Charged particles in radiation oncology. *Pub. Med*. **2009**, *7*, 37–43. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.183.
5. Wilson, R.R. Radiological use of fast protons. *Radiology* **1946**, *47*, 487–491. https://doi.org/10.1148/47.5.487.
6. Slater, J.M.; Archambeau, J.O.; Dicello, J. F.; Slate, J.D., Proton beam irradiation: toward routin clinical utilization. In *Hadrontherapy in Oncology*: Proceedings of the First International Symposium on Hadrontherapy, Como, Italy, 18-21 October,

1993; Amaldi, U., Larsson, B.; Eds.; Elsevier Science: Amsterdam, The Netherland, 1994; p. 130.
7. Kawachi, K.; Yamada, S.; Sato, K.; Ogawa, H.; Soga, F.; Kanai, T.; Endo, M.; Hirao, Y. Heavy ion medical accelerator facility in Japan. In *Hadrontherapy in Oncology:* Proceedings of the First International Symposium on Hadrontherapy, Como, Italy, 18-21 October, 1993; Amaldi, U., Larsson, B.; Eds.; Elsevier Science: Amsterdam, The Netherlands, 1994, p. 229.
8. Available online: www.ptcog.ch dated September 2021 (accessed on 30 November 2021).
9. Badano, L.; Benedikt, M.; Bryant, P.J.; Crescenti, M.; Holy, P.; Maier, A.T.; Pullia, M.; Rossi, S.; Knaus, P. *Proton-Ion Medical Machine Study (PIMMS). Part I*; Report CERN/PS 99-010 (DI); CERN: Geneva, Switzerland, 1999. Available online: https://cds.cern.ch/record/385378 (accessed on 30 November 2021).
10. Bryant, P.J.; Badano, L.; Benedikt, M.; Crescenti, M.; Holy, P.; Maier, A.T.; Pullia, M.; Reimoser, S.; Rossi, S.; Borri, G.; et al. *Proton-Ion Medical Machine Study (PIMMS). Part I*; *Part II*; Report CERN/PS 2000-007 (DR); CERN: Geneva, Switzerland, 2000. Available online: https://cds.cern.ch/record/449577 (accessed on 30 November 2021).
11. Amaldi, U.; Magrin, G. (Eds.) *The Path to the Italian National Centre for Ion Therapy*, Edizioni Mercurio: Vercelli, Italy, 2005.
12. Rossi, S. The status of CNAO. *Eur. Phys. J. Plus* **2011**, *126*, 78.
13. Fattori, G.; Riboldi, M.; Pella, A.; Peroni, M.; Cerveri, P.; Desplanques, M.; Fontana, G.; Tagaste, B.; Valvo, F.; Orecchia, R.; et al. Image guided particle therapy in CNAO room 2: Implementation and clinical validation. *Phys. Med.* **2015**, *31*, 9–15. https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2014.10.075.
14. Fattori, G.; Seregni, M.; Pella, A.; Riboldi, M.; Capasso, L.; Donetti, M.; Ciocca, M.; Giordanengo, S.; Pullia, M.; Marchetto, F.; et al. Real-time optical tracking for motion compensated irradiation with scanned particle beams at CNAO. *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. A: Accel. Spectrom. Detect. Assoc. Equip.* **2016**, *827*, 39–45. https://doi.org/10.1016/j.nima.2016.04.066.
15. Via, R.; Fassi, A.; Fattori, G.; Fontana, G.; Pella, A.; Tagaste, B.; Riboldi, M.; Ciocca, M.; Orecchia, R.; Baroni, G. Optical eye tracking system for real-time noninvasive tumor localization in external beam radiotherapy. *Med. Phys.* **2015**, *42*, 2194–2202. https://doi.org/10.1118/1.4915921.
16. Available online: https://www.pantechnik.com/ecr-ion-sources/ (accessed on 30 November 2021).
17. Hub Research and Innovation, POR FESR 2014-2020, ID 1161908. Available online: https://home.infn.it/en/media-outreach/infn-newsletter/newsletter-interview/4680-interview-valerio-vercesi-2 (accessed on 30 November 2021).
18. Celona, L.; Ciavola, G.; Gammino, S.; Andò, L; Mascali, D. Design of the AISHA ion source for hadrontherapy facilities. In Proceedings of the Proceedings of the 20th International Workshop on ECR Ion Sources, ECRIS2012, Sydney, Australia, 25–28 September 2012; pp. 54–56. Available online: https://accelconf.web.cern.ch/ECRIS2012/papers/tupp08.pdf (accessed on 30 November 2021).
19. Saverwein, W.; Wittig, A.; Moss, R.; Nakagawa, Y. *Neutron Capture Therapy:*

Principles and Applications; Springer-Verlag: Berlin/Heidelberg, Germany, 2012. https://doi.org/10.1007/978-3-642-31334-9.
20. Suzuki, M. Boron Neutron Capture Therapy (BNCT): A unique role in radiotherapy with a view to entering the accelerator-based BNCT era. *Int. J. Clin. Oncol.* **2020**, *25*, 43–50. https://doi.org/10.1007/s10147-019-01480-4.
21. Available online: https://ClinicalTrials.gov , ID: NCT03822936 (accessed on 30 November 2021).
22. Vitolo, V.; Cobianchi, L.; Brugnatelli, S.; Barcellini, A.; Peloso, A.; Facoetti, A.; Vanoli, A.; Delfanti, S.; Preda, L.; Molinelli, S.; et al. Preoperative chemotherapy and carbon ions therapy for treatment of resectable and borderline resectable pancreatic adenocarcinoma: A prospective, phase II, multicentre, single-arm study. *BMC Cancer* **2019**, *19*, 922. https://doi.org/10.1186/s12885-019-6108-0.
23. Dusi, V.; Vitolo, V.; Frigerio, L.; Totaro, R.; Valentini, A.; Barcellini, A.; Mirandola, A.; Perego, G.B.; Coccia, M.; Greco, A.; et al. First-in-man case of non-invasive proton radiotherapy for the treatment of refractory ventricular tachycardia in advanced heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* **2020**, *23*, 195–196. https://doi.org/10.1002/ejhf.2056.
24. Orlandi, E.; Dal Mas, F.; Paoloni, P.; Band, H.; Fiore, M.R.; Vischioni, B.; Vitolo, V.; Campo, C.; Facoetti, A.; Necchi, M. et al. A short reflection on COVID-19 and gender equality in healthcare. In Organizational Resilience and Female Entrepreneurship During Crises. Emerging Evidence and Future Agenda; Paoloni, P., Lombardi, R., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2022. https://doi.org/10.1007/978-3-030-89412-2
25. Paoloni, P.; Dal Mas, F.; Massaro, M.; Barcellini, A.; Orlandi, E. An Organizational model for female leadership in healthcare. The National Centre of Oncological Hadrontherapy (CNAO Foundation) experience during the COVID-19 pandemic. In Proceedings of the 4th International Conference on Gender Research, ICGR 2021, Aveiro, Portugal, 21–22 June 2021; Pereira, E.T., Costa, C., Breda, Z., Eds.; Academic Conferences and Publishing International Limited: Reading, 2021; pp. 228–237. https://doi.org/10.34190/IGR.21.025.

ILLUMINAZIONE: EVOLUZIONE TECNOLOGICA SOSTENIBILE TRA PASSATO, PRESENTE E FUTURO

ALBERTO BOSSI (*)

Nota presentata dal m.e. Stefano Maiorana
(Adunanza del 25 novembre 2021)

SUNTO. – La sensibilità verso problematiche ambientali ha, negli ultimi anni, notevolmente incentivato lo sviluppo di una serie di sistemi innovativi per il risparmio energetico (illuminazione, sensoristica) o per la conversione efficace di energie rinnovabili (fotovoltaico, geotermico, eolico) implementabili sia a livello industriale che a livello domestico. In questa nota verrà illustrato il caso emblematico della luce ed in generale dell'illuminazione. La luce, per quanto spesso sia dato per scontato, ci permette infatti non solo di vedere e di muoverci nel nostro ambiente, ma è considerata una forma di benessere fisico e mentale: di fatto ci aiuta a funzionare meglio. Dopo una breve panoramica su come, negli ultimi 150 anni, l'illuminazione è stata resa un bene essenziale si discuterà, a partire dalle lampade sviluppate da Edison, lo sviluppo odierno della tecnologia OLED (diodi organici ad emissione di luce) e le prospettive e sfide nei prossimi anni. Si evidenzierà come la chimica abbia dato anche in questo settore un contributo fondamentale ed eserciti un effetto trainante per i settori della fisica e della ingegneria.

***

ABSTRACT. – The concern about environmental problems, in recent years, greatly encouraged and fostered the development of innovative energy saving systems (lighting and sensors) and effective energy conversion devices using renewable sources (solar, geothermal, wind); those technologies are now largely employed both at industrial and domestic levels. This note illustrates the emblematic case of light manipulation and lighting systems. Artificial light, being often assumed for granted, do not only allow us to see and move in our surroundings, but it also helps us to interact with the environment and live better. It is truly considered a form of physical and mental well-being. After a brief historical overview on the lighting system evolution during the last 150 years, starting from

(*) Istituto di Scienze e Tecnologie Chimiche "G. Natta" del CNR; SmartMatLab Centre dell'Università degli Studi di Milano, Italy. E-mail: alberto.bossi@cnr.it

the lamps developed by Edison, we will discuss the current revolution of the OLED (organic light emitting diodes) technology. Focusing on OLEDs perspectives and challenges, it will be highlighted the fundamental contribution given by the chemistry and the steering effect on the physics and engineering fields.

1. Introduzione

Da sempre l'uomo ha cercato la luce, ovvero ha cercato di disporre e controllare una sorgente luminosa in grado di permettere tutte quelle attività in cui la fonte di illuminazione per eccellenza, il Sole, non fosse disponibile a sufficienza. In primo luogo, durante le ore notturne, ma anche durante il giorno in quegli ambienti che non potevano accogliere la luce naturale o per quelle mansioni in cui era necessario avere una intensa illuminazione. La soluzione a questa ricerca è sempre stata posta nel fuoco, considerata una fonte naturale di luce.

È solo con l'avvento del 1800 che all'uomo giunge una tecnologia per l'illuminazione rivoluzionaria, è l'illuminazione elettrica, ovvero la prima fonte artificiale di luce ad essere realizzata; una fonte artificiale ma in grado di essere controllata con una semplicità senza precedenti, disponibile per tutti e "quasi" illimitata. Nel giro di poco più di centocinquanta anni l'illuminazione artificiale ha soppiantato a livello pubblico e negli ambienti privati qualunque altro metodo di illuminazione. Non solo, ma in pochi decenni la tecnologia si è talmente evoluta da essere in grado di rendere disponibili sorgenti luminose efficienti, gradevoli sotto il prospetto cromatico e con rendimenti di illuminazione prossimi al 90% nel rapporto luce prodotta rispetto alla corrente elettrica consumata[1].

Nei prossimi paragrafi verranno esaminati il contesto tecnologico in cui ha avuto origine l'illuminazione come oggi è conosciuta, i progressi nel settore con alcuni esempi moderni di quello che è "il presente" della luce artificiale LED (acronimo inglese di light emitting diode).

La nascita dell'illuminazione come la conosciamo oggi è una "scoperta" relativamente recente se rapportata all'evoluzione della specie umana sulla terra. Infatti, la prima lampadina ad incandescenza risale ai brevetti di Thomas Edison del 1879 e loro successiva messa in opera.

Sono tre fondamentalmente le tecnologie sviluppate in illuminazione ed introdotte su scala planetaria. In *Fig. 1* sono riportate, rispetto ad una scala temporale dal 1800 ad oggi, le tappe fondamentali dell'evoluzione della luce "artificiale". La lampada ad incandescenza, brevet-

tata nel 1879 da Edison, i tubi al "Neon" introdotti nel 1902, ed i diodi ad emissione di luce oggi conosciuti come luci al LED scoperti nel 1962 e rivoluzionati nel 1986 grazie all'inserimento di materiali organici nella struttura che ha portato alla produzione dei noti OLED, dispositivi che spopolano negli schermi ad alte prestazioni.

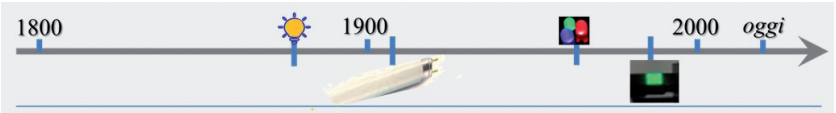


Fig. 1. Posizionamento temporale delle sorgenti di illuminazione artificiali.

In *Fig. 2* sono riportate le tappe delle scoperte nelle tecnologie di illuminazione artificiale ed il loro attuale stato di sviluppo (progresso) tecnologico. Si noti subito una curiosità, delle tre fonti luminose, la lampada ad incandescenza è l'unica sorgente luminosa ad essere stata rimossa dal mercato e non più prodotta dal 2012 in quanto oggetto di obsolescenza tecnologia per via dello scarso rendimento.

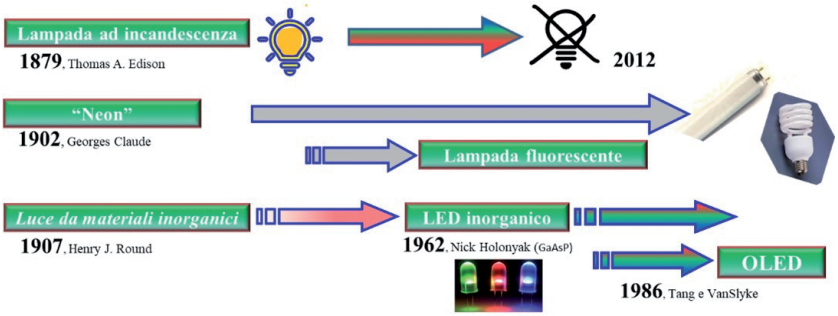


Fig. 2. Le tecnologie di illuminazione artificiale.

È conveniente una riflessione sull'origine temporale posta ad inizio 1800 nella *Fig. 1* e non dalla formale scoperta della lampadina. Infatti, le lampade a incandescenza e le altre tecnologie artificiali di illuminazione, per poter funzionare, richiedono come fonte di energia l'elettricità.

Ed è del 1800 l'invenzione di Alessandro Volta della famosa *pila*, il primo generatore di energia elettrica. La pila è di fatto la tecnologia per cui da una reazione chimica, condotta in opportune condizioni si è in grado di produrre una corrente elettrica. La pila di Volta è costituita da un sistema impaccato in cui dischi di zinco (Zn) e rame (Cu) alternati sono separati da un peltro imbevuto di acido. Le semireazioni

spontanee che portano alla produzione di energia elettrica nella pila sono riportate sotto:

$Zn \rightarrow Zn^{2+} + 2e^-$ Semireazione anodica, polo negativo

$Cu^{2+} + 2e^- \rightarrow Cu$ Semireazione catodica, polo positivo

Pochi anni dopo l'invenzione della pila, altre due scoperte consentiranno all'energia elettrica prendere piede e diffondersi in maniera capillare. La prima è la scoperta da parte di Faraday nel 1831 del fenomeno dell'induzione elettromagnetica ovvero il processo secondo cui facendo variare l'intensità di un campo magnetico in un circuito si genera una corrente elettrica; la seconda è lo sviluppo da parte di Antonio Pacinotti nel 1859 del primo generatore dinamo-elettrico (*Fig. 3*) cioè il sistema impiegato per la costruzione di dinamo e motori elettrici (continui e non).

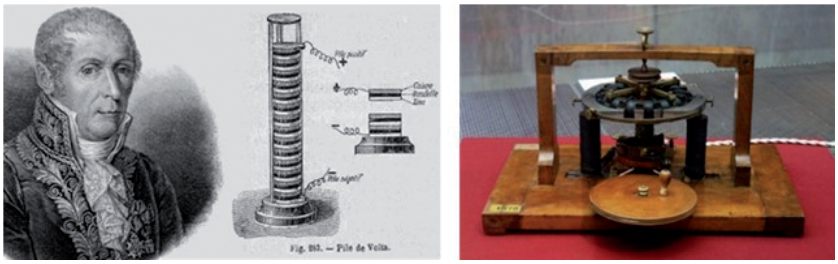


Fig. 3. Volta ed una immagine della sua pila a sinistra, a destra il prototipo di Pacinotti di generatore dinamoelettrico.

2. Le sorgenti di illuminazione artificiale

Dopo questa breve introduzione, si analizzeranno brevemente i sistemi di illuminazione moderni con riferimenti ai vantaggi e svantaggi ed alle ragioni che hanno portato al loro sviluppo ed eventualmente alla obsolescenza.

2.1 La Lampadina

Formalmente, nel 1879 Edison brevetta quello che fino ad una decina di anni fa era il sistema di illuminazione per eccellenza e universalmente diffuso, la lampada ad incandescenza (o semplicemente lampadina). Questo dispositivo è un sistema complesso costituito oltre che da un filamento a spirale ad alta resistenza percorso da corrente elettrica, da un bulbo di vetro di contenimento, da contatti elettrici, e da un

supporto “standardizzato” in funzione delle dimensioni dei portalampada. Il bulbo di vetro saldato al supporto viene tenuto in vuoto per limitare il degrado del filamento. Il processo che ha portato all’affinamento di questo dispositivo ha richiesto oltre 60 anni (a partire dal 1820) con studi su archi voltaici, rudimentali fili resistivi a base di platino, carbone di storta, fibre carbonizzate fino all’identificazione del tungsteno come materiale d’eccellenza.

Il principio attraverso cui le lampadine emettono luce è descritto dal famoso effetto Joule (James P. Joule) secondo cui il passaggio di corrente elettrica attraverso un filamento resistivo ne provoca il riscaldamento fino a raggiungere *l’incandescenza,* ovvero quella temperatura in cui si ha emissione di luce. In *Fig. 4* sono riportati la struttura di una lampadina e del filo incandescente ed il tipico spettro di luce emessa dalla stessa. Come si nota nel pannello destro, di tutta la luce emessa sottesa alla linea tratteggiata rossa, soltanto una piccolissima porzione (tra i 400 e i 700 nm) corrisponde alla luce visibile percepita dall’occhio umano. Ne consegue che buona parte della corrente elettrica, e quindi dell’energia che alimenta questi dispositivi, viene sprecata; ne risulta complessivamente una efficienza massima di conversione corrente-luce minore del 10%. Questo aspetto ha di fatto determinato l’obsolescenza tecnologica di questo sistema di illuminazione a partire dal 2012.

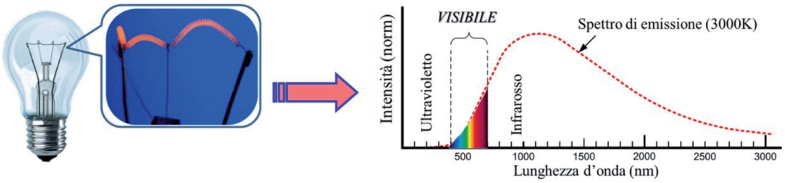


Fig. 4. A sinistra una lampadina ed un dettaglio del filamento incandescente; a destra spettro elettromagnetico tipico della luce emessa dalla lampadina.

2.2 *Il tubo al Neon e le lampade a fluorescenza*

Nel 1902 Georges Claude, noto forse al grande pubblico per il processo industriale di liquefazione dell’aria, scopre il fenomeno dell’emissione di “luce”, o meglio radiazione luminosa, da un gas rarefatto percorso da scarica elettrica.

In *Fig. 5* vengono riportati una sezione rappresentativa di un tubo al Neon assieme al processo fisico di emissione di luce ed un tipico spettro di luce emessa sia tipo freddo (cool) che caldo modulato (warm). Il

tubo al neon è un dispositivo quindi formato da un cilindro in vetro, sigillato alle estremità, su cui sono applicati i due elettrodi (anodo e catodo – visibile nella *Fig. 5*). Il tubo, è parzialmente riempito di gas Neon (oggi anche altri gas e tracce di mercurio). La pressione interna è molto bassa affinché il gas risulti rarefatto. Il processo attraverso cui viene emessa luce è comunemente noto come **ionizzazione** a scarica. Ovvero, il passaggio di corrente elettrica (scarica) attraverso un gas rarefatto fornisce l'energia necessaria perché avvenga la ionizzazione del gas stesso (formazione di un Plasma, nube di elettroni e nuclei positivi). Il gas ionizzato, quando torna del suo stato neutro, rilassa emettendo l'energia precedentemente assorbita sotto forma di luce. (*Fig. 5* pannello centrale).

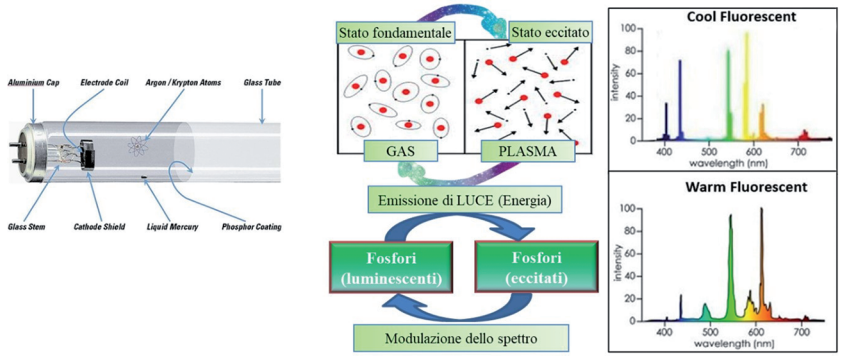


Fig. 5. A sinistra una sezione di lampa a neon; al centro una rappresentazione del processo di ionizzazione ed emissione; a destra spettro elettromagnetico tipico della luce emessa dalla lampadina.

Come si nota nel pannello di destra di *Fig. 5*, lo spettro luminoso del visibile (cool fluorescence) è molto diverso da quello di *Fig. 4* ed è il motivo per cui queste lampade sono sempre state "poco piacevoli" per ambienti domestici in quanto la componente di luce blu era molto alta rispetto al rosso conferendo il cosiddetto effetto di luce fredda, più adatta ad ambienti uso ufficio o laboratori. Per mitigare questa inadeguatezza, i tubi al neon sono stati implementati negli anni con dei rivestimenti di aspetto biancastro traslucido (phosphor coating in *Fig. 5*) che venendo eccitati dalla radiazione del tubo al Neon convertono tale luce in una più piacevole con maggiori componenti verdi e rosse tale da conferire un aspetto più gradevole (warm fluorescence).

Sotto il profilo energetico sono una soluzione con efficienza energetica almeno dell'80%.

2.3 *LED ed OLED*

Anche se già agli inizi del 1900 erano stati osservati fenomeni di emissione di luce da solidi inorganici, è a partire dal 1962 che sono stati ingegnerizzati i primi prototipi della nuova tecnologia di emissione di luce. Altrimenti nota come LED, questa tecnologia comporta emissione di luce monocromatica o luce bianca da dispositivi a stato solido inorganici. La più grande evoluzione (rivoluzione) in questo settore si ebbe nel 1986 quando vennero impiegati i primi materiali organici in sostituzione di costosi e spesso pericolosi materiali inorganici nella struttura del dispositivo.

Per capire la portata di questa innovazione, prima di riportare alcuni dettagli sul funzionamento e le attuali sfide in questa tecnologia, possiamo ricordare come in pochi anni dalla scoperta sia ormai diventata un punto di riferimento industriale ad alto riaprimmo energetico. LED e recentemente OLED (LED organici) sono impiegati in tre settori chiave, i display (schermi) di cellulari o televisori di ultima generazione, in illuminazione (nel settore automobilistico, luce bianca domestica e di design e per illuminazione stradale) ma anche nella trasmissione e rilevamento dati (codifica IR di segnali e dati). L'aspetto peculiare che differenzia la tecnologia OLED dalle precedenti forme di illuminazione citate è il fatto che è l'unico sistema in grado di poter essere messo in operando si superfici curve e soprattutto su supporti flessibili (schermi roll-up o flessibili di cui alcune case di smartphone hanno già messo in commercio alcuni esemplari).

Analizzando l'aspetto tecnologico, così come fatto per lampadine e neon, i dispositivi OLED sono costituiti da tre o più strati di materiali semiconduttori (*organici*) interposti tra un anodo trasparente ed un catodo metallico. Applicando una differenza di potenziale relativamente bassa, si ha emissione di luce in un processo detto elettroluminescenza. In *Fig. 6* sono rappresentati la struttura espansa di un dispositivo OLED multistrato (fogli verde, rosso e giallo) ed i corrispondenti elettrodi di lavoro. Nella parte destra della *Fig. 6* si riportano alcuni esempi delle classi di materiali impiegati[2].

Il principio di funzionamento di un OLED (elettroluminescenza) ed alcuni dei materiali impiegati nella realizzazione dei dispositivi sono rappresentati in *Fig. 7*. Come si può notare, uno degli enormi vantaggi di questa tecnologia deriva dal fatto che tipicamente piccole quantità di composti in grado di emettere luce per fosforescenza consentono di

coprire praticamente tutto lo spettro luminoso visibile dal blu fino al rosso e vicino IR con notevoli vantaggi in termini di versatilità.

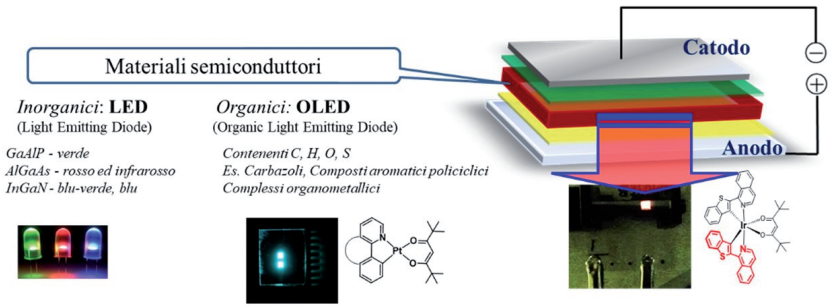


Fig. 6. Schema di un dispositivo OLED ed indicazione dei principali tipi di materiali utilizzati.

L'ottimizzazione e il modo in cui i vari materiali impiegati vengono accoppiati richiede una forte sinergia tra figure professionali con competenze multidisciplinari in chimica (per lo sviluppo di efficienti materiai), in fisica (per lo studio dei fenomeni di trasporto di carica) ed ingegneria (per l'ottimizzazione delle architetture dispositivistiche).

Tra i componenti che permettono il funzionamento di un dispositivo OLED, il materiale emissivo è quello che in prima analisi determina l'efficienza ed il colore. I materiali emissivi inclusi nello strato *emissivo* dello schema di *Fig. 7* (pannello sinistro) possono essere classificati in: materiali organici fluorescenti, polimeri coniugati fluorescenti, composti organometallici fosforescenti e più recentemente sono in studio sistemi luminescenti in forma di nanoparticelle e nanostrutture, e infine materiali con fluorescenza ritardata[3].

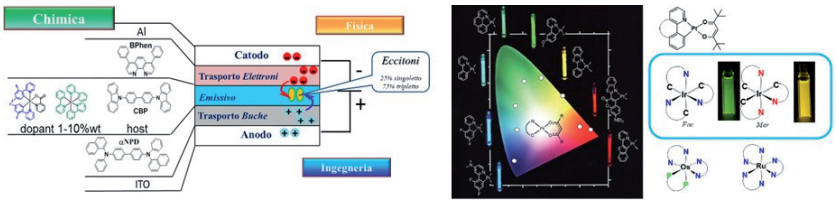


Fig. 7. Rappresentazione schematica di una sezione trasversale di un OLED in cui si distinguono i diversi strati attivi e quello responsabile dell'emissione di luce; Diagramma CIE in cui sono visibili diverse strutture chimiche con emissione dal blu al rosso; alcuni esempi di complessi organometallici usati in OLED.

Tra questi, i sistemi organometallici rappresentano l'attuale stato dell'arte della tecnologia potendo offrire efficienze teoriche del 100% come rapporto tra corrente che alimenta il dispositivo e luce emessa. Alcuni esempi di sistemi organometallici sono riportati in *Fig. 7* a destra e comprendono composti di coordinazione derivati da platino, iridio, rutenio ed osmio per citare i più diffusi.

Nei prossimi paragrafi verranno messe in luce le attuali sfide ancora aperte in questa tecnologia.

2.4 Stabilità dei dispositivi

Negli ultimi decenni, sono stati fatti enormi passi avanti nei processi di ingegnerizzazione della struttura di un dispositivo OLED, a partire dal corretto accoppiamento di materiali che compongono il multistrato all'uso di sistemi di incapsulamento per impedire la diffusione di aria ed umidità atmosferica tra gli strati attivi. Per estendere ulteriormente la vita di queste sorgenti luminose sono stati progettati *getters* in grado di catturare in maniera efficiente e permanente eventuali tracce di contaminanti che possono comunque diffondere nel dispositivo finito[4].

Con questi accorgimenti si è arrivati ad ottenere tempi di vita stimati per OLED verdi o rossi superiori alle 50000 ore. Un valore 40 volte superiore alla durata media di una lampadina ad incandescenza.

Quando però il dispositivo è progettato per emettere luce blu intorno ai 450nm (cui corrisponde la maggiore energia radiativa secondo la legge di Planck $E = h*c/\lambda$) molti aspetti molecolari diventano cruciali. Infatti, l'energia associata ad un fotone di 450nm può essere paragonabile alla energia di alcuni legami chimici presenti nei materiali usati negli strati attivi. In questi casi, a seguito di uso prolungato ed invecchiamento del dispositivo è possibile riscontrare due situazioni limite come rappresentate in *Fig. 8*. Ovvero, il dispositivo (i) col passare del tempo diventa meno efficiente quindi emette meno luce a parità di corrente che lo alimenta, oppure (ii) oltre a diminuire l'efficienza, si formano nuove specie emissive che cambiano il colore percepito.

Questo è il caso emblematico del cosiddetto FIrpic (la cui struttura è riportata al centro di *Fig. 8*), un complesso di iridio che ha una efficiente emissione nella regione del blue verde, adatto per generare, opportunamente combinata con altri colori, luce bianca.

Questa molecola è nota per presentare una instabilità nel lungo periodo. Molteplici analisi sono state condotte per scoprirne l'origine e un recente studio del nostro gruppo di ricerca, è stato in grado di dimostrare sia l'origine dell'instabilità della molecola sia il cammino attraverso cui la degradazione avviene. Il lavoro è stato organizzato attraverso un iniziale studio usando sofisticati metodi di chimica computazionale per identificare quali fossero i legami più deboli della molecola; a differenza di molti studi dove vengono analizzate le proprietà dello stato fondamentale e prese come modello, il metodo di calcolo implementato nello studio ha analizzato la stabilità chimica anche negli stati eccitati, quindi la situazione in cui realmente si trova il complesso appena prima di rilassare ed emettere una radiazione.

Da questa prima parte di studio, è stato evidenziato come il FIrpic sia perfettamente stabile nello stato fondamentale, mentre in stato eccitato, alcuni legami risultano destabilizzati e proni a dissociare se viene fornita sufficiente energia (tipo quella di una radiazione blu).

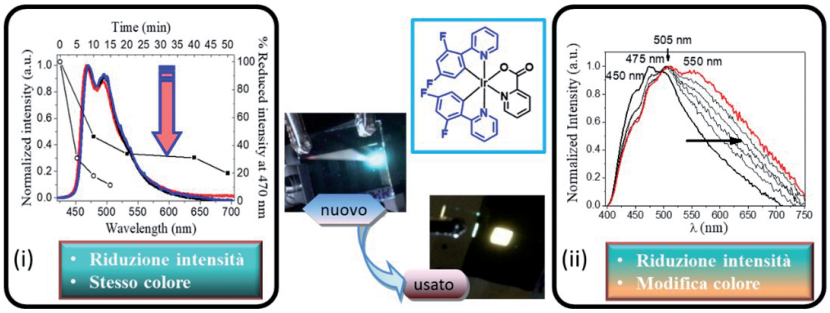


Fig. 8. Effetto dell'invecchiamento di un OLED con emissione di luce blu. Al centro due immagini di un prototipo invecchiato in cui si percepisce la variazione cromatica e la struttura chimica del FIrpic.

Il dato della modellizzazione è stato utilizzato poi per progettare una serie di esperimenti in laboratorio che, con diversi gradi di approssimazione si avvicinassero alla situazione sperimentata dal complesso FIrpic in un prototipo OLED.

Utilizzando quindi degli esperimenti mirati di intrappolamento di frammenti degradati e mediante l'uso di tecniche analitiche cromato-

grafiche ad alta prestazione e di spettrometria di massa, è stato possibili tracciare il processo di degradazione all'interno di dispositivi tipo quelli riportati al centro di *Fig. 8*. I risultati hanno così da un lato confermato il processo di degradazione, dall'altro hanno fornito parametri oggettivi per la progettazione di nuovi emettitori[5].

2.5 Efficienza nella zona del vicino IR

La regione dello spettro elettromagnetico del vicino infrarosso, NIR, è di fondamentale importanza in molteplici applicazioni tecnologiche, dal campo civile della sorveglianza e misura della temperatura in remoto, a quello militare dell'acquisizione di obiettivi e visori e schermi notturni, dal campo medico e biomedico per imaging *in vivo* e terapie fotodinamiche (i tessuti hanno minimi assorbimenti in questo spettro, pannelli a sinistra *Fig. 9*), a quello della guida assistita e nelle telecomunicazioni wireless.

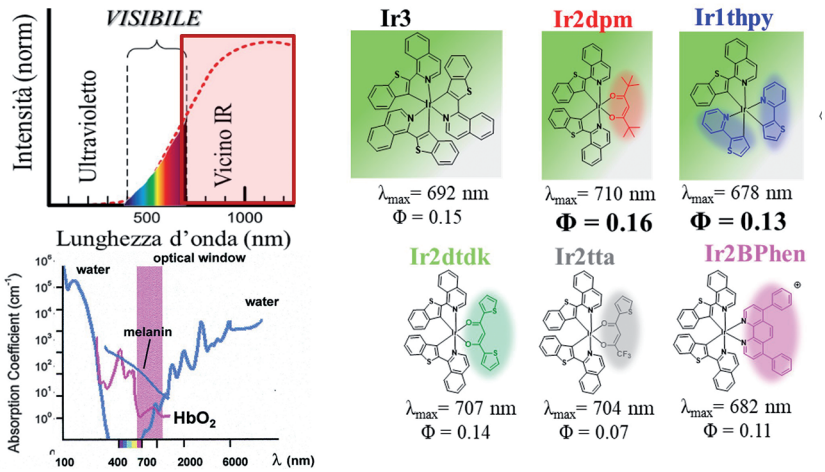


Fig. 9. Regione dello spettro elettromagnetico NIR, coefficienti di assorbimento ottico dei tessuti e materiali biologici che mostrano la tipica finestra ottica con scarso assorbimento; esempi di complessi con emissione NIR e ingegnerizzazione strutturale.

L'attuale stato dell'arte in termini di sistemi che forniscano illuminazione nel range del vicino IR (λ>700nm) è ancora determinato da LED basati sull'uso di semiconduttori inorganici tipicamente derivanti da elementi o tossici o elementi critici e rari quindi con problemi di

approvvigionamento nel medio lungo termine. Inoltre, la fabbricazione di questi semiconduttori richiede le tipiche tecnologie di crescite epitassiali e dei processi dell'industria elettronica classica quindi con costi di preparazione alti e scarsa flessibilità.

Una transizione da questa tecnologia alla tecnologia OLED rappresenterebbe un radicale passo avanti non solo nell'abbattimento dei costi di produzione e sotto il profilo ambientale, ma anche nella possibilità di sviluppare sistemi, adattabili alle richieste specifiche, su superfici flessibili o avvolgibili, prerogativa della tecnologia OLED.

La maggiore criticità in questo campo è determinata dalla più bassa efficienza di sistemi luminescenti nel NIR. In accordo con la cosiddetta "legge del gap energetico", minore è l'energia associata ad una transizione luminosa, maggiori sono i cammini di disattivazione che non portano ad emissione di luce; emettitori NIR hanno in genere basse rese di luminescenza. Questo è un fattore fondamentale da considerare nella realizzazione di OLED perché in ultima analisi, l'efficienza o resa di luminescenza del dispositivo è direttamente proporzionale alla resa di luminescenza del materiale emissivo secondo:

Efficienza **OLED** = $\eta \cdot \chi \cdot \eta_{out} \cdot \boldsymbol{\theta}$ dove η ; χ ; η_{out} sono parametri del dispositivo che assumono valori compresi tra 0 ed 1; $\boldsymbol{\theta}$, è l'efficienza dell'emettitore. Per ipotesi, se un emettitore ha $\boldsymbol{\theta}$ = 20%, la resa del dispositivo corrispondente non sarà mai superiore al 20%; viceversa se un materiale a $\boldsymbol{\theta}$ = 95% anche il suo dispositivo può al limite avere efficienza massima del 95%)[6].

È quindi molto importante l'ingegnerizzazione degli emettitori per ottenere valori alti di efficienza di emissione. In *Fig. 9* a destra sono riportate per esempio una serie di derivati che sono stati sviluppati nel nostro gruppo con lo scopo di modulare l'emissione NIR di una promettente struttura e che sono stati poi studiati anche in collaborazione con equipe internazionali[7].

In *Fig. 10* sono riportati due complessi che per le loro caratteristiche sono risultati i più promettenti e sono stati impiegati nella progettazione e realizzazione di dispositivi prototipi con rese allo stato dell'arte usando nel caso del sistema del pannello sinistro processi in soluzione, mentre nel caso del pannello di destra sono state impiegate tecniche di evaporazione in alto vuoto.

Ad oggi, una ampia letteratura sta uscendo nel settore con nuove proposte per l'ottenimento di efficienti OLED NIR.

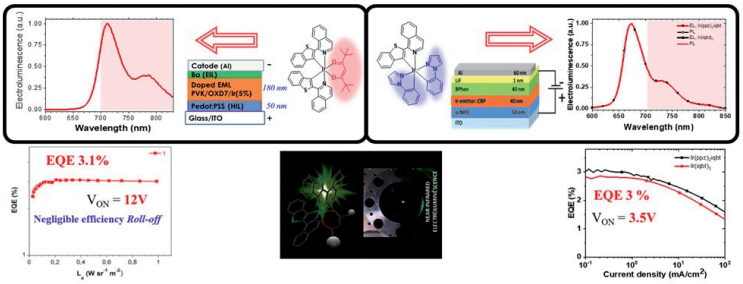


Fig. 10. Esempi di materiali con emissione NIR e loro utilizzo in dispositivi OLED cresciuto con tecnologie in soluzione o cresciti in fase vapore. Nel centro una immagine in un OLED con emissione NIR in qui è visibile la radiazione solo se vista attraverso un sensore IR.

3. Confronto energetico-economico tra tecnologie

Esistono diverse fonti da cui trarre dati utili al confronto tra le diverse fonti di illuminazione artificiale. In primis spesso le case produttrici riportano direttamente sulle scatole dei prodotti la valutazione energetica.

Se vogliamo semplificare all'estremo, possiamo dire che l'efficienza di una sorgente luminosa è funzione della quantità di luce emessa rispetto al calore dissipato dalla lampada stessa. Scendendo più nel dettaglio e volendo fare un piccolo conto economico della gestione domestica delle lampade dobbiamo riferirci al confronto tra alcuni parametri quali:

- Potenza (W): indice della quantità di energia elettrica consumata
- Flusso luminoso (Lumen – lm): quantità di energia luminosa emessa dalla lampada nell'unità di tempo
- Efficienza luminosa (lm/W)
- Durata, temperatura colore, intensità luminosa/illuminamento

In *Fig. 11* viene evidenziata chiaramente la quantità di calore dissipato dalle varie lampade ed il motivo per cui le lampade a incandescenza sono diventate obsolete in un panorama moderno in cui il risparmio energetico e l'attenzione verso clima ed ambiente è particolarmente sentito.

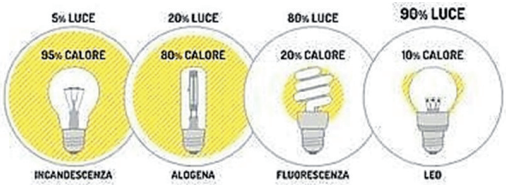


Fig. 11. Confronto tra luce emessa e calore dissipato delle diverse fonti luminose.

Tab. 1. Confronto di alcuni parametri energetici delle diverse fonti luminose[8].

Lumen (Lm)	**Incandescenza**	**"Neon"**	**LED**
250	25 W	6 W	2-3 W
800	60 W	13 W	7-10 W
1600	100 W	23 W	15-20 W
2600	**150 W**	42 W	**20-30 W**
Durata	1200 h	+10000 h	+50000 h
Efficienza	10-15 Lm/W	55-80 lm/W	80-100 Lm/W
COSTO(anno)	25 €	6-7 €	4 €

Concludendo, se considerassimo il costo cumulativo annuo dato dal costo della lampada da illuminazione (costo/tempo di vita medio) sommato al costo derivante dal consumo energetico, è interessante notare come le luci LED/OLED complessivamente risultino gestionalmente le più economiche nonostante, formalmente, il costo "a lampada" sia maggiore di altre tecnologie.

4. Ringraziamenti

Si ringraziano Il Comitato di Presidenza dell'Istituto Lombardo, Accademia di Scienze e Lettere, ed in particolare il Presidente Prof. Stefano Maiorana.

Per lo scambio di idee sulla organizzazione degli argomenti trattati nella presentazione ed il supporto e la revisione della nota si ringraziano in particolare la Prof.ssa Emanuela Licandro (Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Milano), la Dott.ssa Marta Penconi ed il Dott. Umberto Giovanella (Istituto di Scienze e Tecnologie Chimiche del CNR), la Dott.ssa Gabriella Di Carlo (Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati del CNR).

I collaboratori e le persone che hanno contribuito allo sviluppo di alcune delle ricerche presentate, Dott.ssa Marta Penconi, Clara Baldoli, Mattia Manzotti, Daniele Marinotto, Davide Ceresoli (Istituto di Scienze e Tecnologie Chimiche del CNR); Prof.ssa Emanuela Licandro, Dr. Silvia Cauteruccio e Prof.ssa Patrizia Mussini (Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Milano); Prof. Mark Thompson (University of Southern California).

Si ringraziano, per il supporto economico alla ricerca, il MUR, progetto PRIN2017 3D-FARE Prot. 2017FJCPEX; SmartmatLab Center; Samsung GRO progetti EcPolDegOLED e PRIORITY.

BIBLIOGRAFIA

1. https://www.lightingeurope.org/our-initiatives/value-of-lighting
2. H. Xiang, R. Wang, J. Chen, F. Li, H. Zeng, 2021 *Light: Science & Applications*, 10, 206. Gloria Hong, Xuemin Gan, Céline Leonhardt, Zhen Zhang, Jasmin Seibert, Jasmin M. Busch, and Stefan Bräse, 2021, *A Brief History of OLEDs—Emitter Development and Industry Milestones*, *Adv. Mater. 33*, 2005630. A. Bossi, A. F. Rausch, M. Leitl, R. Czerwieniec, M. T. Whited, P. I. Djurovich, H. Yersin, M. E. Thompson, 2013 *Photophysical Properties of Cyclometalated Pt(II) Complexes: Counterintuitive Blue Shift in Emission with an expanded ligand p-system, Inorg. Chem*, 52(21), 12403-12415.
3. D. J. Gaspar, E. Polikarpov, 2015 *OLED Fundamentals: Materials, Devices, and Processing of Organic Light-Emitting Diodes*. CRCPress. A. Bossi, S. Arnaboldi, C. Castellano, R. Martinazzo, S. Cauteruccio, 2020 *Benzodithienyl Silanes for Organic Electronics: AIE Solid State Blue Emitters and High Triplet Energy Charge Transport Materials*, *Adv. Opt. Mater.* 8, 2001018. J. Brooks, Y. Babayan, S. Lamansky, P. I. Djurovich, I. Tsyba, R. Bau, Mark E. Thompson, **2002** *Inorg. Chem.*, *41(12)*, 3055. M. E. Thompson, P. E. Djurovich, S. Barlow and S. Marder, 2007 *Organometallic Complexes for Optoelectronic Applications*, in *Comprehensive Organometallic Chemistry*, ed. D. O'Hare, Elsevier, Oxford, vol. 12, pp. 101-194.
4. Scholz S., Kondakov D., Lussem B., Leo K., **2015**, *Chem. Rev*. *115*, 8449-8503.
5. M. Cazzaniga, F. Cargnoni, M. Penconi, A. Bossi, D. Ceresoli, **2019**, *Unraveling the Degradation Mechanism of FIrpic-Based Blue OLEDs: I. A Theoretical Investigation, Chemistry of Materials*, 31(7), 2269-2276. M. Penconi, M. Cazzaniga, W. Panzeri, A. Mele, F. Cargnoni, D. Ceresoli, A. Bossi*, **2019** *Unraveling the Degradation Mechanism in FIrpic-Based Blue OLEDs: II. Trap and Detect Molecules at the Interfaces*, *Chemistry of Materials 31*(7), 2277-2285; M. J. Jurow, A. Bossi, P. I. Djurovich, M. Thompson, 2014, *In Situ Observation of Degradation by Ligand Substitution in Small-Molecule Phosphorescent Organic Light-Emitting Diodes*, *Chemistry of Materials*, 26(22), 6578-6584.
6. S. Kesarkar, W. Mroz, M. Penconi, M. Pasini, S. Destri, M. Cazzaniga, D. Ceresoli, P. R. Mussini, C. Baldoli, U. Giovanella, A. Bossi, 2016, *Near-IR Emitting Iridium(III) Complexes with Heteroaromatic b-Diketonate Ancillary Ligands for Efficient Solution-Processed OLEDs: Structure–Property correlations*, *Angew. Chem. Int. Ed. 55(8)*, 2714-2718. Y. J. Su *et al.* **2003***, Advanced Materials*, *15*, 884-888.
7. M. Penconi, M. Cazzaniga, S. Kesarkar, P. R. Mussini, D. Ceresoli, A. Bossi, 2017, *Upper limit to the ultimate achievable emission wavelength in near-IR emitting cyclometalated iridium complexes*, *Photochem & Photobiol Sci.* 16, 1220-1229. Penconi M, Kajjam AB, Jung MC, Cazzaniga M, Baldoli C, Ceresoli D, Thompson ME,

Bossi A, 2022, *Advancing Near-Infrared Phosphorescence with Heteroleptic Iridium Complexes Bearing a Single Emitting Ligand: Properties and Organic Light-Emitting Diode Applications*, *Chemistry of Materials*, 34, 2, 574-583.

8. Dati: ENEA: https://www.efficienzaenergetica.enea.it/servizi-per/cittadini/interventi-di-efficienza-e-risparmio-energetico-nelle-abitazioni/impianti/illuminazione.html , Osram, V-tac.

GUARDARE IL MONDO CON I NEUTRINI: IL SOLE, LA TERRA E L'UNIVERSO

MARCO PALLAVICINI (*)

Nota presentata dal s.c. Gianpaolo Bellini
(Adunanza del 16 dicembre 2021)

SUNTO. – I neutrini sono i componenti elementari conosciuti più sfuggenti e ubiqui dell'Universo. Ipotizzati da Wolfgang Pauli nel 1930 e poi elaborati teoricamente da Enrico Fermi ed Ettore Majorana negli anni successivi, sono stati scoperti sperimentalmente nel 1956 e da allora non hanno mai smesso di sorprenderci con le loro, a volte sconcertanti, proprietà. Ne esistono tre tipi diversi tra loro che possono trasformarsi uno nell'altro, privi di carica elettrica, leggerissimi ma dotati di una piccolissima massa, almeno un milione di volte inferiore a quella dell'elettrone. Pur avendo indicazioni certe sul fatto che una massa la posseggono, ancora oggi non sappiamo quanto pesano. In natura sono copiosamente emessi dal Sole e dalle stelle, dal nucleo delle galassie più attive e dal nostro pianeta sono stati prodotti in tale abbondanza nei primi istanti del Big Bang al punto da permeare di neutrini l'Universo intero. Sono anche prodotti in grande numero dai reattori nucleari e dagli acceleratori di particelle, che ci consentono studi accurati e controllati. I neutrini emessi dalle sorgenti naturali sono messaggeri insostituibili sulle sorgenti stesse e sui meccanismi fisici che li generano. Questa nota riassume le principali tappe della storia dei neutrini, le loro più cospicue proprietà e soprattutto quanto sia stato possibile imparare sulle stelle, sulla Terra e sul Sole grazie a loro. Particolare attenzione sarà data ai recenti risultati ai Laboratori Nazionali del Gran Sasso ottenuti dall'esperimento Borexino che, per mezzo dei neutrini, ha completato per la prima volta nel 2020 lo studio di tutte le reazioni di fusione nucleare che avvengono nel Sole, inclusa quella, minoritaria ma importantissima, catalizzata dalla presenza di Carbonio, Azoto e Ossigeno nel nucleo del Sole.

***

(*) Dipartimento di Fisica dell'Università degli Studi di Genova e INFN, Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Genova, Italy. E-mail: marco.pallavicini@unige.it

ABSTRACT. – Neutrinos are the most elusive and ubiquitous known building blocks in the Universe. Predicted by Wolfgang Pauli in 1930 and then theoretically elaborated by Enrico Fermi and Ettore Majorana in the following years, they were discovered experimentally in 1956 and since then they have never ceased to surprise us with their, sometimes disconcerting, properties. There are three different types that can transform into each other, devoid of electric charge, very light but with a very small mass, at least a million times lower than that of the electron. Although we know that they have a mass, we still do not know how much they weigh. In nature they are abundantly emitted by the Sun and stars, from the nucleus of the most active galaxies and from our planet they were produced in such abundance in the first moments of the Big Bang to the point of permeating the entire Universe with neutrinos. They are also produced in large numbers by nuclear reactors and particle accelerators, which allow us accurate and controlled studies. The neutrinos emitted by natural sources are unique messengers about the sources themselves and about the physical mechanisms that generate them. This note summarizes the main steps in the history of neutrinos, their most conspicuous properties and above all how much it has been possible to learn about the stars, the Earth, and the Sun thanks to them. Particular attention will be given to the recent results at the Gran Sasso National Laboratories obtained from the Borexino experiment which, by means of neutrinos, completed for the first time in 2020 the study of all nuclear fusion reactions that take place in the Sun, including that, minority but very important, catalyzed by the presence of Carbon, Nitrogen and Oxygen in the Sun's core.

1. INTRODUZIONE: BREVE STORIA DEL NEUTRINO

La fisica dei neutrini affonda le sue radici negli anni a cavallo dei secoli XIX e XX, quando Henry Becquerel nel 1896 scopre la radioattività. I rapidi progressi nel nuovo campo di ricerca, associati soprattutto ai nomi di Maria Skłodowska Curie, del marito Pierre e di Ernest Rutherford, consentono di identificare già nel primo decennio del secolo tre tipi di radiazioni emesse naturalmente da alcuni minerali particolarmente ricchi di Uranio e di Torio. Studi radiochimici pionieristici e quasi eroici per le condizioni materiali e anche sanitarie in cui furono condotti, condussero Maria e Pierre a isolare all'interno di questi minerali alcuni elementi chimici sconosciuti e particolarmente attivi (il Radio, il Polonio sono separati e studiati in quegli anni) e di comprendere che i tre tipi di radiazione (prosaicamente indicati con le lettere greche alfa, beta e gamma e da allora così chiamate ancor oggi) erano composte da oggetti noti: nel caso delle particelle alfa, di nuclei di elio energetici emessi da alcuni elementi pesanti; di elettroni molto energetici nel caso di quelle beta e di radiazioni elettromagnetiche di altissima frequenza (molto al di sopra della luce e anche di quella dei raggi X anch'essi appena scoperti da Röntgen pochi anni prima) per le radiazioni gamma.

Per la storia delle piccole particelle neutre i decadimenti beta sono il cuore del problema. Misure preliminari di Rutherford e del suo allievo James Chadwick in Inghilterra e misure più sistematiche condotte da Otto Hahn e Lise Meitner a Berlino prima della Grande Guerra evidenziano una stranissima proprietà: gli elettroni non sono emessi sempre con la stessa energia, ma secondo uno spettro energetico molto ampio, che parte da energia quasi nulla fino ad un valore massimo corrispondente a quello in realtà atteso. Per qualche ragione, misteriosa in quel momento, gli elettroni del decadimento beta sembrano violare il principio sacro della conservazione dell'energia, ed addirittura di farlo in modo erratico, quasi casuale. Un fatto inaccettabile per i fisici, a maggior ragione dopo le scoperte di Einstein sull'equivalenza massa-energia dedotta nel contesto della teoria della relatività, e che paradossalmente dal decadimento beta veniva in qualche modo confermata, essendo l'energia massima degli elettroni emessi esattamente uguale a quanto previsto dalla celeberrima equazione di Einstein. Qualcosa mancava nei primi decenni del secolo, ma nessuno aveva idea di cosa.

Il disagio dei fisici si acuisce negli anni '20, con il miglioramento ulteriore delle misure sullo spettro degli elettroni beta e con nuove scoperte. Nel 1927 Ellis e Wooster [1] perfezionano le misure di Chadwick, precisando da natura continua dello spettro degli elettroni e confermando l'apparente violazione della conservazione dell'energia. Lise Meitner, dopo un periodo di scetticismo, conferma le misure di Ellis e Wooster e la questione a fine anni '20 è assodata. Ma il problema si aggrava fino all'estremo quando le prime misure spettroscopiche sullo spin di alcuni nuclei, sviluppate negli anni '20 anche con il contributo importante di Franco Rasetti, dimostrano che in alcuni casi il decadimento beta coinvolge solo nuclei con spin 0. L'emissione di un singolo elettrone in tale condizione è vietata anche dall'altrettanto sacra e intoccabile conservazione del momento angolare, acuendo la crisi sino al culmine. In questo scenario, mentre fisici del calibro di Niels Bohr ancora considerano l'ipotesi di ammettere che nei processi nucleari beta le leggi di conservazione più fondamentali siano violate e altri come Debye si limitano a dire: *«Il decadimento beta? È come con le tasse, meglio non pensarci…»,* arriva, sconcertante e liberatoria, una lettera di Wolfgang Pauli ai colleghi riuniti in conferenza a Tübingen nel dicembre 1930, nella quale scusandosi per la sua assenza dovuta al ballo di inizio anno accademico alla sua Università di Zurigo, getta le basi della fisica del neutrino:

«Cari signori e signore radioattivi,
Come il latore di queste righe, alla quale vi prego di prestare la massima attenzione, vi dirà meglio, cercherò di spiegarmi in modo più esatto, considerando le statistiche 'false' dei nuclei dell'N-14 e del Li-6, così come lo spettro beta continuo. Ho escogitato un rimedio disperato per salvare il "teorema dello scambio" di statistiche e il teorema dell'energia. Vale a dire c'è la possibilità che possano esistere nei nuclei particelle elettricamente neutre che mi piace chiamare neutroni, le quali hanno uno spin di 1/2 e obbediscono al principio di esclusione e, in più, differiscono dai quanti di luce nel senso che non viaggiano alla velocità della luce: la massa del neutrone deve essere dello stesso ordine di grandezza della massa dell'elettrone e, in ogni caso, non superiore a 0,01 della massa del protone. Lo spettro beta continuo diventerebbe allora comprensibile in base al presupposto che nel decadimento beta un neutrone venga emesso insieme all'elettrone, in modo tale che la somma delle energie del neutrone e dell'elettrone resti costante. [...] Ma non mi sento abbastanza sicuro di pubblicare qualcosa riguardo a questa idea, così per prima mi rivolgo con fiducia a voi, cari radioattivi, con una questione in merito alla situazione concernente la prova sperimentale di un tale neutrone, se abbia qualcosa come circa dieci volte la penetrante capacità di un raggio gamma. Ammetto che il mio rimedio può sembrare di avere una piccola probabilità a priori, perché i neutroni, se esistono, probabilmente sarebbero stati visti molto tempo fa. Tuttavia, solo chi scommette può vincere, e la gravità della situazione dello spettro beta continuo può essere resa in modo chiaro con il detto del mio onorato predecessore in carica, Mr. Debye, [...] "È meglio non pensarci affatto, come le nuove tasse." [...] Così, cari radioattivi, mettetelo alla prova e giudicate…..Con tanti saluti a voi, anche a Mr. Back, il vostro devoto servitore. »

W. Pauli

La lettera è la prima menzione del neutrino nella storia della fisica, e non sarà mai trasformata in un articolo compiuto. Pauli aveva gettato il sasso ma i tempi non erano maturi per andare oltre. Si limita a discuterla coi colleghi e a presentarla ad alcune conferenze, tra cui quella di Roma del 1931 organizzata da Enrico Fermi e Guglielmo Marconi e poi anche a quella di Solvay del 1932.

A Solvay si discute del neutrone, il componente del nucleo atomico appena scoperto da Chadwick [2], e della radioattività artificiale indotta dalle particelle alfa scoperta da Irene Joliot-Curie, la figlia di Marie, e il marito Frédéric Joliot. Fermi ascolta, discute l'idea di neutrino e di neutrone, e torna a casa con un'idea folgorante. Mettendo insieme queste due particelle appena scoperte o ipotizzate e mettendo a frutto la sua straordinaria conoscenza dell'appena nata Elettrodinamica Quantistica,

la teoria quantistica degli elettroni e della luce, elabora il cuore della moderna teoria delle forze deboli [3], ipotizzando che nel decadimento beta non solo elettroni e neutrini escano insieme come proposto da Pauli, ma che questo avvenga per creazione diretta dal vuoto all'interno del nucleo, esattamente come i fotoni sono creati o assorbiti dagli atomi in elettrodinamica. Fermi inventa la teoria quantistica dei campi, il modello concettuale con cui ancora oggi descriviamo il mondo microscopico degli atomi, dei nuclei atomici e delle particelle elementari.

La teoria di Fermi offre al neutrino un'elegante collocazione teorica, ma pone anche un problema gravissimo. Secondo i calcoli, avviati da Fermi ma poi sviluppati da altri tra cui Peierls e Bethe, i neutrini sono particelle dalle interazioni debolissime e, per la tecnologia degli anni '30, virtualmente impossibili da rivelare. Un problema serio, anche concettuale, che fa scrivere a Pauli nei suoi diari ritrovati anni dopo: *«oggi ho fatto una cosa terribile, ho inventato una particella che non si può rivelare»*[1].

Il problema sarà risolto a cavallo tra gli anni '30 e '40 e poi dalla forte accelerazione degli sviluppi di fisica nucleare associati alla Seconda guerra mondiale e al progetto Manhattan, che dimostreranno l'esistenza di due sorgenti di neutrini, una artificiale e una naturale, sufficientemente intense da poter essere rivelabili: i reattori nucleari e il Sole.

La fisica dei reattori inizia nel 1942, quando Enrico Fermi a Chicago accende la prima pila atomica, un dispositivo capace di produrre energia dalla fissione dell'Uranio. Il processo di fissione produce molti nuclei instabili che spesso decadono per processi beta con una copiosa produzione di neutrini. In media ogni fissione produce una cascata di decadimenti a cui sono associati circa sei neutrini, per cui complessivamente un reattore è una sorgente formidabile, circa 10^{21} neutrini al secondo per ogni GW di potenza termica. Sarà proprio con i reattori, nel 1956, che il neutrino sarà finalmente scoperto sperimentalmente, avviando un campo di ricerca assai vitale ancora oggi.

In parallelo allo sviluppo delle tecnologie nucleari, le conoscenze sul nucleo aprono la via alla comprensione delle stelle. L'invenzione dello spettrometro di massa aveva portato Ashton e i suoi collaboratori

[1] Questa citazione è riportata quasi ovunque. Non ho trovato la fonte originale, ma la riporto ugualmente nel testo perché, se anche risultasse apocrifa, ben rappresenta lo spirito del tempo e anche l'atteggiamento ondivago di Pauli dal 1930 sino alla definitiva scoperta del neutrino avvenuta nel 1956.

a misurare con precisione la massa degli atomi noti, dimostrando che un atomo di elio era significativamente più leggero di quattro atomi di idrogeno. Un fatto apparentemente banale, ma che suggerisce a Ernest Rutherford che la fonte primaria di energia del Sole potesse essere la fusione di idrogeno in elio. Nessuno negli anni '20 può azzardare ipotesi fondate sul meccanismo, ma le cose cambiano negli anni '30, con la scoperta del nucleo, lo sviluppo della meccanica quantistica e l'elaborazione teorica dell'effetto tunnel. È ancora Rutherford a completare il primo esperimento di laboratorio realizzando la fusione di due nuclei di deuterio in uno di elio e con questi ingredienti si capisce come la fusione di idrogeno in elio sia possibile e possa effettivamente fornire abbastanza energia da tenere il Sole acceso per miliardi di anni. Carl Friedrich von Weizsäcker e soprattutto Hans Bethe [4] forniscono i primi elementi, ideando i cicli fondamentali capaci di produrre energia, poi sviluppati in dettaglio nel dopo guerra fino ai lavori definitivi di W. Fowler [5], che estende il modello non solo al Sole ma a tutte le stelle, inclusa la loro evoluzione e la produzione degli elementi più pesanti. Studi che beneficeranno molto dell'enorme sforzo americano e sovietico per la costruzione di bombe a idrogeno.

Questi studi spiegano teoricamente l'origine dell'energia solare ma soprattutto dimostrano che il Sole produce un numero gigantesco di neutrini, sufficienti per poter essere rivelati anche da Terra.

Nel 1956 Frederick Reines e Clyde Cowan [6] scoprono i neutrini emessi da un reattore nucleare, confermandone l'esistenza e soprattutto dimostrando che la loro osservazione sperimentale è possibile. Pochi anni dopo, Lederman, Schwartz e Steinberger [7] completano il quadro, rivelando neutrini prodotti da un acceleratore di particelle e dimostrando al contempo che ne esistono due tipi diversi chiamati neutrino elettronico e neutrino muonico (il terzo, detto neutrino tauonico, arriverà negli anni '90).

A metà anni '60 tutto è pronto per iniziare la caccia al neutrino solare.

2. I NEUTRINI E LA LORO RIVELAZIONE

I neutrini sono fra le più interessanti ed elusive particelle elementari del Modello Standard, la teoria quantistica che descrive la struttura della materia conosciuta e delle forze che la governano. Sappiamo con

ragionevole certezza che sono almeno tre, che hanno una massa molto piccola (almeno un milione di volte inferiore a quella dell'elettrone) e che propagandosi nel vuoto possono, in certe condizioni, trasformarsi da un tipo in un altro per mezzo di un raffinato processo quantistico detto "oscillazione dei neutrini". I neutrini restano però, per moltissimi importanti aspetti, misteriosi.

La ragione principale è che sono difficili da rivelare perché sono le uniche particelle note sensibili alla sola interazione nucleare debole. Tutte le altre particelle (come, per esempio, l'elettrone) sono soggette a forze elettromagnetiche e, nel caso dei quark, anche alle forze nucleari forti.

I neutrini invece sentono solo le forze deboli e questo complica di molto la faccenda perché la forza debole si chiama così per ottime ragioni: le forze fra i neutrini e la materia ordinaria sono straordinariamente piccole, rendendo la probabilità di collisione fra un neutrino e un elettrone o un nucleo atomico immensamente inferiore a quella, ad esempio, di quella cha avrebbe un elettrone o un fotone. Se un elettrone entra in acqua interagisce e viene assorbito dall'acqua entro alcune decine di cm al massimo, a seconda della sua energia. Un neutrino in analoghe condizioni viaggia in media per distanze enormi prima di collidere, fino a un anno luce a energie basse. Come dire, sostanzialmente la materia è trasparente ai neutrini. Il Sole in neutrini brilla anche di notte perché il pianeta Terra è trasparente.

Il lettore può allora giustamente chiedersi come facciamo a studiare una particella così solipsista e poco propensa a interagire col mondo e, ancor più, forse, domandarsi che cosa ci sia di così interessante in loro.

La risposta alla prima domanda sta nella disponibilità di sorgenti di neutrini molto intense. È vero che la probabilità che un neutrino sia catturato da un rivelatore è straordinariamente piccola, ma se il numero di neutrini è abbastanza grande qualcuno ogni tanto finisce nella rete.

Dal Sole, dal cosmo e dal pianeta Terra arrivano naturalmente enormi flussi di neutrini. Per esempio, il Sole ce ne offre 60 miliardi al secondo per cm^2, un numero gigantesco che ha consentito di realizzare importanti esperimenti. In primo luogo, con tecniche radiochimiche, come quella proposta da Bruno Pontecorvo nel 1946 e poi implementata con straordinaria pazienza e dedizione da Raymond Davis dal 1970 alla fine degli anni '90 [8] o come quella adottata dagli esperimenti Gallex e GNO ai Laboratori Nazionali del Gran Sasso [9] e replicata in Russia dall'esperimento SAGE [10]. Questa prima generazione di

esperimenti ha confermato l'esistenza dei neutrini solari ma anche osservato un flusso nettamente inferiore a quello atteso, costituendo quello che allora fu chiamato il problema dei neutrini solari. Tale problema fu confermato anche da esperimenti realizzati per mezzo di neutrini atmosferici prodotti dall'interazione di raggi cosmici nella stratosfera anche con i neutrini solari dall'esperimento giapponese KamioKANDE e dal suo sviluppo più grande e moderno chiamato Super-KamioKANDE negli anni '90 [11,12]. La soluzione del problema dei neutrini solari e la scoperta delle oscillazioni di neutrino come naturale spiegazione del deficit arrivano a cavallo del millennio, con la scoperta delle oscillazioni da parte di Super-KamioKANDE nel 1998 con i neutrini atmosferici e con i risultati dello Sudbury Neutrino Observatory (SNO) in Canada nel 2001, che ha dimostrato l'esistenza delle oscillazioni nei neutrini dal Sole portando al premio Nobel il canadese Art McDonald [13].

I neutrini sono le particelle di gran lunga più abbondanti dell'Universo: pensiamo che in ogni cm^3 di volume ce ne siano circa 400, una cenere del Big Bang teoricamente prevista e in attesa di conferma sperimentale. A questi aggiungiamo quelli dalle stelle, dalle esplosioni di supernova (che emette in 10 s più neutrini di quelli prodotti in tutta la sua vita di miliardi di anni), quelli provenienti direttamente dal cosmo, - osservati recentemente dalla collaborazione Ice Cube al polo Sud -, quelli prodotti dai raggi cosmici in atmosfera, - che hanno portato il giapponese Takaaki Kajita [12] al Nobel per la scoperta di oscillazioni di neutrino nel 1998 (diverse da quelle di McDonald) -, e poi quelli prodotti dalla Terra, studiati da un rivelatore in Giappone e con maggiore precisione da Borexino.

Studiamo i neutrini perché, seppur strani, leggerissimi e quasi invisibili, sono essenziali per spiegare l'Universo e la nostra stessa esistenza. Hanno influito nei primissimi istanti del Big Bang, nella formazione di strutture (Clusters di Galassie, Galassie, stelle), nel funzionamento delle stelle e nelle esplosioni di supernovae, a cui si deve la formazione di molti degli elementi chimici di cui sono fatte le molecole organiche e gli esseri viventi. Perfino i processi geotermici sono alimentati dalla radioattività nelle profondità del pianeta con abbondante produzione di neutrini. Sono evanescenti, ma noi e il mondo che conosciamo non esiteremmo senza di loro.

Le domande sui neutrini a cui dobbiamo ancora rispondere sono parecchie e non tutte facili, ma provo a riassumerle.

La prima è semplice. Quanto pesano i neutrini e quale fra loro è il più leggero? L'esistenza delle oscillazioni prova che la massa è piccolissima ma non nulla, ma non ci dice quanto. Il valore esatto è importante, non solo per completare le tabelle e aggiungere un numerino mancante, ma perché i neutrini sono davvero tanti e se la loro massa non fosse troppo piccola il loro impatto nell'evoluzione del cosmo potrebbe essere rilevante.

L'esperimento KATRIN [14], in Germania, è oggi il progetto più avanzato per la misura diretta della massa del neutrino, mentre JUNO [15] in Cina proverà nei prossimi anni a stabilire quale fra i neutrini sia il più leggero (senza determinarne la massa).

KATRIN dovrebbe essere sensibile a masse pari a un quinto di milionesimo della massa dell'elettrone. Non è detto che basti, ma mai dire mai, in fisica come nella vita. Se non basterà bisognerà perseverare e introdurre nuove idee, alcune delle quali in sviluppo in laboratori italiani, soprattutto a Milano, a Genova e ai Laboratori del Gran Sasso.

La seconda è più tecnica ma ancora più importante: neutrini e antineutrini sono particelle diverse?

Questa domanda risale agli anni '30, quando una delle più feconde e creative menti italiane, Ettore Majorana, ha proposto una teoria alternativa a quella avanzata pochi anni prima dal fisico teorico inglese Paul Dirac. Le particelle cariche seguono necessariamente la formulazione di Dirac, ma la domanda se il neutrino sia una "particella di Dirac" o una "particella di Majorana" è ancora aperta e attende risposta sperimentale.

Decine di esperimenti nel mondo cercano l'unico processo fisico nucleare noto che discerne i due casi (il cosiddetto "doppio decadimento beta senza neutrini") e l'Italia è in prima fila con due esperimenti di primissimo piano ai Laboratori Nazionali del Gran Sasso (GERDA [16] e CUORE [17]) a cui lavorano molti ricercatori italiani dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare e delle Università.

La domanda non ha valenza solo teorica né tantomeno è questione di bandiera. La rivelazione di questo processo guiderebbe lo sviluppo di nuove teorie oltre al Modello Standard, che sappiamo debbano esistere ma per le quali non sappiamo che direzione prendere.

La terza domanda può apparire sorprendente, ma è davvero un mistero: perché viviamo in un Universo fatto solo di materia? Il Modello Standard prevede che nel Big Bang si sarebbero dovute for-

mare in quasi uguale numero particelle e antiparticelle, ma questo non è accaduto. Ci sono stelle e galassie, non anti-stelle e anti-galassie.

I neutrini potrebbero aiutarci a capire perché, ma per saperlo dobbiamo misurare un parametro della teoria ancora sconosciuto. Sono oggi in atto misure di precisione con fasci di neutrini prodotti con acceleratori di particelle in Giappone e negli Stati Uniti e due nuovi megaprogetti sono stati approvati in entrambi i paesi: il progetto DUNE [18], che studierà neutrini prodotti al Fermilab in Illinois e li rivelerà a 1300 km di distanza in una miniera del South Dakota, e il progetto Hyper-Kamiokande [19], che studierà neutrini prodotti dal laboratorio J-PARK in Giappone e li rivelerà sotto una montagna a circa 230 km di distanza con un gigantesco rivelatore ad acqua. Anche in questo caso l'Italia è in prima fila. La competizione è forte, vinca il migliore.

3. La rivelazione dei neutrini solari e la novità di Borexino

L'esperimento Borexino ai Laboratori Nazionali del Gran Sasso ha completato recentemente lo studio dei neutrini solari, misurando una ad una tutte le componenti note di neutrini emessi sia dalla catena protone-protone [20] [21] (a eccezione dei neutrini emessi dalla fusione di un protone con un nucleo di elio-3 che contribuiscono in modo risibile al flusso e oggi non rivelabile con le tecniche conosciute) e anche quelli del ciclo CNO [22], la fusione dei protoni in elio catalizzata dalla presenza di carbonio e ossigeno nel Sole.

Borexino è stato in funzione del 2007 al 2021. Il suo rivelatore consiste in una sfera di acciaio racchiusa in una tanica più grande [23]. La tanica è riempita con acqua ultra-pura, la cui funzione è quella di schermare il cuore del rivelatore dalla radiazione proveniente dall'esterno.

La sfera sostiene al tuo interno 2212 tubi fotomoltiplicatori (vedi *Fig. 1*), strumenti capace di rivelare con alta efficienza singoli fotoni provenienti dal centro della sfera. All'interno della sfera due sottilissimi contenitori di nylon trasparente e ultra-puro separano il volume in tre parti, la più centrale delle tre è riempita con un liquido scintillatore che ha caratteristiche tali da emettere un debole segnale luminoso ogni volta che un neutrino o un altro evento di natura radioattiva deposita energia dentro il liquido. Gli altri due volumi sono riempiti anch'essi da

un liquido inattivo che scherma ulteriormente la parte centrale dalla radiazione esterna. Con questa configurazione il rivelatore protegge nel modo più efficace possibile il volume di liquido centrale (circa 300 tonnellate) da ogni forma di radiazione esterna. Il liquido stesso è la sostanza meno radioattiva mai realizzata dall'uomo. Tale risultato è stato frutto di quasi due decenni di ricerche e sviluppo atte a creare le tecnologie necessarie a purificare il liquido quasi 10 miliardi di volte al di sotto di qualunque sostanza reperibile in natura. Per mezzo di questo strumento unico la collaborazione Borexino ha potuto misurare e identificare uno ad uno per la prima volta tutti i neutrini solari. I risultati hanno avuto conseguenze scientifiche rilevanti, tra cui la scoperta sperimentale delle oscillazioni nella materia solare, il cosiddetto effetto MSW [24], ipotizzato dai teorici per spiegare i risultati degli esperimenti precedenti ma mai dimostrato sperimentalmente; la prima osservazione diretta e indipendente di tre su quattro della componenti di neutrini emessi dalla catena protone-protone, ovvero quelli associati al decadimento del berillio-7, del boro-8 e quelli associati alla fusione diretta di due protoni e un elettrone; e infine, la scoperta del ciclo CNO, il ciclo mai osservato prima nel Sole e essenziale per il funzionamento di tutte le stelle, soprattutto per quelle di grande massa.

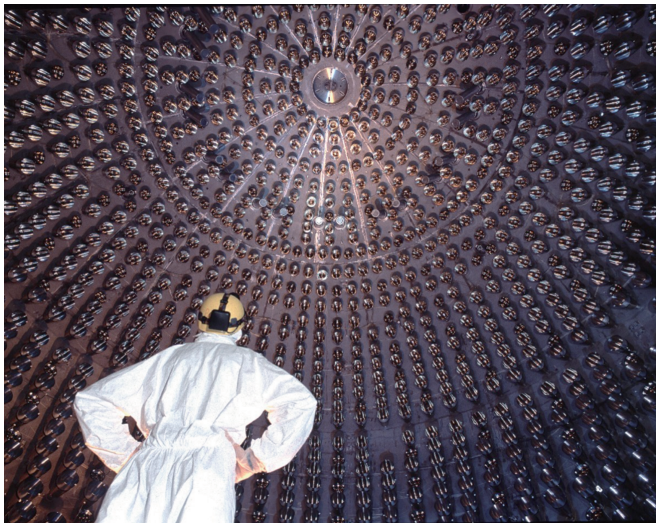


Fig. 1. L'interno della sfera di Borexino prima del suo riempimento. Si vedono buona parte dei tubi fotomoltiplicatori che rivelano la luce emessa dall'interazione dei neutrini.

La straordinaria purezza di Borexino ha offerto l'opportunità di un'altra misura importante, quella dei neutrini emessi dalla Terra, i cosiddetti geo-neutrini.

La Terra deve parte del suo equilibrio termico interno alla presenza di elementi radioattivi nelle rocce della crosta. Questo fatto è noto da inizio secolo e numerose campagne geochimiche hanno mappato la composizione chimica della crosta sul pianeta stimando con una certa precisione la quantità degli elementi radioattivi presenti nelle rocce. Poco o nulla si sa però del contenuto di radioattività delle zone più profonde del mantello terrestre e del nucleo. Alcuni vulcani captano magma dagli strati superficiali del mantello, ma non vi sono tecniche note per sapere che cosa vi sia nel mantello centrale e inferiore, e ancor meno ci sono per il nucleo. Solo per mezzo di modelli teorici si possono fare delle stime, ma si tratta di modelli assai incerti. La misura di Borexino, pur non conclusiva, fornisce un'informazione nuova. Il flusso di geo-neutrini osservato mostra con grande livello di confidenza che il contributo della crosta non basta. I dati dicono che anche il mantello produce neutrini, dimostrando che anche lì vi è un contenuto di uranio e di torio superiore alle attese [25].

4. SN1987A

Il 23 febbraio del 1987 alle ore 7.35 dell'ora di Greenwich il rivelatore giapponese KamioKANDE [26], quello americano IMB [27] e quello Sovietico presso il lago di Baksan [28] hanno contestualmente osservato un eccesso di neutrini per un breve periodo di pochi secondi. Quasi contemporaneamente, una Supernovae è apparsa nel cielo australe (vedi *Fig. 2*), localizzata nella piccola nube di Magellano. SN1987A (il nome significa Supernova, avvenuta nel 1987, con la lettera A che significa che è la prima nella nostra galassia) è una delle poche supernovae esplose in prossimità della nostra galassia dell'era moderna e la prima dell'era tecnologica. È anche la prima e per ora unica ad essere osservata non solo per mezzo della luce ma anche attraverso i neutrini.

Le supernovae sono eventi rari. In una galassia come la nostra esplodono alcune stelle a secolo, anche se questo numero è piuttosto incerto. Sta di fatto che SN1987A è davvero un evento storico per la scienza, la nascita dell'astronomia a neutrini.



Fig. 2. Sanduleak-69 202 dopo l'esplosione (a sinistra) e prima. Il confronto delle immagini mostra con chiarezza anche all'occhio non esperto che per alcune settimane una supernova supera in luminosità la galassia che la ospita.

Le supernovae sono eventi di collasso stellare che avvengono quando una stella di grande massa (7-8 volte la massa del Sole) esaurisce il combustibile. Tali stelle nella loro vita attraversano varie crisi, in corrispondenza dell'esaurimento prima dell'idrogeno nel nucleo centrale, poi di quello dell'elio che brucia in carbonio, e poi via via verso nuclei più pesanti fino alla combustione del silicio. La prima fase è lunga, alcuni miliardi di anni, poi le fasi successive accelerano, fino alle ultime che durano alcuni giorni o addirittura ore. La fusione del silicio in ferro è l'ultima delle reazioni nucleari esotermiche, capaci cioè di fornire energia. Poi non vi sono più fonti energetiche possibili e il nucleo inizia a raffreddarsi. In pochi istanti la struttura centrale della stella, straordinariamente densa e soggetta ad un'enorme forza gravitazionale, non ha più abbastanza pressione interna da auto-sostenersi. Il nucleo collassa e se la massa è sufficiente nulla riesce a fermarlo, fino a che la densità e la temperatura sono tali da scindere completamente i nuclei formati e a fondere anche gli elettroni con i protoni. Un fenomeno che avviene in pochi secondi, a temperature immense (miliardi di gradi kelvin) e con un'inimmaginabile produzione di neutrini. In pochi secondi circa 10^{54} neutrini solo emessi dal nucleo, più di quelli che la stella aveva prodotto nei miliardi di anni

precedenti. È un numero così grande che si hanno ormai forti evidenze che i neutrini contribuiscano all'esplosione della supernova, un fatto davvero stupefacente, alla luce delle debolissime interazioni che i neutrini esercitano sulla materia. Ma il nucleo stellare in contrazione è così denso, e i neutrini sono talmente numerosi, che per uscire devono spingere, e questa spinta contribuisce (pare) in modo rilevante all'esplosione della stella.

Abbiamo imparato moltissimo da SN1987A, sia sulle stelle sia sui neutrini. Abbiamo avuto conferma dei meccanismi base di formazione delle stelle di neutroni, osservando un numero di neutrini consistente con qualche predetto dai teorici stellari anni prima (vedi *Fig. 3*). I neutrini sono arrivati alcune ore prima dei fotoni, per ragioni per nulla legate alla loro velocità ma perché hanno potuto fuoriuscire prima dal denso nucleo stellare in contrazione e poi in esplosione. Ma quattro ore su 100.000 anni sono davvero poche, e questo ha potuto confermare la piccolezza della massa del neutrino.

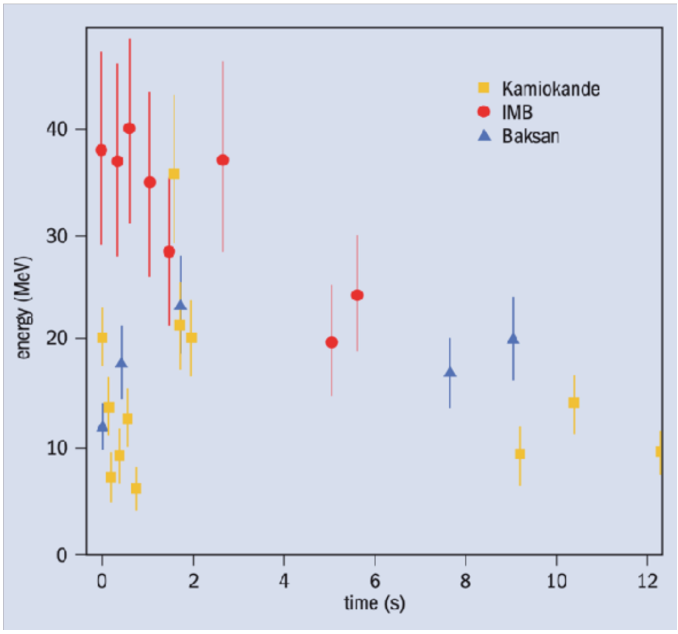


Fig. 3. Il numero di conteggi osservati dagli esperimenti KamioKANDE, IMB e Baksan nel 1987. Una manciata di neutrini emessi quando Homo Sapiens ha iniziato il suo cammino dalle savane africane e che hanno viaggiato per 100.000 anni fino a noi.

5. Astronomia a neutrini

Dopo lo studio dei neutrini solari e l'osservazione di SN1987A un'altra sorgente astrofisica di neutrini è stata oggetto di intense ricerche ed infine di scoperta pochi anni fa.

È noto da più di un secolo che la Terra è continuamente inondata di particelle cariche di alta energia che colpiscono l'atmosfera e generano una pioggia di particelle secondarie collettivamente chiamate raggi cosmici. Le particelle primarie che entrano in atmosfera sono prevalentemente protoni, con una percentuale piccola di nuclei atomici più pesanti e una componente ancora minore di elettroni, positroni e fotoni. L'origine di questi raggi cosmici è ancora oggetto di studi, ma sappiamo che almeno in buona parte provengono dalle Supernovae stesse e, forse in misura molto minore ma estremamente importante alle energie più alte, dai cosiddetti nuclei galattici attivi, il cuore energeticamente attivo di alcune galassie che al loro centro ospitano un buco nero che è ancora in accrescimento e che quindi produce grandi quantità di energia ingoiando materia. Non sappiamo bene se e come i nuclei galattici attivi producano raggi cosmici e non è facile capirlo. Infatti, essendo i protoni e i nuclei particelle cariche, quando arrivano a Terra non indicano la direzione da cui provengono in quanto lungo il viaggio sono stati significativamente deviati dal campo magnetico presente nella nostra galassia e da quello pure presente nel mezzo intergalattico. Non abbiamo quindi modo di identificare le sorgenti da cui provengono osservandoli direttamente.

Per capire quindi l'origine dei raggi cosmici è quindi necessario usare altri mezzi ed in particolare sonde che non siano influenzate dai campi magnetici e che quindi conservino l'informazione della direzione da cui provengono. Ci sono due possibilità, ugualmente feconde e interessanti: i fotoni e i neutrini.

I fotoni non sono oggetto di questa nota, anche se sforzi importantissimi sono in corso in questa direzione. Gli osservatori di fotoni cosmici Hess e MAGIC hanno già dato informazioni preziose sulle molte sorgenti ed è in corso la costruzione del Cherenkov Telescope Array (CTA), un osservatorio astronomico di prossima generazione dislocato su due siti (uno nell'emisfero nord alle isole Canarie e uno nell'emisfero sud in Cile). I fotoni sono interessantissimi, ma possono darci informazioni importanti solo su sorgenti relativamente vicine oppure di enorme intensità; la ragione è che, per strano che sembri, il vuoto cosmico non è completamente trasparente ai fotoni di altissima energia associati ai raggi cosmici. Infatti,

l'intero universo è permeato da fotoni radio originatesi durante il Big Bang e questi fotoni, noti come il fondo cosmico a microonde, rendono opaco l'universo ai fotoni di energia più alta.

Per superare questa difficoltà, illustrata in figura, una via d'uscita è offerta dai neutrini. Tutti i meccanismi di accelerazione di protoni e nuclei devono essere accompagnati dalla produzione di varie particelle e di neutrini. Questi ultimi possono viaggiare l'intero universo senza interazioni, portando informazioni imperturbate anche dai siti più lontani.

Per rivelare neutrini di altissima energia di origine cosmica servono rivelatori di enormi dimensioni, dell'ordine di un chilometro cubo, ed è evidente che nessun apparato artificiale possa avere queste dimensioni. Per questa ragione i fisici si affidano alla natura, utilizzando come rivelatori i tre mezzi trasparenti alla luce disponibili in natura: il ghiaccio, l'acqua e l'aria.

Aria, acqua e ghiaccio hanno in comune la proprietà di essere sostanzialmente trasparenti alla luce Cherenkov emessa da particelle cariche veloci, per cui sono mezzi ideali per essere usati come bersaglio di interazioni di neutrini cosmici che, quando occasionalmente colpiscono un nucleo di ossigeno o di azoto o un protone in questi mezzi emettono particelle veloci che irradiano luce Cherenkov. Se grandi volumi d'acqua o di ghiaccio sono equipaggiati con opportuni rivelatori di luce (per esempio dei tubi fotomoltiplicatori del tipo di quelli usati da Borexino) posso realizzare rivelatori di dimensioni idonee all'osservazione dei neutrini cosmici.

Sebbene i primi tentativi per misurare i neutrini cosmici siano stati realizzati da esperimenti pionieristici in mare, il primo esperimento di successo è in corso nei ghiacci del polo sud e si chiama Ice Cube. In prossimità della base scientifica internazionale presente al polo è stato realizzato un magnifico rivelatore immergendo nel ghiaccio un grande numero di tubi fotomoltiplicatori, su distanze di molte centinaia di metri. Ice Cube ha potuto con certezza rivelare alcuni neutrini cosmici, avviando l'astronomia con i neutrini di alta energia. I ricercatori sperano di poter aggiungere al ghiaccio di Ice Cube la rivelazione in acqua in aria. Per quello che riguarda l'acqua l'Italia è in prima fila con il progetto Km3Net, che si propone di realizzare un rivelatore di un chilometro cubo nelle profondità marine al largo di Capo Passero in Sicilia. Alcuni rivelatori sono oggi già in mare perfettamente funzionanti e nel giro di alcuni anni ne saranno installate altri 130, portando Km3Net ad essere uno strumento competitivo con Ice Cube.

BIBLIOGRAFIA

[1] *Ellis, C. D.; Wooster, W. A. (1927). "The Continuous Spectrum of - Rays". Nature. 119 (2998): 563–564.*

[2] Chadwick (1932), "The existence of a neutron", Proc. R. Soc. London 136.

[3] *Fermi*, *E.* (1933). *"Tentativo di una teoria dell'emissione. dei raggi beta".* La Ricerca Scientifica, anno IV, vol. II, N. 12.

[4] *Bethe, A. H.* (1967) *"Energy production in stars",* Nobel Lecture; *Bethe, H. A. & Critchfield, C. L.* (1938) "The formation of deuterons by proton combination", Phys. Rev. 54, 248 (1938); *Bethe, H.* (1939) *"Energy production in stars",* Phys. Rev. 55, 434 (1939).

[5] *Fowler A. W,* (1983) *"Experimental and Theoretical Astrophysics: the quest for the origin of elements",* Nobel Lecture.

[6] Reines F. (1983), *"The neutrino: from Poltergeist to particle",* Nobel Lecture.

[7] *Lederman L.* (1988), *"Observations in particle physics from two neutrinos to the standard model"*, Nobel Lecture; *Schwartz M* (1988), *"The first high energy neutrino experiment",* Nobel Lecture; *Steinberger J.* (1988), *"Experiments with high energy neutrino beams",* Nobel Lecture.

[8] Davis, R. Jr. (2002) *"A half-century of solar neutrinos",* Nobel Lecture.

[9] *Anselmann, P. et al.* (1992), "Solar neutrinos observed by GALLEX at Gran Sasso", Phys. Lett. B 285, 376 (1992).

[10] *Abdurashitov, J. et al.* (1994), *"Results from SAGE (the Russian-American gallium solar neutrino experiment)"*, Phys. Lett. B 328, 234 (1994).

[11] Koshiba M. (2002), *"Birth of Neutrino Astrophysics",* Nobel Lecture.

[12] Kajita, T. (2015), *"Discovery of atmospheric neutrino oscillations",* Nobel Lecture.

[13] McDonald, A. (2015), *"The Sudbury Neutrino Observatory: Observation of Flavor Change for Solar Neutrinos",* Nobel Lecture.

[14] *Aker M. et al.* (2019), "Improved Upper Limit on the Neutrino Mass from a Direct Kinematic Method by KATRIN", Phys. Rev. Lett. 123 (2019).

[15] *Fengpeng A. et al.* (2016), *"Neutrino physics with JUNO",* J. Phys. G 43 (2016) 3, 030401.

[16] *Agostini M. et al.* (2020), *"Final Results of GERDA on the Search for Neutrinoless Double- Decay"*, *Phys. Rev. Lett.* 125 (2020) 25.

[17] *Adams D.Q. et al.* (2020), *"Improved Limit on Neutrinoless Double-Beta Decay in 130-Te with CUORE",* Phys. Rev. Lett. 124 (2020) 12, 122501.

[18] *Abi B. et al.* (2020), *"Long-baseline neutrino oscillation physics potential of the DUNE experiment",* Eur.Phys.J.C 80 (2020) 10, 978.

[19] Bian J. et al. (2022), *"Hyper-Kamiokande Experiment: A Snowmass White Paper",* Snowmass 2022 Contribution.

[20] *Agostini M.* (2014*), "Neutrinos from the primary proton–proton fusion process in the Sun"*, Nature N. 512, 383.

[21] *Agostini M.* (2018*), "Comprehensive measurement of pp-chain solar neutrinos"*, Nature Vol. 562, 505.

[22] *Agostini M.* (2020*), "Experimental evidence of neutrinos produced in the CNO fusion cycle in the Sun"*, Nature Vol. 587, 577.

[23] *Alimonti G.* (2009), *"The Borexino detector at the Laboratori Nazionali del Gran Sasso"*, Nucl. Instr. & Meth., A600 (2009) 568.
[24] Wolfenstein, L. (1978), *"Neutrino oscillations in matter",* Phys. Rev. D 17, 2369 (1978); Mikheyev, S. & Smirnov, A. (1985), *"Resonant amplification of neutrino oscillations in matter and spectroscopy of solar neutrinos",* Sov. J. Nucl. Phys. 42, 913 (1985).
[25] *Agostini M. et al.* (2020), *"Comprehensive geoneutrino analysis with Borexino",* Phys. Rev. D 101 (2020) 1, 012009.
[26] *Hirata K. et al.* (1987), *"Observation of a Neutrino Burst from the Supernova SN 1987a",* Phys. Rev. Lett. 58 (1987) 1490.
[27] *Bionta R.M. et al* (1987) "*Observation of a Neutrino Burst in Coincidence with Supernova SN 1987a in the Large Magellanic Cloud",* Phys. Rev. Lett. 58 (1987) 1494.
[28] *Alekseev E.N. et al.* (1987), *"Detection of the Neutrino Signal From {SN1987A} in the {LMC} Using the Inr Baksan Underground Scintillation Telescope", Phys. Lett. B 205 (1988) 209-214.*

COMMEMORAZIONI

PAOLO GRÜNANGER – LA VITA

PAOLO QUADRELLI (*)

(Adunanza dell'11 novembre 2021)

Al Signor Presidente dell'Istituto Lombardo Accademia delle Scienze e Lettere

Non è semplice rappresentare pienamente la figura, l'opera scientifica e didattica del Professor Paolo Grünanger (*Fig. 1*), insigne docente di Chimica Organica all'Università degli Studi di Pavia, personalità articolata che ha vissuto una vita intensa, ampia e profonda dando spazio non solo ai suoi interessi scientifici ma alle sue ricerche appassionate in altri campi che hanno sempre avuto come filo conduttore il raggiungimento di obiettivi alti e traguardi rilevanti. Il Prof. Paolo Grünanger nasce a Trieste il 28 Luglio 1926 e ci lascia dopo una vita intensissima il 29 Giugno 2020.

Nell'idea di fissare nella memoria i tratti distintivi di una vita ed una attitudine nell'affrontare le sfide, ho deciso di partire dalla sua ultima attività di ricerca, sviluppata a partire dal 1993; una passione ed un lavoro scientifico ma soprattutto un interesse condiviso con la moglie Orietta Servettaz per la natura e per le orchidee. L'impegno del Prof. Grünanger in questo campo non corrisponde ad una semplice ricapitolazione o riesame sotto una lente diversa e più attenta della materia botanica sui Monocotiledoni ma rappresenta un intervento acuto e pre-

(*) Dipartimento di Chimica dell'Università degli Studi di Pavia, Italy.
E-mail: paolo.quadrelli@unipv.it

ciso nel ricercare e trovare nuovi percorsi tassonomici. Le pubblicazioni sui Quaderni di Botanica Ambientale e sulle riviste internazionali specializzate danno il segno di un interesse profondo per una materia diversa dalla Chimica Organica ma svolta con il distintivo rigore metodologico che caratterizza sempre l'opera del Prof. Grünanger. Questo "cercare e trovare" conduce nel 1993 allo scoprimento di una nuova specie di orchidea, la *Epipactis placentina*, descritta sul testo delle Orchidee d'Italia a nome di Buongiorni & Grünanger (*Fig. 2*). Gli amici del Gruppo Italiano di Ricerca sulle Orchidee Spontanee (GIROS) ricordano il Prof. Grünanger nel 2020 al momento della sua scomparsa e in una recensione del 2000 sulla attività svolta dal Prof. Grünanger si trovano parole importanti degne di nota. Scrive il recensore: da un Chimico Organico di estrazione viene "un tentativo che spicca non solo per la sua giusta opportunità ma soprattutto come bussola in questo *mare magnum* tassonomico."



(Fig. 1)

Mi preme sottolineare due concetti importanti in questo commento: "spicca" e "giusta opportunità". Il Prof. Grünanger in questo impegno riesce a raggiungere un punto di vertice nel suo lavoro come ha sempre fatto in ogni sua attività; ed è opportuno e giusto, è il momento ed il modo corretto per svolgere questo tentativo che non rappresenta un "unicum" ma un metodo dalle solide basi scientifiche

adatto per affrontare nuove sfide ed orientare lo scienziato verso il percorso che porta non solo ad una meta ma ad una meta di vertice.



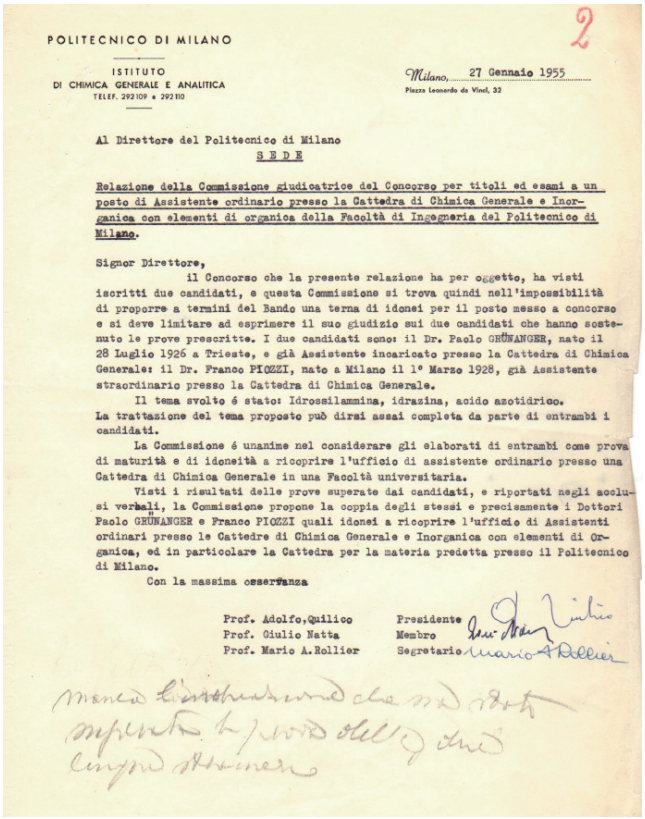
[1]Bongiorni L., De Vivo R. & Fori, S., 2009: Epipactis placentina Bongiorni & Grünanger (Orchidaceae) in Italia. – Jour. Eur. Orch. 41(3/4): 529-540.

(Fig. 2)

D'altronde, il Prof. Grünanger era abituato a queste sfide ed al raggiungimento di obiettivi "in alto"; membro del "Club dei 4000", aveva raggiunto 46 delle 86 vette sopra i 4000 metri delle Alpi e nel 1969 partecipò ad una spedizione in Groenlandia, segno di un temperamento forte e rivolto all'impresa distintiva. Accanto a questa tensione, ci accorgiamo dell'esistenza anche di un Prof. Grünanger più incline alla riflessione attraverso la sua passione musicale. Studia il pianoforte in gioventù ma ne abbandona il perfezionamento per dedicarsi agli studi chimici. Resta appassionato di musica lirica e sinfonica che segue in serate teatrali in vari teatri lombardi e non. Il Chimico Organico e l'appassionato di musica, orchidee e di montagna sono una persona sola che riceve nel il 2 Giugno 1977 la Medaglia d'Oro dei Benemeriti della Scuola, della Cultura e dell'Arte da parte del Presidente della Repubblica Italiana.

Figlio di Carlo Grünanger e Natalia de Lindemann, il padre (1891) è insegnante di tedesco e illustre germanista. All'età di 10 anni si trasferisce con la famiglia a Milano dove il padre ha un incarico di letteratura tedesca all'Università Cattolica e nel 1948 sarà incaricato di filologia tedesca alla Statale.

Paolo Grünanger frequenta il Liceo Classico Manzoni di Milano, e successivamente inizia gli studi accademici e si laurea in Chimica Industriale nel 1949. Dopo gli anni di studio e di ricerca, la sua carriera universitaria inizia nel 1955 come testimonia il verbale del concorso per l'assegnazione del posto di Assistente ordinario presso la Cattedra di Chimica Generale ed Inorganica con elementi di Organica della Facoltà di Ingegneria del Politecnico di Milano. Partecipa al concorso insieme a Franco Piozzi ed i due candidati vengono giudicati idonei dalla Commissione composta da nomi illustri quali i Professori Adolfo Quilico, Giulio Natta e Mario A. Rollier (*Fig. 3*).



POLITECNICO DI MILANO

ISTITUTO
DI CHIMICA GENERALE E ANALITICA
TELEF. 292109 e 292110

Milano, 27 Gennaio 1955
Piazza Leonardo da Vinci, 32

Al Direttore del Politecnico di Milano
SEDE

Relazione della Commissione giudicatrice del Concorso per titoli ed esami a un posto di Assistente ordinario presso la Cattedra di Chimica Generale e Inorganica con elementi di organica della Facoltà di Ingegneria del Politecnico di Milano.

Signor Direttore,

il Concorso che la presente relazione ha per oggetto, ha visti iscritti due candidati, e questa Commissione si trova quindi nell'impossibilità di proporre a termini del Bando una terna di idonei per il posto messo a concorso e si deve limitare ad esprimere il suo giudizio sui due candidati che hanno sostenuto le prove prescritte. I due candidati sono: il Dr. Paolo GRÜNANGER, nato il 28 Luglio 1926 a Trieste, e già Assistente incaricato presso la Cattedra di Chimica Generale: il Dr. Franco PIOZZI, nato a Milano il 1° Marzo 1928, già Assistente straordinario presso la Cattedra di Chimica Generale.

Il tema svolto é stato: Idrossilammina, idrazina, acido azotidrico. La trattazione del tema proposto può dirsi assai completa da parte di entrambi i candidati.

La Commissione é unanime nel considerare gli elaborati di entrambi come prova di maturità e di idoneità a ricoprire l'ufficio di assistente ordinario presso una Cattedra di Chimica Generale in una Facoltà universitaria.

Visti i risultati delle prove superate dai candidati, e riportati negli accolusi verbali, la Commissione propone la coppia degli stessi e precisamente i Dottori Paolo GRÜNANGER e Franco PIOZZI quali idonei a ricoprire l'ufficio di Assistenti ordinari presso le Cattedre di Chimica Generale e Inorganica con elementi di Organica, ed in particolare la Cattedra per la materia predetta presso il Politecnico di Milano.

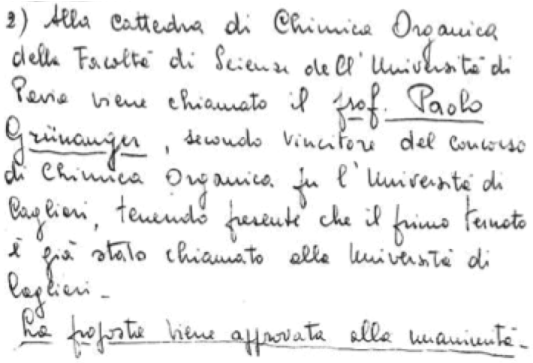
Con la massima osservanza

Prof. Adolfo Quilico — Presidente
Prof. Giulio Natta — Membro
Prof. Mario A. Rollier — Segretario

(Fig. 3)

Con Franco Piozzi studia le reazioni di derivati furanici e tetraidrofuranici. Ma è con Adolfo Quilico che Paolo Grünanger inizia un lungo sodalizio scientifico incentrato sulla chimica dei nitril ossidi che lo porterà nel 1961 a ricoprire la Cattedra di Chimica Organica a Pavia e nel 1991 ad essere insignito della Medaglia Quilico intitolata al suo Maestro.

Nello stesso anno accademico in cui il Prof. Mario A. Rollier iniziava a ricoprire la seconda cattedra di Chimica Generale ed Inorganica, 1961-62, la Facoltà di Scienze affidò l'insegnamento della Chimica Organica al Prof. Paolo Grünanger, ternato nel concorso dell'Università di Cagliari, nominato con prot. 6425 del 30.6.1961, a decorrere 1 novembre 1961 (*Fig. 4*). Il Prof. Paolo Grünanger, straordinario di Chimica Organica, nell'anno 1962-63 tenne la propria lezione di prolusione, sul tema "Applicazioni della cromatografia in fase gassosa", denotando in tal modo la propria volontà di spingere sulle tecniche moderne in grado di permettere al ricercatore in chimica organica di affrontare le tematiche di ricerca avendo cura dei meccanismi delle trasformazioni che si andavano studiando.
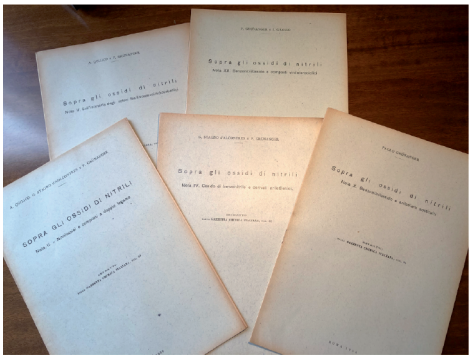

2) Alla cattedra di Chimica Organica della Facoltà di Scienze dell'Università di Pavia viene chiamato il prof. Paolo Grünanger, secondo vincitore del concorso di Chimica Organica fu l'Università di Cagliari, tenendo presente che il primo ternato è già stato chiamato alla Università di Cagliari.
La proposta viene approvata alla unanimità.

(Fig. 4)

La nuova cattedra di chimica organica, con tre assistenti, fu ospitata presso l'Istituto di Chimica Generale di Pavia. Il 19 Gennaio 1962 venne richiesto alla Facoltà un posto di assistente di ruolo, che venne assegnato (comunicazione del Preside del 20.7.1962).

A Pavia, il Prof. Grünanger porta tutto il suo bagaglio scientifico incentrato sulla chimica dei nitril ossidi e delle reazioni con sistemi insa-

turi come testimonia la prestigiosa pubblicazione su Nature del 1950 ed i successivi lavori compiuti a Pavia in collaborazione in quelli che sono stati i suoi primi allievi, alcuni dei quali diventeranno valenti docenti dell'ateneo pavese (*Fig. 5*).



(Fig. 5)

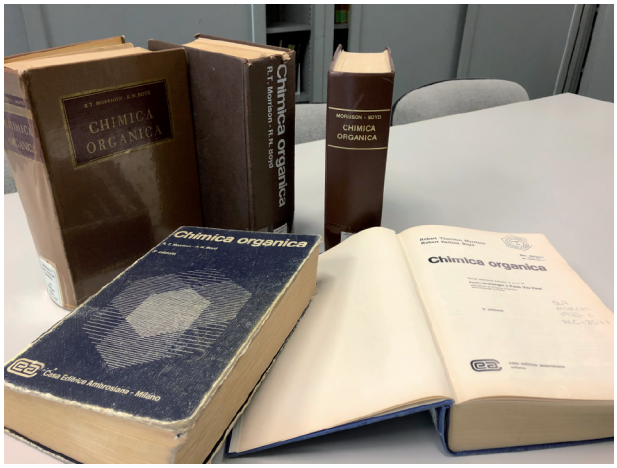
Questa attività di ricerca e di coordinamento del nuovo gruppo di chimica organica consente al Prof. Grünanger di presentare nel 1964 la propria Relazione Triennale alla Facoltà di Scienze con un congruo numero di lavori pubblicati e con una importante novità di grande rilievo nel campo della didattica della chimica organica (*Fig. 6*)

Durante l'anno 1963-64 il sottoscritto ha inoltre curato, in collaborazione con la Dr. P. Vita Finzi, la traduzione italiana del volume di R. T. Morrison e R. N. Boyd, "Organic Chemistry" (Allyn and Bacon, Boston, 1959), di imminente pubblicazione a cura della Casa Editrice Ambrosiana, Milano.

(Fig. 6)

Si tratta della traduzione, svolta in collaborazione con la Prof.ssa Paola Vita Finzi, per gli studenti pavesi ed italiani del testo di Chimica Organica di Morrison e Boyd, una vera e propria rivoluzione, un rinnovamento basato sull'impostazione anglosassone delle lezioni e non sulla tradizionale didattica descrittiva per classi di composti (*Fig. 7*). Il Prof. Grünanger, in questo senso, mantenne sempre un livello molto elevato della didattica, "alla frontiera", suscitando apprezzamento ed entusiasmo da parte degli studenti. Questa impostazione didattica non disgiunta dal

rigore metodologico in ambito di ricerca si innestò sul tessuto pavese arricchendolo enormemente, con la collaborazione di coloro che, come il Prof. Silvio Pietra, erano già attivi presso l'Istituto pavese portando la Chimica Organica a livelli di eccellenza nel panorama nazionale.

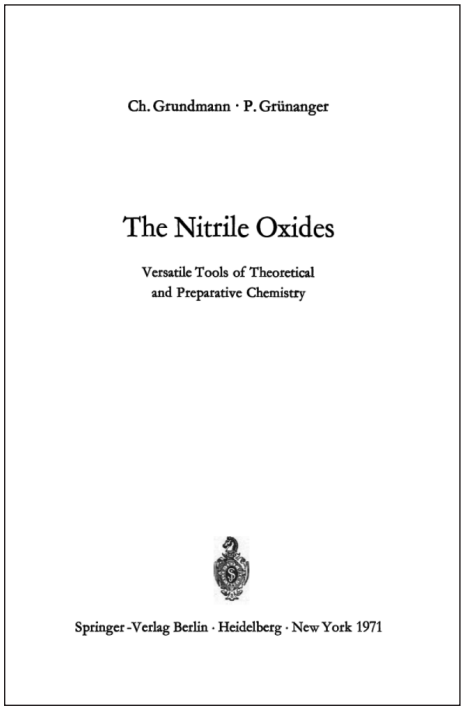


(Fig. 7)

Intanto, la chimica dei nitril ossidi ed in generale delle reazioni pericicliche pervadeva e faceva fiorire ricerche e collaborazioni a vari livelli. Gli allievi del Prof. Grünanger ed i suoi collaboratori, e segnatamente la Prof.ssa Paola Vita Finzi, intraprendevano nuovi cammini alla luce degli importanti sviluppi della chimica organica degli anni '60 e '70. Numerosi lavori vedevano la presenza, oltre al nome del Prof. Grünanger, dei primi collaboratori quali Arbasino, Desimoni, Gandolfi, Caramella, Gamba, Marinone. Questi nomi sarebbero poi stati scritti, come Docenti, nella Guida dello Studente per il Corso di Laurea in Chimica che indicava agli iscritti il loro percorso di studio quinquennale.

Il Prof. Grünanger ancora doveva porre alcuni sigilli importanti nella chimica dei nitril ossidi. In qualche modo il preludio è dato dal suo maestro Adolfo Quilico che pubblica su "La Chimica e l'Industria" del 1971 una breve rassegna sulla chimica dei nitril ossidi; è giunto il momento di porre di nuovo una pietra miliare su questi temi. Nel 1971, infatti, il Prof. Grünanger pubblica con Grundmann

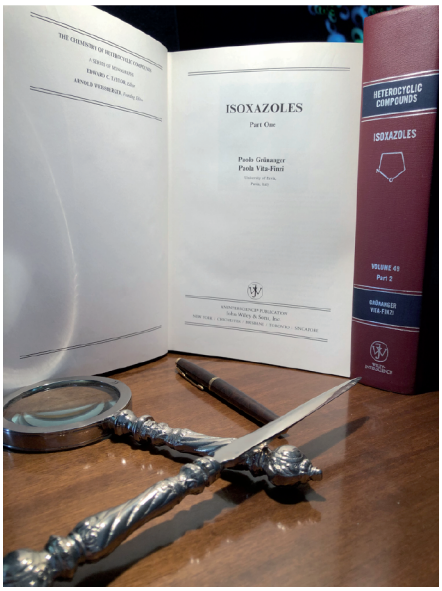
il libro sui Nitril Ossidi (*Fig. 8*) che traccia la storia di questi composti fino alla loro consacrazione come 1,3-dipoli nel 1961 da parte dell'amico Prof. Rolf Huisgen. Questo testo è tuttora un canone di riferimento per la sintesi di precursori adatti alla generazione *in situ* dei nitril ossidi.



(Fig. 8)

Negli anni successivi il Prof. Grünanger collaborerà ancora per un ulteriore opera di approfondimento sul tema della reattività dei nitril ossidi unitamente alla nitril immine con il Prof. P. Caramella in un capitolo del testo edito dal Prof. Albert Padwa sugli 1,3-dipoli.

Nel 1996 il Prof. Grünanger è collocato a riposo non prima però di aver portato a termine con la Prof.ssa Vita Finzi la scrittura dei due volumi sugli Isossazoli della Serie del Weissberger editi dalla Casa Editrice Wiley (*Fig. 9*). Nel 1997 il Prof. Grünanger diventa Professore Emerito dell'Università degli Studi di Pavia.



(Fig. 9)

La chimica dei nitril ossidi portata a Pavia dal Prof. Grünanger e gli studi sulle reazioni pericicliche restano un caposaldo delle ricerche del Dipartimento di Chimica Organica prima e del Dipartimento di Chimica poi. Resta il suo insegnamento e la sua impostazione scientifica che viene sviluppata dagli allievi e da coloro che sono stati suoi studenti nel corso di tanti anni di attività. Ancora negli anni '90 i processi di dimerizzazione dei nitril ossidi e le trasformazioni delle clorossime sono state oggetto di un rinnovato interesse. In particolare, desidero ricordare lo studio sugli 1,2,4-ossadiazoli-4-ossidi che il Prof. P. Caramella ed io abbiamo condotto mettendo in luce la possibilità di ottenere questi eterocicli, scoperti da H. Wieland nel 1906, asimmetricamente sostituiti mediante la cicloaddizione dei nitrile ossidi ai doppi legami C=N di amidossime.

Il Prof. Paolo Grünanger non si occupò solo di ricerca e didattica ma anche della divulgazione scientifica e nel 1978 fondò con i Professori R. Fusco di Milano e G. Speroni di Firenze il Centro Interuniversitario sulle Reazioni Pericicliche che ogni due anni organizza convegni in Italia per diffondere le conoscenze su questo tipo di pro-

cessi sintetici. In quell'anno il Convegno si tenne a Firenze come da programma qui allegato.

Ed è significativo che nel 2021 nello stesso mese di ottobre di quella prima edizione e quasi negli stessi giorni si sia svolto l'ultimo Convegno che ha avuto modo di salutare il Prof. A. Brandi dell'Università di Firenze e la Prof.ssa M. R. Iesce dell'Università di Napoli, pensionandi, e attivi membri del gruppo delle "pericicliche" in Italia. Proprio nel 1978 la Prof.ssa Iesce iniziava la sua carriera universitaria come autrice di una comunicazione (*Fig. 10*) e che conclude nel 2021 sempre Firenze.


C.I.R.P.
Centro interuniversitario di ricerca sulle reazioni pericicliche e sintesi di sistemi etero e carbocicli

Società Chimica Italiana - Divisione di Chimica organica
Simposio su "Cicloaddizioni e reazioni collegate"
27/28 ottobre 1978
Istituto di Chimica organica della Università, Via G. Capponi, 9
FIRENZE

PROGRAMMA DEI LAVORI

Venerdì 27 ottobre 1978

Presiede il Prof. F. Grünanger.

ore 9.30 – L. Garanti, G. Zecchi (Milano): "Cicloaddizioni intramolecolari di 1,3-dipoli funzionalizzati".

ore 10.00 – G. Desimoni, F. F. Richetti, G. Tacconi (Pavia): "Sintesi eterocicliche con dienofili 1,2-bisostituiti o con derivati carbonilici α,β-insaturi".

ore 10.50-11.20 Intervallo.

ore 11.20 – F. Coronello, F. Marinone Albini (Pavia): "Selettività nelle cicloaddizioni 1,3-dipolari di composti eteroaromatici".

ore 11.40 – A. Dondoni (Ferrara): "Potenzialità di eterocumuleni nella sintesi organica: cicloaddizioni 3+2, 4+2 di tiochetoni e chetenimmine".

Presiede il Prof. G. Speroni.

ore 15.30 – G. Lo Vecchio (Messina): "Nuove prospettive nella chimica dei nitrilossidi".

ore 16.00 – M. De Sarlo, A. Guerra (Firenze): "Polimeri eteroaromatici dei nitrilossidi".

ore 16.40 – F. Della Grave, S. Maiorana (Milano): "Cicloaddizione di nitrilimmine con alcheni 1,2-disostituiti".

Ore 17 – 17.20 Intervallo.

Ore 17.20 – E. Scotton, (Firenze): "Fotoreattività reazioni di cicloaddizione".

Ore 17.40 – M. L. Grassino, M. R. Iesce (Napoli): "Intermedi peracidici nelle reazioni fra acidi organici alifatici e sistemi eterociclici"

Sabato 28 ottobre 1978

Presiede il Prof. R. Fusco

ore 9.30 – R. Carrié (Rennes, France): "Cycloadditions avec le diazométhane. Exemples d'intérêt mécanistique et synthétique".

ore 10.30 – A. Selva (Milano): "Processi di cicloreversione 1,3-dipolare in spettrometria di massa".

ore 11.10 – 11.30 Intervallo.

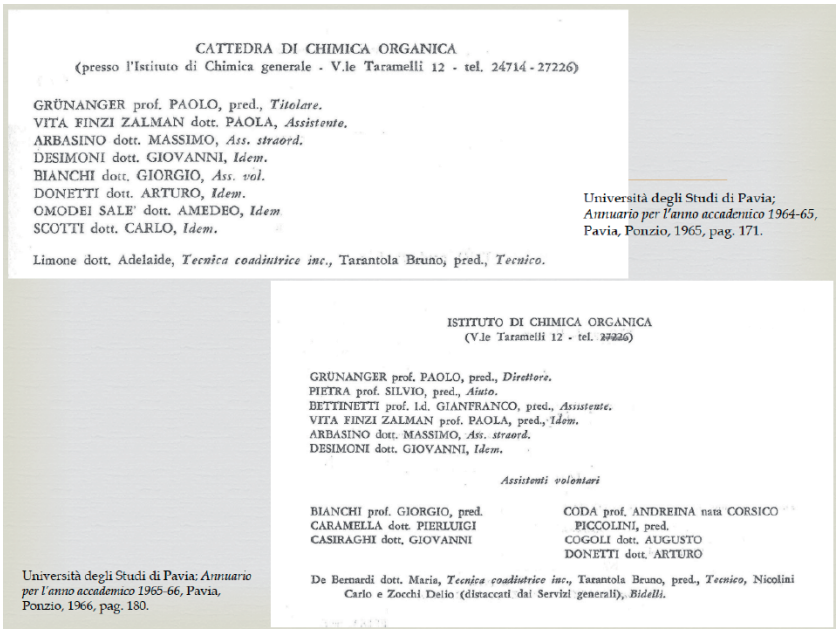
ore 11.30 – G. De Micheli, R. Gandolfi (Pavia): "Selettività sin-anti nella reazione di cicloaddizione 1,3-dipolare".

ore 11.50 – G. De Micheli, M. Gandolfi, Toma (Pavia): "Selettività nella reazione di 1,3-dipoli con polieni ciclici".

(Fig. 10)

Giungendo alla conclusione mi preme mettere in evidenza la situazione relativa alla Cattedra di Chimica Organica istituita nel 1961 e quella dell'Istituto di Chimica Organica relativa agli anni successivi. I nomi che troviamo sono quelli di coloro che hanno a lungo collaborato con il Prof. Grünanger per la costruzione dell'Istituto di Chimica Organica sia scientificamente, didatticamente e materialmente e che

hanno dato un'impronta forte alla chimica pavese che ha affascinato generazioni di studenti che ad anni di distanza ricordano i verdi anni universitari caratterizzati dalla presenza forte di Docenti molto apprezzati e mai dimenticati (*Fig. 11*).



CATTEDRA DI CHIMICA ORGANICA
(presso l'Istituto di Chimica generale - V.le Taramelli 12 - tel. 24714 - 27226)

GRÜNANGER prof. PAOLO, pred., *Titolare.*
VITA FINZI ZALMAN dott. PAOLA, *Assistente.*
ARBASINO dott. MASSIMO, *Ass. straord.*
DESIMONI dott. GIOVANNI, *Idem.*
BIANCHI dott. GIORGIO, *Ass. vol.*
DONETTI dott. ARTURO, *Idem.*
OMODEI SALE' dott. AMEDEO, *Idem*
SCOTTI dott. CARLO, *Idem.*

Limone dott. Adelaide, *Tecnica coadiutrice inc.*, Tarantola Bruno, pred., *Tecnico.*

Università degli Studi di Pavia; *Annuario per l'anno accademico 1964-65*, Pavia, Ponzio, 1965, pag. 171.

ISTITUTO DI CHIMICA ORGANICA
(V.le Taramelli 12 - tel. ~~27226~~)

GRÜNANGER prof. PAOLO, pred., *Direttore.*
PIETRA prof. SILVIO, pred., *Aiuto.*
BETTINETTI prof. Ld. GIANFRANCO, pred., *Assistente.*
VITA FINZI ZALMAN prof. PAOLA, pred., *Idem.*
ARBASINO dott. MASSIMO, *Ass. straord.*
DESIMONI dott. GIOVANNI, *Idem.*

Assistenti volontari

BIANCHI prof. GIORGIO, pred.
CARAMELLA dott. PIERLUIGI
CASIRAGHI dott. GIOVANNI
CODA prof. ANDREINA nata CORSICO
PICCOLINI, pred.
COGOLI dott. AUGUSTO
DONETTI dott. ARTURO

De Bernardi dott. Maria, *Tecnica coadiutrice inc.*, Tarantola Bruno, pred., *Tecnico*, Nicolini Carlo e Zocchi Delio (distaccati dai Servizi generali), *Bidelli.*

Università degli Studi di Pavia: *Annuario per l'anno accademico 1965-66*, Pavia, Ponzio, 1966, pag. 180.

(Fig. 11)

La Cattedra di Chimica Organica fondata nel 1961 ha celebrato i suoi sessant'anni di vita; gli inizi sono testimoniati dai nomi qui sopra riportati. Questi Docenti sono poi stati gli artefici della nascita dell'Istituto di Chimica Organica, divenuto Dipartimento e poi confluito dell'attuale Dipartimento di Chimica dell'Università di Pavia. Il Prof. Grünanger nello svolgere degli anni ha avuto cura anche delle carriere dei propri collaboratori. Nella *Fig. 12* è ritratto il Prof. Grünanger a Roma in occasione della "Libera Docenza" dei Professori Gianfranco Tacconi (scomparso nel Luglio 2008) ed indimenticato "Maestro" della chimica degli eterocicli e nell'insegnamento della stechiometria ed Gianfranco Bettinetti, fotochimico e grande insegnante delle tecniche del laboratorio di chimica organica, scomparso lo scorso mese di Agosto 2021.



(Fig. 12)

Abbiamo trascorso con Paolo Grünanger momenti lieti e significativi quasi ripercorrendo con lui avvenimenti importanti della sua storia personale. Insieme al ricordo di un grande scienziato e docente abbiamo potuto chiaramente vedere la figura di un uomo straordinario. Insieme a tutti coloro che in questo ricordo ritroveranno eventi trascorsi ed attuali ringraziamo di cuore il Prof. Paolo Grünanger (*Fig. 13*). Nel concludere desidero prendere a prestito le parole che l'amico e collega Prof. Giuseppe Faita ebbe a scrivere in occasione della scomparsa del Prof. Grünanger.



(Fig. 13)

"Il Professore - scrive Faita - solo apparentemente schivo e riservato, aveva una personalità cristallina e un profondo senso etico della sua professione, senso etico che si traduceva nella volontà di dare sempre il massimo per i suoi studenti, pretendendo quindi da ognuno altrettanto. Nell'immaginario collettivo dei tanti giovani che hanno avuto la fortuna di incontrarlo rappresentava il vero Professore, quello a cui si riconosceva non solo un'indiscussa superiorità intellettuale, ma quell'autorevolezza tale che si riconosceva solo ai "vecchi Maestri"."

Ringraziamenti

Questa parte non è semplicemente rituale ma fondamentale se sono riuscito a descrivere sia pur parzialmente la grande figura scientifica ed umana del Prof. Paolo Grünanger. In primis, un sentito ed affettuoso ringraziamento va alla Prof.ssa Paola Vita Finzi, constante, instancabile e forte presenza accanto al Prof. Grünanger per tanti anni e grande collaboratrice in tanti momenti di scienza e di didattica. Un doveroso ringraziamento va poi al Prof. Giuseppe Faita, al Prof. Giorgio G. Mellerio per il materiale storico ed alla Prof.ssa Elisa Fasani per alcune fotografie.

Ringrazio anche l'Università degli Studi di Pavia per aver collaborato alla raccolta del materiale storico depositato nei suoi archivi.

RICORDANDO ANGELO LOINGER

ANTONIO GIORGILLI (*)

(Adunanza del 21 ottobre 2021)

Il Professor Angelo Loinger nacque a Verona il 1 aprile 1923, e in quella città frequentò il Liceo classico. Ottenne la laurea in Fisica all'Università di Bologna il 25 luglio 1947, con qualche ritardo sul piano di studi a causa della guerra. Nell'anno 1947–48 fu assistente volontario a Padova. Dal 1948 fino al novembre 1960 fu assistente del Prof. Piero Caldirola alla Cattedra di Fisica Teorica a Pavia; nel frattempo conseguì la libera docenza, nel 1956. Nel 1960, avendo vinto il concorso a cattedra, fu chiamato all'Università di Messina, ove rimase un solo anno accademico. Nel 1961 fu chiamato a coprire la Cattedra di Fisica Teorica a Pavia, ove rimase fino al 1967; è considerato come fondatore della scuola di Fisica Teorica di Pavia, insieme a Piero Caldirola, Pietro Bocchieri e Paolo Gulmanelli. Dal novembre 1967 ottenne la Cattedra di Fisica Teorica a Milano, ove rimase fino al pensionamento, nel novembre 1996. Nel 1970 fu insignito del Premio Triennale per la Fisica "F. Somaini". Cooptato il 26 maggio 1977 come Socio Corrispondente dell'Istituto Lombardo Accademia di Scienze e Lettere, venne nominato Membro Effettivo il 23 giugno 1983. È deceduto a Pavia, il 21 dicembre 2020.

1. Attività scientifica

Gli interessi scientifici di Angelo Loinger spaziano dai Fondamenti della Meccanica Quantistica, alla Meccanica Statistica Classica e Quantistica,

(*) Istituto Lombardo Accademia di Scienze e Lettere, Milano. Università degli Studi di Milano, Italy. E-mail: antonio.giorgilli@unimi.it

alla Relatività Generale, a qualche breve escursione nel campo della logica. Le sue pubblicazioni, oltre 160, coprono un arco temporale che inizia nel 1949, con un articolo nel Volume 6 del Nuovo Cimento, e si estende fino ai suoi ultimi mesi di vita.

Da una lettura dei lavori di Angelo Loinger emerge la figura di uno scienziato che potrebbe definirsi un "fisico militante". Nell'affrontare un argomento di ricerca parte dai lavori fondamentali, citando in dettaglio i riferimenti rilevanti, e ne analizza i minimi particolari; individua i concetti che ritiene corretti e li ripropone in forma sintetica. La sua attenzione si focalizza principalmente su problemi di fondamento che affronta con atteggiamento molto critico. Spirito vivacemente polemico, assume spesso posizioni contro corrente o di aperta rottura, talvolta giudicate eterodosse, che difende con tenacia e determinazione.

Nello svolgersi dell'attività scientifica di Angelo Loinger si possono isolare alcuni temi a cui saranno dedicati i paragrafi che seguono.

1.1 Il teorema ergodico di von Neumann

Il problema ergodico, che trae origine dagli studi di Boltzmann, viene affrontato ripetutamente da Loinger in collaborazione con Bocchieri. La formulazione del problema in ambito classico si fa risalire all' *ipotesi ergodica* di Boltzmann: *un sistema meccanico isolato a molti corpi (ad esempio un gas) nel corso della sua evoluzione visita in modo uniforme tutti gli stati compatibili con la conservazione dell'energia.* Per quanto l'enunciato sia in apparenza plausibile, la formulazione precisa del problema non è affatto banale: la ricchezza di comportamenti della dinamica costringe a prendere in considerazione un gran numero di orbite che non soddisfano il requisito richiesto; in altre parole, esistono stati iniziali che danno luogo a evoluzioni particolari quali, per citare solo il caso più semplice, orbite periodiche con il loro corredo di varietà stabili e instabili. Occorre dunque introdurre il concetto di "proprietà valida per quasi tutte le orbite", in un senso che deve essere precisato in termini di una qualche misura dell'insieme di orbite ergodiche. Ancor più difficile è dimostrare che l'enunciato si applichi effettivamente, in senso generale, a un sistema fisico: in effetti tale dimostrazione non è mai stata portata a termine. Nei primi decenni del XX secolo il problema è stato rienunciato sotto la forma di transitività metrica: *ogni sottoinsieme invariante della superficie dell'energia ha misura zero oppure uno*. Oppure, in forma simile: *non si può decomporre la superficie dell'energia in sottinsiemi invarianti di misura positiva.* Resta però il fatto che una tale proprietà, tacitamente ammessa, non è

dimostrata come fatto generale. Tra gli studi fondamentali sul teorema ergodico in Meccanica Classica si collocano i lavori di von Neumann, Birkhoff e Hopf, insieme ad altri. La formulazione del problema ergodico in ambito quantistico è dovuta a von Neumann (1929), ed è stata in seguito semplificata da Pauli e Fierz (1937).

Un primo lavoro di Bocchieri e Loinger, pubblicato nel 1956, prende in considerazione una proprietà più debole dell'ergodicità, *dimostrata* da Poincaré in ambito classico: *dato un qualunque stato iniziale dello spazio delle fasi di un sistema chiuso in un volume finito, in un suo qualunque intorno esiste un'orbita che torna a visitare quell'intorno dopo un tempo finito (che può essere molto lungo).* Bocchieri e Loinger estendono quel risultato all'ambito quantistico: *in un sistema quantistico con spettro di autovalori dell'energia discreto, l'evoluzione riporta il sistema arbitrariamente vicino allo stato iniziale dopo un tempo finito.* L'aspetto interessante della dimostrazione è che viene messo in evidenza il comportamento *quasi periodico* dell'evoluzione: il problema si riconduce al cosiddetto flusso di Kronecker su un toro, per il quale la ricorrenza e l'ergodicità sono proprietà note. La condizione sullo spettro di energia discreto corrisponde a quella di volume finito nell'enunciato di Poincaré.

La corrispondenza con il caso classico di moto quasi periodico è alla base anche del teorema ergodico dimostrato da von Neumann nel caso quantistico. La difficoltà in questo caso è l'intervento di un osservatore, il cui atto di misurazione è inevitabilmente soggetto alle regole di indeterminazione. Bocchieri e Loinger, seguendo von Neumann, parlano di "macro–osservatore", che è in grado di eseguire una misura solo in modo approssimato. Tale concetto si sviluppa nell'introdurre anche nel caso quantistico una suddivisione della superficie dell'energia in celle, in analogia col caso classico. Come nel caso delle ricorrenza, gli autori dimostrano che l'ergodicità non richiede nessuna particolare proprietà di tipo dinamico: la stessa ipotesi che l'evoluzione sia quella prevista dall'equazione di Schrödinger non è rilevante. Di conseguenza il teorema di von Neumann è da considerarsi *vuoto*, perché si può dimostrare senza alcuna ipotesi.

Come spesso accade, la messa in discussione di risultati di scienziati celebri suscita forti perplessità e critiche in seno alla comunità scientifica. In quell'occasione Loinger e Bocchieri entrano in contatto con Rosenfeld a Copenaghen. Dubbioso all'inizio, Rosenfeld finisce col convincersi della validità del risultato ottenuto dai due scienziati italiani; egli sarà, per il resto della sua vita, un sincero sostenitore della loro attività di ricerca, e un prezioso punto di riferimento.

1.2 Teoria quantistica della misurazione

Il processo di misurazione ha un ruolo fondamentale in Meccanica Quantistica. Anche qui, il punto di partenza è la teoria formale elaborata da von Neumann nel 1932, e in seguito ripresa e discussa da diversi autori. In forma schematica, il problema nasce dal fatto che qualunque processo di misurazione richiede una qualche forma di interazione tra l'oggetto sottoposto a misura e l'apparato con cui si esegue quella misura. Nel caso di interesse l'oggetto è microscopico, mentre l'apparato è macroscopico. Il procedimento di misura richiede che l'oggetto modifichi lo stato dell'apparecchiatura, senza che il suo stato venga modificato sensibilmente. Nel caso quantistico sia l'oggetto da misurare che l'apparecchiatura sono caratterizzati da una sovrapposizione di stati, a ciascuno dei quali corrisponde un possibile risultato della misurazione.

Nello schema di von Neumann ciò che un osservatore intende rilevare è la modifica indotta nello stato dell'apparecchiatura; quello stato però deve essere a sua volta oggetto di misurazione. Occorre quindi introdurre una seconda apparecchiatura che riveli lo stato della prima, poi una terza che riveli lo stato della seconda, e così di seguito, fino a coinvolgere gli organi sensoriali e nervosi dell'osservatore. Ne consegue una visione soggettiva (o solipsistica) del processo di misurazione.

La proposta di Loinger, con i suoi collaboratori Prosperi e Daneri, viene stimolata da alcuni spunti contenuti nel trattato di Ludwig di Meccanica Quantistica del 1954. Su quella base propongono una teoria della Misura Quantistica più vicina al realismo dei laboratori di quanto non fosse quella assolutamente solipsistica di von Neumann. In breve, si tratta di interrompere la catena infinita di apparecchiature ipotizzata dalla teoria di von Neumann fermandosi al primo livello, così da rendere oggettivi i risultati della misurazione in quanto indipendenti dall'osservatore. A tal fine introducono il punto di vista della Meccanica Statistica. Si richiede che l'apparecchio di misura possa trovarsi in diversi stati metastabili di equilibrio a ciascuno dei quali è associato un possibile risultato della misurazione, riconoscibile grazie alla caratterizzazione dello stato in senso statistico. La misurazione consiste in una transizione dell'apparecchiatura stessa da uno stato iniziale a uno stato metastabile diverso che permane per un tempo abbastanza lungo da poter essere osservato, fin che non viene ripristinato lo stato iniziale da un intervento esterno. Al fine di descrivere il meccanismo portano l'esempio di un contatore Geiger o di un contatore proporzionale, strumenti in uso in quegli anni. Il passaggio di una particella carica (che è l'oggetto quantistico da osservare) provoca una

ionizzazione del gas all'interno del contatore, seguita da una scarica che modifica i potenziali elettrici all'interno del contatore stesso. La modifica permane anche quando la ionizzazione prodotta dalla particella si è esaurita, il che consente di rilevarla prima di ripristinare lo stato iniziale del contatore.

Che i risultati di questo studio potessero essere pubblicati non era scontato. Perché la pubblicazione andasse a buon fine fu necessario l'intervento di Rosenfeld. L'articolo fu inviato alla rivista Nuclear Physics con una nota aggiunta da Rosenfeld in cui si legge: "Questo lavoro sarebbe piaciuto a Niels Bohr". Merito di questi contributi, tutt'ora citati, è stato soprattutto quello di ridestare nella comunità scientifica un rinnovato interesse per questo tipo di problemi di fondamento, dopo la parentesi della guerra.

1.3 L'equipartizione dell'energia in ambito classico

Nei primi anni '70 Loinger, in collaborazione con Pietro Bocchieri e Antonio Scotti, concentra la sua attenzione sul fenomeno dell'equipartizione dell'energia, aprendo una discussione sui fondamenti della Meccanica Statistica Classica. In alcuni lavori si mette in evidenza l'incompatibilità dell'equipartizione con l'Elettrodinamica Classica. Il lavoro che può considerarsi come il più significativo, alla luce dell'attenzione ricevuta e delle numerose discussioni che ne sono seguite, prende le mosse dall'ultimo impegno scientifico di Fermi: un rapporto interno firmato da Enrico Fermi, John Pasta e Stanislaw Ulam, catalogato come N. 1940 negli annuari di Los Alamos del 1955. Il modello studiato è stato ribattezzato in seguito con l'acronimo FPU. In quel lavoro si pone il problema di studiare numericamente l'approccio all'equipartizione dell'energia in una catena di particelle interagenti con un potenziale non lineare. Si tratta di un modello discretizzato, già studiato da Lagrange, che approssima il comportamento di una corda continua con estremi fissi – come quella di un clavicembalo o pianoforte. Nell'approssimazione di interazione elastica si individuano dei *modi normali*, analoghi a quelli di una corda continua, che mantengono ciascuno la propria energia. L'aggiunta di una non linearità genera un accoppiamento che modifica il comportamento della catena, e la previsione della Meccanica Statistica è che l'energia tenda in media temporale a equidistribuirsi tra tutti i modi normali. Il risultato sorprendente di una simulazione numerica della dinamica è che non si osserva nessuna tendenza all'equipartizione prevista; l'energia tende invece a restare localizzata su pochi modi normali.

Pietro Bocchieri, Antonio Scotti, Bruno Bearzi e Angelo Loinger svolgono uno studio numerico dettagliato su un modello qualitativamente simile a quello di Fermi, ma più aderente alla realtà fisica in quanto introducono il potenziale molecolare di interazione di Lennard–Jones con parametri corrispondenti a una catena di atomi di argon. Nel loro lavoro, poi ribattezzato con l'acronimo BSBL, si mette in evidenza l'esistenza di una *soglia critica* di energia specifica (ovvero energia media per particella) al di sopra della quale il sistema tende effettivamente all'equipartizione dell'energia tra i modi; tuttavia gli autori fanno osservare che ciò non implica necessariamente l'ergodicità della dinamica. Il fatto interessante è che per energie specifiche inferiori alla soglia il comportamento osservato in FPU viene pienamente confermato. Restano aperte diverse questioni, che gli autori non mancano di menzionare. Se ne possono richiamare due, particolarmente rilevanti. La prima è se il comportamento osservato calcolando l'evoluzione per un *numero di particelle* pari a qualche decina persista anche al crescere di tale numero; la seconda è se il *tempo di integrazione* sia sufficientemente lungo da potersi considerare realistico. Gli autori, pur con le dovute cautele, suggeriscono che i fenomeni osservati, in particolare l'esistenza di una soglia in energia specifica, persistano al crescere sia del tempo che del numero di particelle.

Negli anni immediatamente precedenti al lavoro BSBL il rapporto FPU era stato ripreso da Joseph Ford mettendo in evidenza proprio i problemi appena accennati. Negli anni successivi la discussione coinvolge anche molti altri ricercatori a livello mondiale. Si formano diverse scuole di pensiero. Alcuni ritengono che la soglia in energia specifica scompaia al crescere del numero di particelle; altri ritengono che si tratti di una questione di tempo di integrazione, e che l'equipartizione venga raggiunta in tempi più lunghi; altri ancora ritengono corretta la congettura BSBL. Naturalmente, tra queste tre possibilità c'è spazio per molte variazioni.

Il cosiddetto "problema FPU" è ancor oggi oggetto di studio. Negli anni successivi sono stati di gran lunga superati i limiti imposti dalla potenza di calcolo dei calcolatori di fine anni '60, e le simulazioni numeriche della dinamica si sono moltiplicate a dismisura, ma non si può affermare che tutte le questioni sollevate da Loinger e dai suoi collaboratori abbiano ricevuto una risposta definitiva.

1.4 L'effetto Aharonov–Bohm

In un articolo del 1959 Aharonov e Bohm sollevano un problema che attiene ai fondamenti della Meccanica Quantistica: il ruolo dei potenziali

nella teoria elettrodinamica. In ambito classico i potenziali, e in particolare il potenziale vettore che descrive l'azione del campo magnetico, svolgono il ruolo di strumento matematico che semplifica il calcolo dei campi elettrici e magnetici. Tuttavia le equazioni possono sempre essere riscritte in termini di campi di forza, e solo a questi ultimi viene attribuito un ruolo fisico effettivo. La tesi avanzata da Aharonov e Bohm è che nel caso quantistico i potenziali abbiano un ruolo effettivo, non traducibile in termini di campi elettrici o magnetici. Emerge dunque una differenza sostanziale tra l'elettrodinamica classica e quella quantistica. Si tratta, a dire il vero, di una tesi già proposta da Werner Ehrenberg e Raymond Siday in un articolo del 1949, di cui Aharonov e Bohm non erano a conoscenza ma che non mancarono di citare in lavori successivi. A sostegno della loro tesi Aharonov e Bohm propongono lo schema di due esperimenti in cui delle particelle cariche (elettroni) attraversano regioni dello spazio con potenziale elettrico o potenziale magnetico uniformi e costanti ma di diversa intensità, sicché il campo di forza risulta nullo in ambedue i casi. La previsione è che le fasi delle onde quantistiche associate alla particella vengano modificate dai potenziali, inducendo degli sfasamenti rivelabili mediante interferenza.

Verso la fine degli anni '70 Bocchieri e Loinger pubblicano un articolo fortemente critico sul cosiddetto "effetto Aharonov–Bohm". Essi sostengono la tesi opposta, ossia che quell'effetto abbia origine esclusivamente nel formalismo matematico. Concludono che, come nel caso classico, anche nel caso quantistico si debba assegnare rilevanza fisica solo ai campi di forza, limitando invece il ruolo dei potenziali a quello di strumento matematico. L'articolo provoca immediate reazioni, innescando una polemica che si protrae per alcuni anni con toni a volte particolarmente accesi. La discussione si estende anche all'interpretazione dei risultati di esperimenti volti a confermare l'esistenza dell'effetto previsto da Aharonov e Bohm. Anche in questo caso Bocchieri e Loinger propongono una spiegazione in termini di campi di forza. La polemica si spegne verso la metà degli anni '80, sostanzialmente con l'accettazione da parte della comunità dei fisici delle tesi inizialmente avanzate da Aharonov e Bohm.

1.5 La Relatività Generale

Negli anni più recenti, dopo il 2000, l'interesse di Angelo Loinger si sposta sulla Relatività Generale. Parecchi lavori dall'anno 2003 in poi portano anche il nome di Tiziana Marsico, prima sua allieva, e in seguito fedele collaboratrice fino agli ultimi giorni. Anche nel campo della Re-

latività lo spirito critico di Loinger si manifesta nella lettura attenta dei lavori fondamentali, rifacendosi alle tesi dei "Padri Fondatori"; tra questi, oltre ad Albert Einstein, cita sistematicamente: Karl Schwarzschild, Willem de Sitter, Arthur Eddington, Tullio Levi–Civita, Léon Brillouin, David Hilbert, Hermann Weyl. Si occupa anche di tradurre alcuni dei lavori fondamentali, originariamente in lingua tedesca (Hilbert, Schwarzschild, Weyl) o italiana (Levi–Civita), col preciso scopo di renderli accessibili alla comunità scientifica, ormai polarizzata sulla lingua inglese. In seguito al suo lavoro di rilettura sistematica Loinger assume un atteggiamento fortemente critico nei confronti di alcuni sviluppi teorici successivi agli anni '60. Le cinque note firmate da Loinger e Marsico, pubblicate sui Rendiconti dell'Istituto Lombardo Accademia di Scienze e Lettere, volumi 148 (2014) e 149 (2015), sono state scritte con l'intento di riassumere i lavori precedenti (circa 50); a quelle note si fa riferimento nel seguito.

Alla base delle argomentazioni di Loinger e Marsico c'è il fenomeno chiamato *Effetto Hilbert* o *Repulsione Hilbertiana*: da un lavoro di Hilbert del 1917 si conclude che, sotto particolari condizioni, l'azione del campo gravitazionale diventa repulsiva. Nella prima delle note pubblicate sui Rendiconti gli autori sviluppano quell'idea applicandola alla metrica di Schwarzschild. In tal modo propongono un modello di cosmologia che generalizza in senso relativistico quello Newtoniano, ed è più generale di quello di Friedman. Grazie al nuovo modello si rende ragione dello spostamento verso il rosso delle righe spettrali delle galassie, già previsto dal modello di Friedman. Si ottiene però un risultato ben più rilevante, come sottolineato dagli autori. La repulsione Hilbertiana giustifica il fenomeno dell'accelerazione dell'espansione dell'universo senza ricorrere all'ipotesi che esista una forma di *energia oscura*; la necessità di quest'ultima ipotesi, solitamente invocata, viene rimossa. In due note successive si esamina il problema della velocità di rivoluzione delle stelle nelle galassie. Le anomalie osservate vengono comunemente attribuite all'esistenza di una *materia oscura* non identificata. Loinger e Marsico dimostrano con un modello di relatività generale che la rotazione galattica spiega gli effetti gravitazionali attribuiti alla Materia Oscura. Intuitivamente, per le equazioni di Einstein, la rotazione del centro supermassivo "trascina" lo spazio fisico, alterando i puri moti gravitazionali.

Un'altra nota, la seconda in ordine di tempo, viene dedicata al problema del collasso gravitazionale di una sfera di "polvere" di massa abbastanza grande, dell'ordine di alcune masse solari. Si tratta di una questione a lungo dibattuta, dovuta alla presenza nella metrica di Schwarzschild di

un valore critico del raggio a cui corrisponde un comportamento singolare delle soluzioni. Si può dire che fino ai tardi anni '50 l'opinione comune era che al di sotto di tale valore le soluzioni trovate perdessero significato. Verso gli anni '60 però David Finkelstein propose un'interpretazione diversa: introducendo un opportuno cambiamento di coordinate si riassorbe la singolarità della metrica in corrispondenza al valore critico del raggio, e lo si rende in qualche modo regolare. In seguito Martin David Kruskal e George Szekeres proposero un modello analogo, in cui il cambiamento singolare di coordinate introduce la possibilità che una particella di materia o la luce stessa possano superare il raggio critico in ingresso, ma non in uscita. Ciò suggerisce la possibile esistenza di quello che viene detto appunto "Buco Nero"; è l'interpretazione oggi comunemente accettata.

La tesi avanzata da Loinger e Marsico è che la Repulsione Hilbertiana giochi un ruolo fondamentale anche in questo caso, e che fornisca uno strumento efficace per dimostrare matematicamente che non si possono creare Buchi Neri di qualsivoglia natura. Il valore critico del raggio è caratterizzato dall'annullarsi sia della velocità che dell'accelerazione radiale, sicché non può essere superato in nessuna direzione. La fase finale del collasso è la formazione di un corpo di grande massa ma con estensione finita; la regione interna al raggio critico di Schwarzschild resta inaccessibile a qualunque descrizione fisica. In questa visione la metrica di Finkelstein, così come altre proposte in seguito, non è giustificabile dal punto di vista fisico. In effetti la rimozione della singolarità è possibile solo introducendo una metrica *non statica*, ovvero dipendente dal tempo, alla quale non è possibile assegnare una rilevanza fisica.

Un'ultima nota, la terza in ordine di tempo, è dedicata alle Onde Gravitazionali. Anche qui Loinger e Marsico assumono una posizione critica fondata principalmente su due osservazioni. La prima è che i moti di corpi soggetti solo a interazione gravitazionale reciproca avvengono lungo geodetiche; questo comporta che non possano generare onde gravitazionali. A questo si aggiunge l'osservazione che l'esistenza di fenomeni ondosi in gravitazione è modellata ispirandosi al fenomeno analogo che si verifica per i campi elettromagnetici generati da cariche. Tuttavia, osservano gli autori, una tale analogia non è accettabile. La seconda critica è che le onde appaiono in una formulazione matematica che fa uso di particolari sistemi di riferimento, considerati in qualche modo come descrittivi; lo stesso fenomeno però non risulta essere indipendente dal riferimento, in contraddizione col fatto che la Relatività Generale mette tutti gli osservatori sullo stesso piano.

Il carattere decisamente critico, a tratti apertamente polemico, dei lavori di Loinger dell'ultimo periodo viene mal tollerato dalla comunità scientifica, fino al rifiuto sistematico di pubblicare i suoi lavori. Dopo il 2003 i suoi interventi, brevi e sintetici ma numerosi, vengono pubblicati solo in formato digitale, nell'archivio elettronico *arXiv* (ospitato inizialmente dal Los Alamos National Laboratory e successivamente trasferito all'Università di Cornell) nelle sezioni `pr-qc` e `ph-gen`. Alcuni articoli degli ultimi anni sono disponibili sugli archivi di `Academia.edu` e di `Researchgate`. Uniche eccezioni sono le cinque note pubblicate sui Rendiconti dell'Istituto Lombardo Accademia di Scienze e Lettere di cui si è già detto.

2. Considerazioni finali

A conclusione di questa commemorazione, vorrei ricordare brevemente almeno uno degli sviluppi originati dall'attività scientifica di Angelo Loinger, quello a me più caro perché vi sono stato coinvolto personalmente fin dal tempo della mia tesi di laurea. Si tratta dei lavori discussi nel paragrafo 1.3. Dopo la pubblicazione del lavoro BSBL, Loinger tenne un seminario in cui metteva in discussione le motivazioni che venivano abitualmente portate a fondamento della Meccanica Quantistica. In particolare si riferiva alla radiazione del corpo nero, al calore specifico dei solidi e alla caduta degli elettroni sul nucleo atomico: i tre punti su cui si riteneva abitualmente che la Fisica Classica fallisse, e che avevano trovato spiegazione in ambito quantistico. La tesi da lui sostenuta era che il fallimento fosse piuttosto da imputarsi al fatto che le previsioni delle Fisica Classica non erano note, e venivano sostituite da *ipotesi* non giustificate dal punto di vista dinamico. Col senno di poi, possiamo dire che mancava una comprensione approfondita dei fenomeni descritti da sistemi di equazioni *non lineari;* alla mancanza di informazione si sopperiva introducendo in Meccanica Statistica il concetto di equipartizione, che conduce a conclusioni in contrasto con la conservazione dell'energia, e in Elettrodinamica Classica introducendo semplificazioni che privilegiano l'irraggiamento di energia da parte di un elettrone, sostanzialmente ignorando l'azione del campo elettromagnetico sull'elettrone stesso.

Il seminario di Loinger venne accolto con un certo scetticismo, ma non cadde nel vuoto. Io non ero presente – allora ero studente al terzo anno – ma ne venni a conoscenza l'anno successivo grazie a un seminario informale tenuto da Luigi Galgani agli studenti di un corso. Ero tra quegli

studenti, e rimasi affascinato; al momento di scegliere una tesi di Laurea mi rivolsi a Loinger. Devo aggiungere che quella scelta fu motivata anche dai due corsi di Relatività e di Fisica Teorica, da lui tenuti, che avevo frequentato e avevo trovato molto interessanti; ero anche rimasto piacevolmente sorpreso dal suo stile non comune di insegnamento. Spesso ho cercato di imitarlo, nelle mie lezioni.

L'interesse per i problemi sollevati da Loinger ha lasciato una traccia profonda nell'ambiente milanese. Negli anni successivi a Milano si formarono due gruppi di ricerca. Il primo, iniziato da Luigi Galgani in collaborazione con Antonio Scotti e Carlo Cercignani, si orientò verso la cosiddetta *teoria KAM* (da Kolmogorov, Arnold e Moser). Del secondo gruppo, formatosi successivamente, facevano parte inizialmente Giulio Casati, Italo Guarneri e Fausto Valz Gris; le loro ricerche si indirizzarono più decisamente verso lo studio del caos.

Vorrei soffermarmi brevemente sull'attività del primo gruppo. Io entrai a farne parte grazie al suggerimento di Loinger di occuparmi di argomenti attinenti al problema FPU; questo mi condusse in modo naturale a svolgere il mio lavoro di tesi con Luigi Galgani. Nel frattempo a quel primo gruppo si associarono anche Giancarlo Benettin e Jean Marie Strelcyn. Fu l'inizio di una collaborazione stretta, particolarmente intensa per quasi vent'anni, e mai completamente interrotta. Sotto la guida di Galgani, Cercignani e Scotti si orientarono le ricerche verso lo studio dei risultati più recenti nella teoria dei Sistemi Dinamici: il teorema di Kolmogorov, alla base della teoria KAM; la dinamica caotica messa in evidenza da Contopoulos e da Hénon e Heiles; i metodi di Contopoulos per la ricerca di integrali primi; la teoria della stabilità esponenziale di Nekhoroshev. Di fatto, la teoria dei Sistemi Dinamici fu introdotta in Italia grazie all'opera di diffusione esercitata soprattutto da Luigi Galgani.

Non è questa la sede in cui può trovar posto la ricostruzione delle ricerche sviluppate per cinquant'anni. Ma si deve almeno ricordare che il problema sollevato da Fermi, Pasta e Ulam e ripreso da Loinger in collaborazione con Bocchieri, Scotti e Bearzi è stato ampiamente studiato, e ha prodotto un'ampia messe di risultati coinvolgendo un lungo elenco di ricercatori. In breve, l'assenza di ergodicità può interpretarsi come conseguenza dell'esistenza di *stati metastabili*, che permangono per tempi finiti ma molto lunghi rispetto ai tempi tipici di evoluzione di un sistema. Risultati rigorosi in questo senso sono stati dimostrati, ad esempio, per la dinamica dei pianeti maggiori o di alcuni asteroidi su tempi dell'ordine dell'età del Sistema Solare. Per modelli di tipo FPU la difficoltà principale

consiste nel dimostrare risultati validi al limite di un numero molto grande di particelle, ovvero su tempi *uniformi rispetto alla lunghezza della catena*. Risultati significativi di questo tipo si sono ottenuti negli ultimi anni. Restano questioni ancora aperte, ma si può ben dire, come affermazione minima, che l'intuizione di Loinger, che l'ipotesi dell'equipartizione in Meccanica Statistica Classica non sia pienamente giustificabile su basi dinamiche, si è dimostrata molto feconda. Quanto ai fondamenti della Meccanica Quantistica, si può ben dire che uno dei punti programmatici sollevati da Einstein, ossia che la Meccanica Quantistica, che è la teoria corretta, possa essere in qualche modo recuperata nell'ambito di una teoria più ampia che include concetti classici non sembra del tutto ingiustificato, pur restando un problema aperto. Quest'ultima linea di ricerca è ancora attiva, e attualmente viene sviluppata in particolare da Luigi Galgani e Andrea Carati.

Credo giusto affermare che gli sviluppi qui accennati rappresentino una parte consistente dell'eredità lasciata dal Professor Angelo Loinger nell'ambiente di Milano.

Ringraziamenti. Mi corre l'obbligo di ringraziare Luigi Galgani, Tiziana Marsico e Antonio Scotti (in ordine rigorosamente alfabetico) per i loro preziosi consigli.

INDICE DEL VOLUME

BRUNI S., L'analisi chimica incontra l'arte e l'archeologia: una storia lunga due secoli 3

LARIZZA L., Rilevanza del sesso nella malattia da Covid-19: quando un cromosoma in più fa la differenza! 23

PIFFERI A., Uno sguardo all'interno del corpo umano: la spettroscopia ottica tempo risolta per la diagnostica clinica non-invasiva 49

FONTANA P., Le api di Virgilio, sommo poeta ed etologo *ante litteram* 67

SACCONE G., DNA, sesso delle mosche e gene editing: proteggere la frutta senza pesticidi 97

TANNER B.K., Robert Grosseteste: a medieval thinker with a legacy for modern science 109

REMUZZI G., Medicina del trapianto: da dove siamo partiti e dove vorremmo (forse) arrivare 135

CEOTTO M., Qual è la più piccola goccia d'acqua? 137

MORONI A., Vidēre est credere: la struttura ad alta risoluzione del canale del pacemaker HCN4 161

GIORGILLI A., GUICCIARDINI N., La legge gravitazionale dell'inverso del quadrato nei *Principia* di Newton 169

ROSSI S., VAGO G., Il Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica: innovazioni tecnico-scientifiche e nuove prospettive della BNCT per la lotta ai tumori 197

BOSSI A., Illuminazione: evoluzione tecnologica sostenibile tra passato, presente e futuro 219

PALLAVICINI M., Guardare il mondo con i neutrini: il Sole, la Terra e l'Universo 235

Commemorazioni

QUADRELLI P.
Paolo Grünanger – La vita 255

GIORGILLI A.
Ricordando Angelo Loinger 269

INDICE PER MATERIA

Chimica

Bruni S., L'analisi chimica incontra l'arte e l'archeologia: una storia lunga due secoli 3

Ceotto M., Qual è la più piccola goccia d'acqua? 137

Bossi A., Illuminazione: evoluzione tecnologica sostenibile tra passato, presente e futuro 219

Fisica

Pifferi A., Uno sguardo all'interno del corpo umano: la spettroscopia ottica tempo risolta per la diagnostica clinica non-invasiva 49

Tanner B.K., Robert Grosseteste: a medieval thinker with a legacy for modern science 109

Giorgilli A., Guicciardini N., La legge gravitazionale dell'inverso del quadrato nei *Principia* di Newton 169

Pallavicini M., Guardare il mondo con i neutrini: il Sole, la Terra e l'Universo 235

Genetica

Saccone G., DNA, sesso delle mosche e gene editing: proteggere la frutta senza pesticidi 97

Medicina

Larizza L., Rilevanza del sesso nella malattia da Covid-19: quando un cromosoma in più fa la differenza! 23

Remuzzi G., Medicina del trapianto: da dove siamo partiti e dove vorremmo (forse) arrivare 135

Rossi S., Vago G., Il Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica: innovazioni tecnico-scientifiche e nuove prospettive della BNCT per la lotta ai tumori 197

Scienze naturali

FONTANA P., Le api di Virgilio, sommo poeta ed etologo *ante litteram* 67

MORONI A., Vidēre est credere: la struttura ad alta risoluzione del canale del pacemaker HCN4 161

Commemorazioni

QUADRELLI P.
Paolo Grünanger – La vita 255

GIORGILLI A.
Ricordando Angelo Loinger 269

Finito di stampare nel mese di giugno 2022

Decreto Pres. Tribunale 10 gennaio 1961, n. 5504 registro cancelleria
Direttore responsabile: Rita Pezzola