

MIKROBIOTA-DARM-HIRN-ACHSE: DIE ROLLE DES DARMMIKROBIOMS IN DER AUSPRÄGUNG DES SCHWANZBEIßENS BEIM SCHWEIN

Anna A. Schönherz, Researcher

Gut and Host Health, Animal and Veterinary Sciences, Aarhus University

FRESSEN WIE EIN SCHWEIN

In der Natur:

- Allesfresser, Anpassung an Umgebungs- und jahreszeitlich bedingtes Angebot
- Reichhaltige und abwechslungsreiche Ernährung :
 - Überwiegend Pflanzenmaterial: Wurzeln, Triebe, Gräser, Knollen, Obst, Pilze, Rinde
 - ~ 10 % tierischen Ursprungs: bodenlebende wirbellose Tiere, kleine Wirbeltiere, Aas
 - Energiereiche Bestandteile (stärke- und zuckerreich): Bucheckern, Eicheln, Getreide (bevorzugt)
- Zeitintensive Nahrungssuche und Futteraufnahme:
 - 10-15 Stunden täglich (40-60% der Tagesaktivität)
 - Häufige und kleine Mahlzeiten



FRESSEN WIE EIN SCHWEIN



In der Natur:

- Ausgeprägtes Gruppenverhalten:
 - Genau definierte Gruppenhierarchie
 - Synchronisiertes Fressverhalten
 - Ausgeprägte Erkundungsmotivation (Wühlen, Scharren)

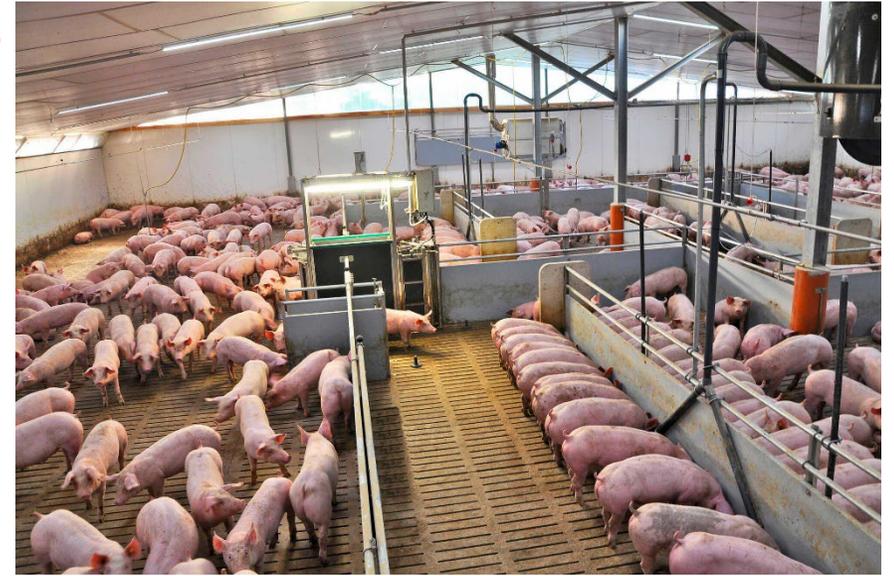
Bei unzureichender Nahrungsgrundlage erhöht sich die Suchaktivität nach Futter

Konkurrenz um knappe Ressourcen kann zu erhöhtem Dominanzverhalten führen

FRESSEN WIE EIN SCHWEIN?

In der Nutztierhaltung:

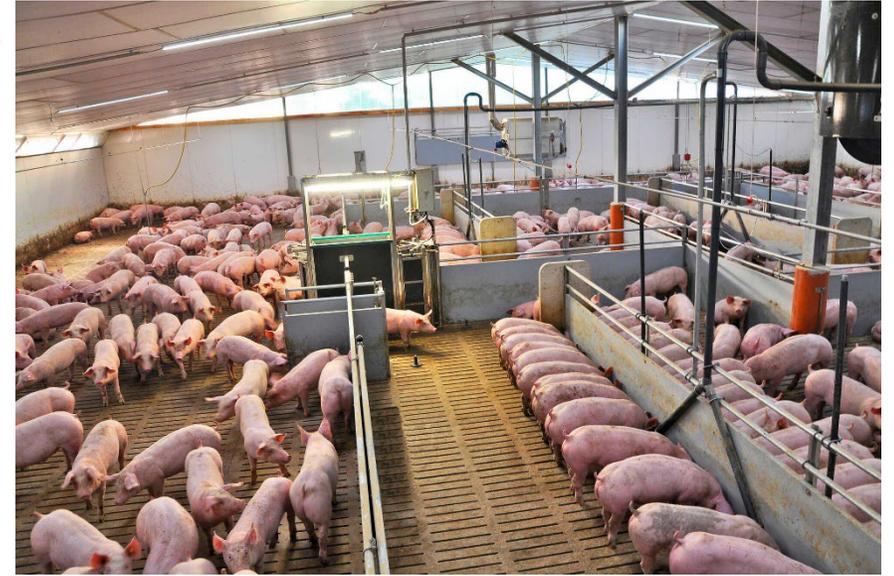
- Anpassung an hohe Produktionseffizienz
(**energiereich aber ballaststoffarm**)
- Reichhaltig aber **eintönige** Ernährung:
 - Überwiegend Getreide (Gerste, Weizen, Mais)
 - Hülsenfrüchte (Sojabohnenschrot, Rapsschrot)
 - Vitamine und Mineralstoffe
 - Verarbeitete Futtermischungen → **Mangel an Struktur, geringe Partikelgröße**
 - Verschiedene Futtermischungen, Nutzungsgruppen angepasst (**keine vielfältige Ernährung → ähnelt dem Fast-Food-Verzehr beim Menschen**)
- **Stark reduzierte Nahrungssuche:**
 - ca. 15% der Tagesaktivität
 - Wenige, große Mahlzeiten



FRESSEN WIE EIN SCHWEIN?

In der Nutztierhaltung:

- Störung des Gruppen- und Fressverhaltens:
 - Kein Suchen, Sammeln, Extrahieren oder Kauen
 - Möglichkeit der Umgebungserkundung eingeschränkt
 - Eingeschränktes Tier-Fressplatz-Verhältnis
 - Weniger und längere Fressströge
 - Gleichzeitiges Fressen nicht möglich
 - Rangniedrige Schweine zögern möglicherweise zu fressen, wenn die Andere ruhen



Domestizierte Schweine haben die gleichen Bedürfnisse (Nahrungssuche und Umgebungserkundung) wie Wildschweine

Störung natürlicher Bedürfnisse kann zu Stress, eingeschränktem Wohlbefinden und Verhaltensstörungen führen

SCHWANZBEIßEN - “EINE FRAGE DER HALTUNG”

- Multifaktoriell hervorgerufene Verhaltensstörung
- Überforderung der Tiere durch verschiedene Stressfaktoren
- Fehlleitung natürlicher Verhaltensmuster (z.B. Saugen, Erkundungs- sowie Nahrungssuch- und Sexualverhalten)
- Orale Manipulation der Schwänze von Buchtengenossen die zu Verletzungen führen kann
- Beeinträchtigt Wohlbefinden und Gesundheit der Tiere (erhöhtes Infektionsrisiko, Schmerzen und Stress)
- Hauptursachen: nicht tiergerechte Haltungsbedingungen, leistungsorientierte Zucht und mangelhafte Tiergesundheit



SCHWANZBEIßEN - VERHALTENSFORMEN

➤ **Zweistufiges Schwanzbeißen**

- Mangel an Beschäftigung
- Leichte orale Manipulation → Beschädigung der Haut mit Blutungen
- Blutgeruch/-geschmack kann zur Verstärkung des Beißreizes führen
- Animiert andere Buchtengenossen

➤ **Plötzliches und gewaltsames Schwanzbeißen (faktorenbasiertes Beißen)**

- Spontanes Beißen, bei dem es direkt zu Verletzungen kommt
- Frustrationsgesteuert → z.B. Ressourcenmangel (Tier-Fressplatz-Verhältnis, Anzahl funktionierender Tränken, ausreichend Liegefläche)

➤ **Obsessives Schwanzbeißen**

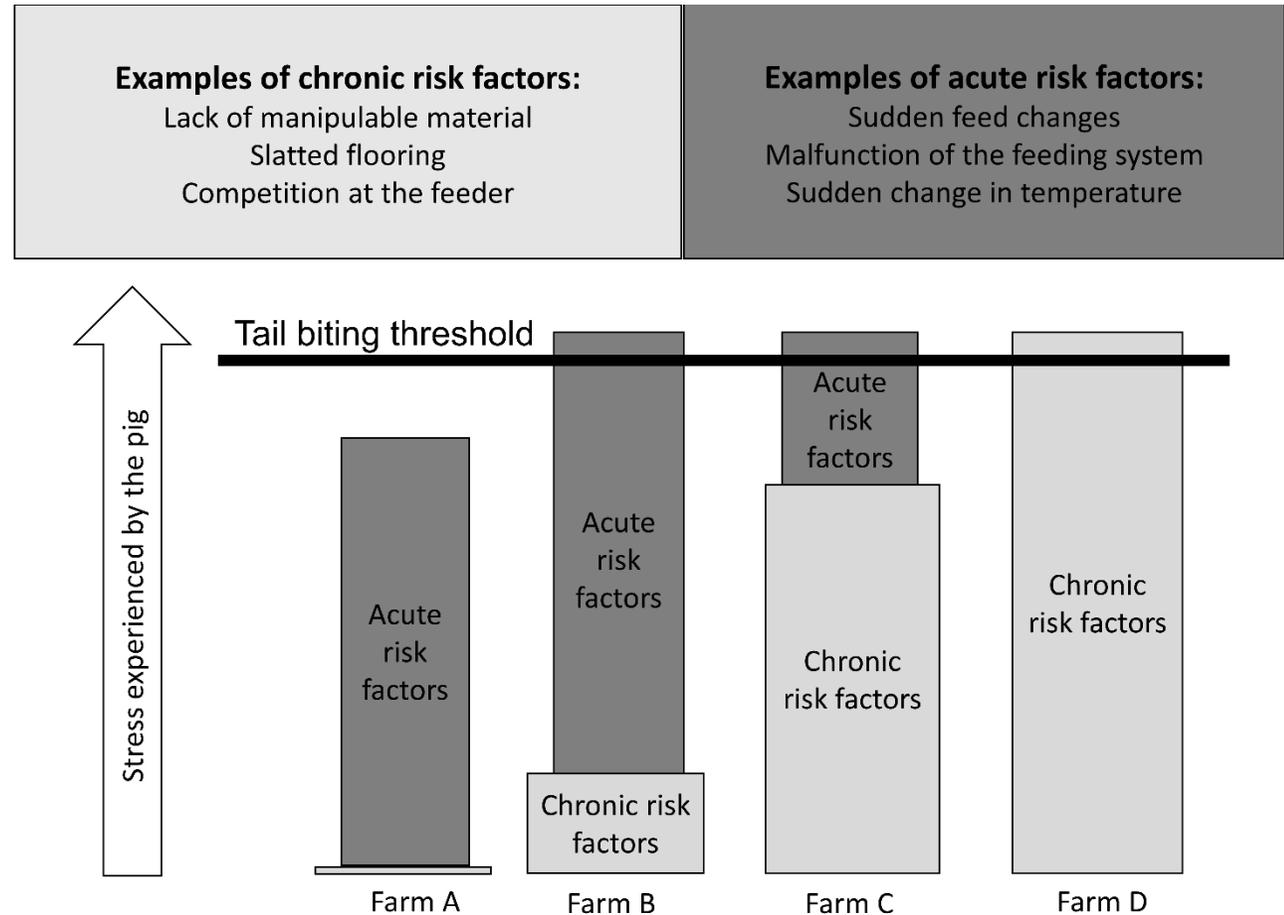
- Durch Erkrankungen kommt es zu Fehlverhalten → Darmerkrankung → Unwohlsein

SCHLÜSSELFAKTOREN (EU KOMMISSION, 2016)

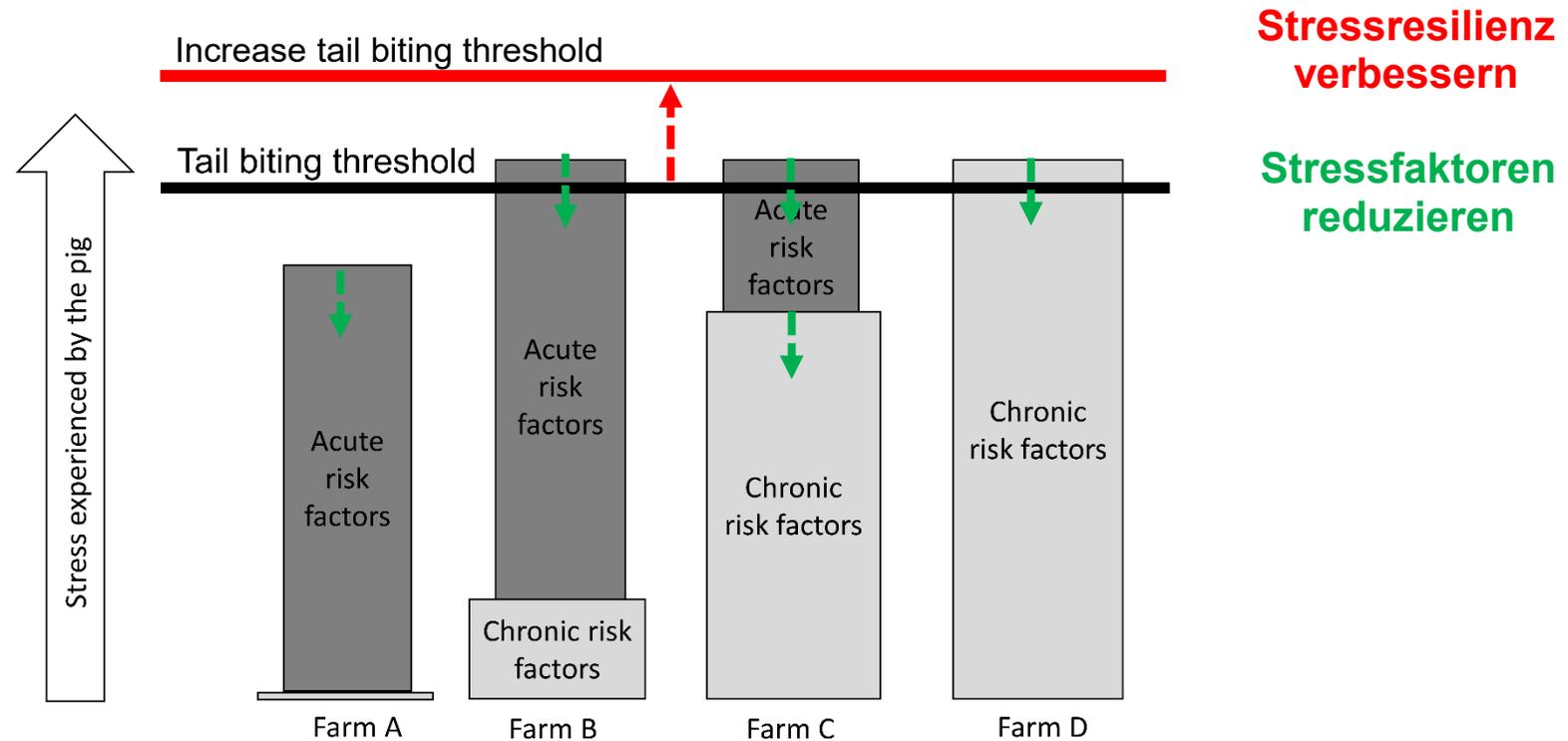
- Beschäftigungsmaterial
- Stallklima (angemessene Temperatur, Luftqualität, und Licht)
- Gesundheitszustand
- Konkurrenzverhalten durch Ressourcenknappheit (Kampf um Ressourcen, mangelnder Ressourcenzugang)
- Fütterung und Futtermittel
- Haltung (Buchtenstruktur, Stallhygiene)

SCHWANZBEIßEN - EIN ZEICHEN VON STRESS

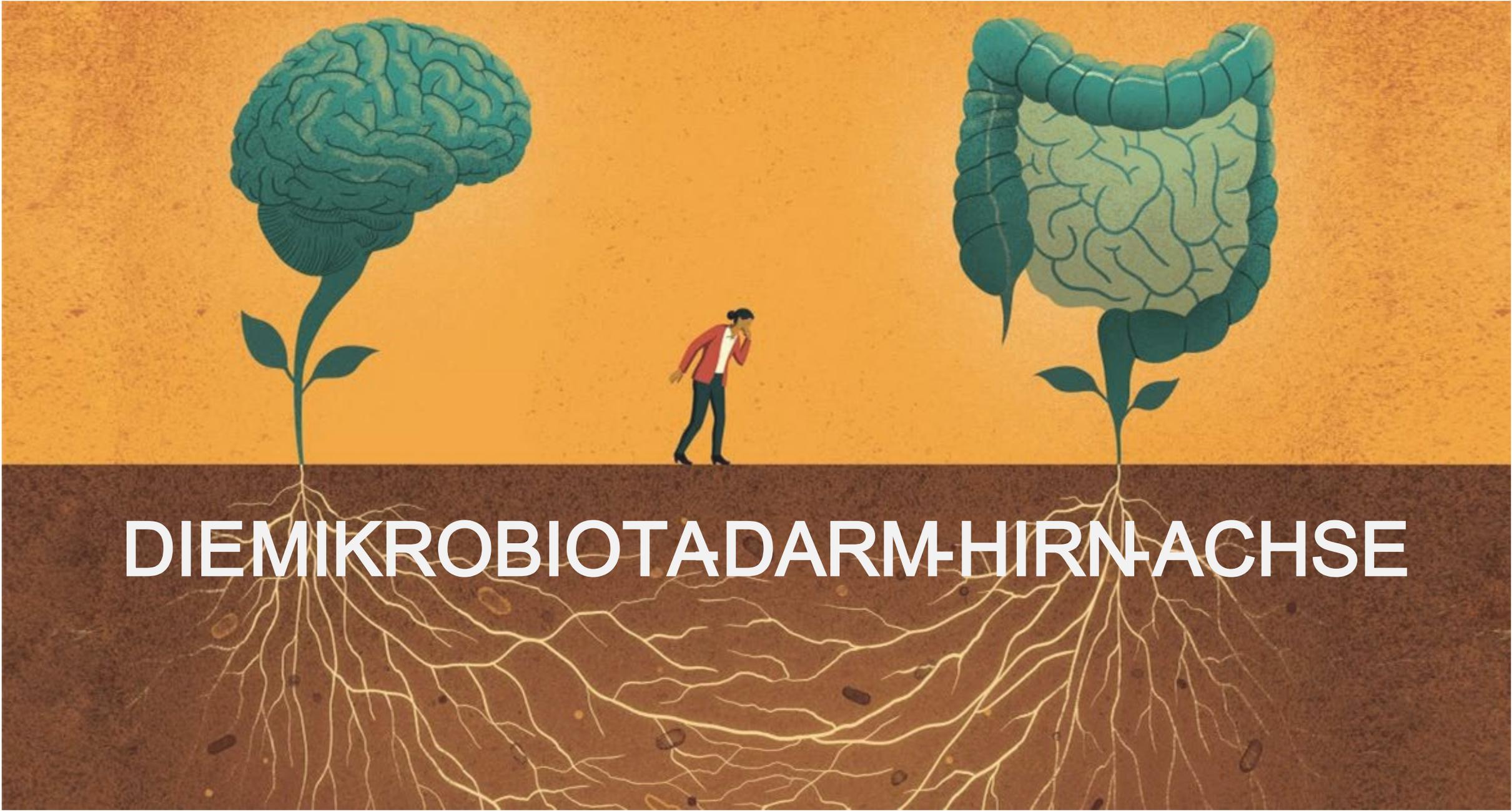
- Keinen eindeutigen Auslöser
- Überforderung der Tiere durch verschiedene Stressfaktoren
- SB als stressabbauendes Ventil
- Tierindividuelle Stressbelastbarkeitsschwelle
- Stressfaktoren können sich gegenseitig verstärken



SCHWANZBEIßEN - STRESSRESILIENZ

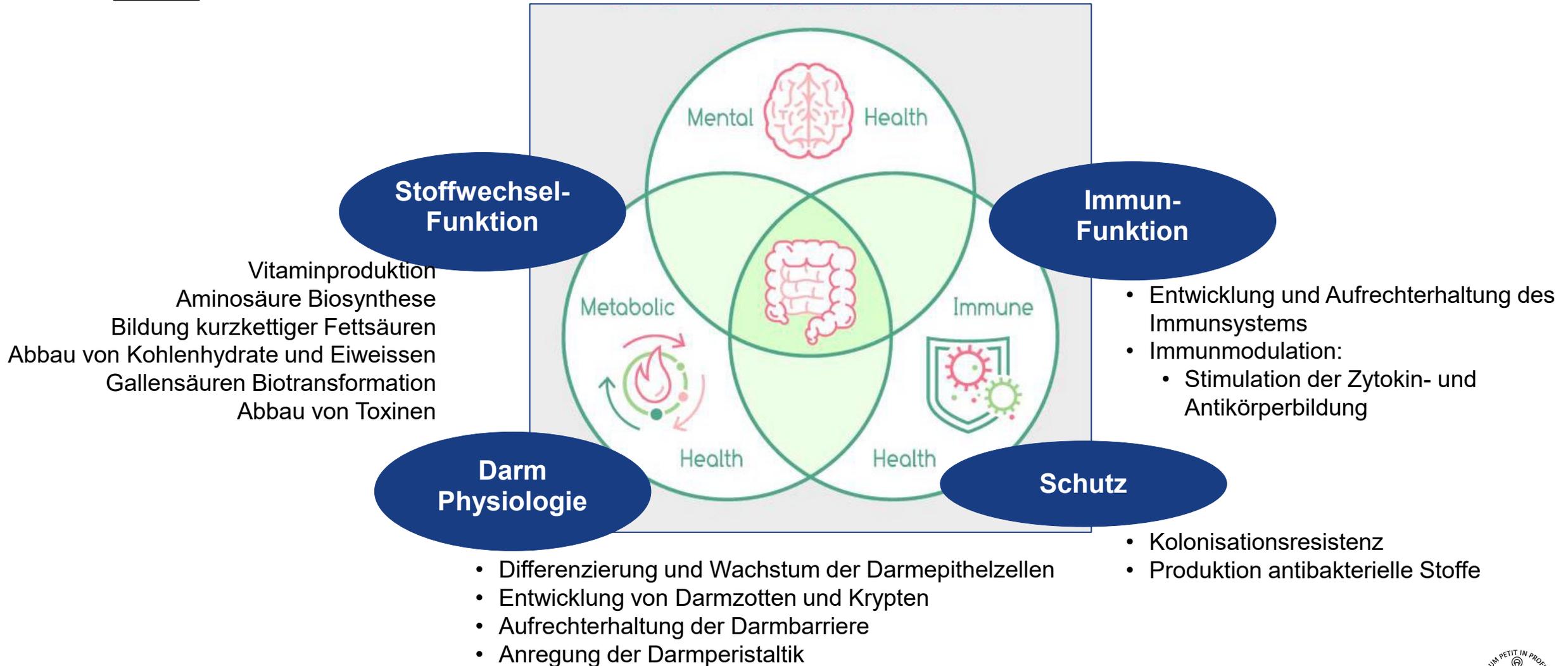


Können wir Stressresilienz durch gezielte Veränderung der Darmmikrobiota verbessern?



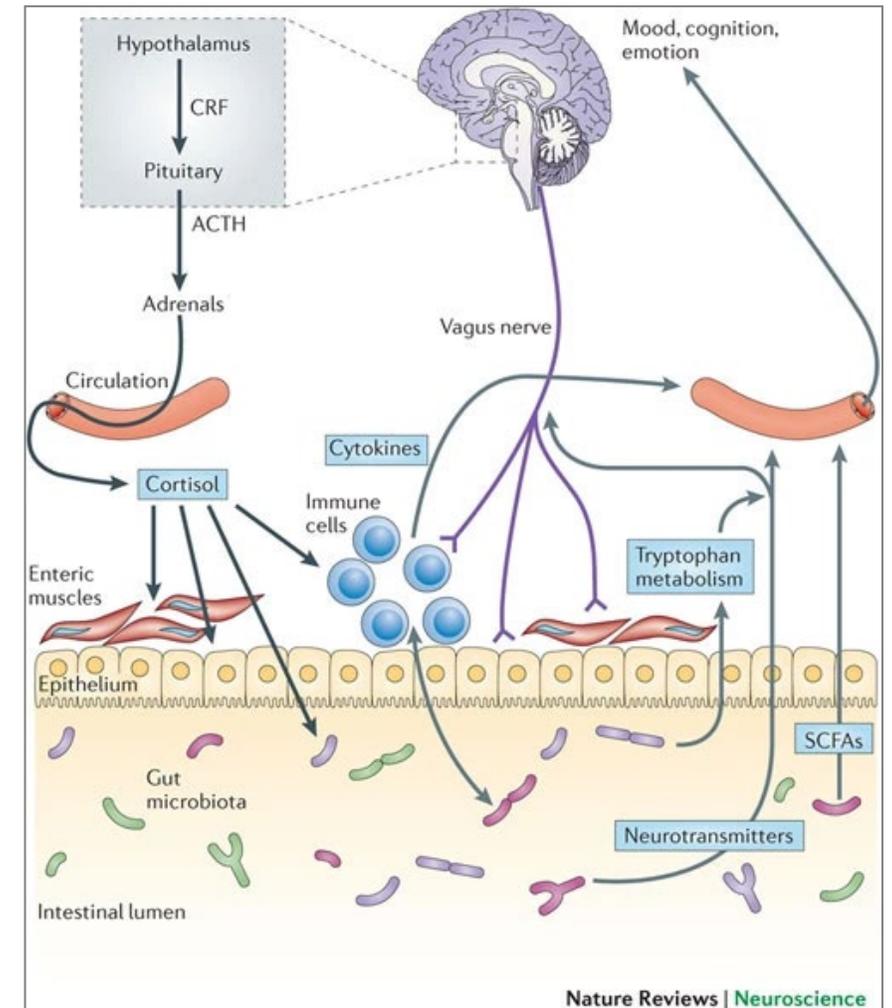
DIEMIKROBIOTADARM-HIRN-ACHSE

FUNKTION DER DARMMIKROBIOTA



MIKROBIOTA-DARM-HIRN ACHSE

- Komplexes bidirektionales Kommunikationssystem zwischen Darmmikrobiota und Gehirn
- Übergeordnete Kommunikationswege:
 - **Nervensystem:** Zentrales- und Vegetatives Nervensystem (Enterisches Nervensystem, Sym- und Parasympatikus)
 - **Neuroendokrines System** (Neurotransmitter, Stresshormone)
 - **Immunsystem** (Zytokine)
 - Darmmikrobiota (SCFA)
- Kommunikation verläuft parallel und Signalwege sind miteinander verbunden



Cryan & Dinan, 2012, <https://doi.org/10.1038/nrn3346>

NEUROENDOKRINES SYSTEM

➤ Stresshormone:

- Corticotropin-releasing Hormon (CRH)
- Adrenocorticotropes Hormon und (ACTH)
- Cortisol

Steigert Darmmotilität, -sekretion und -sensivität

➤ Katecholamine:

- Adrenalin
- Noradrenalin
- Dopamin

- Verändert Darmmikrobiota
- Erhöhte Durchlässigkeit der Darmschleimhaut
- Vermehrte Translokation von schädlichen Stoffen in Blutkreislauf (z.B. LPS)

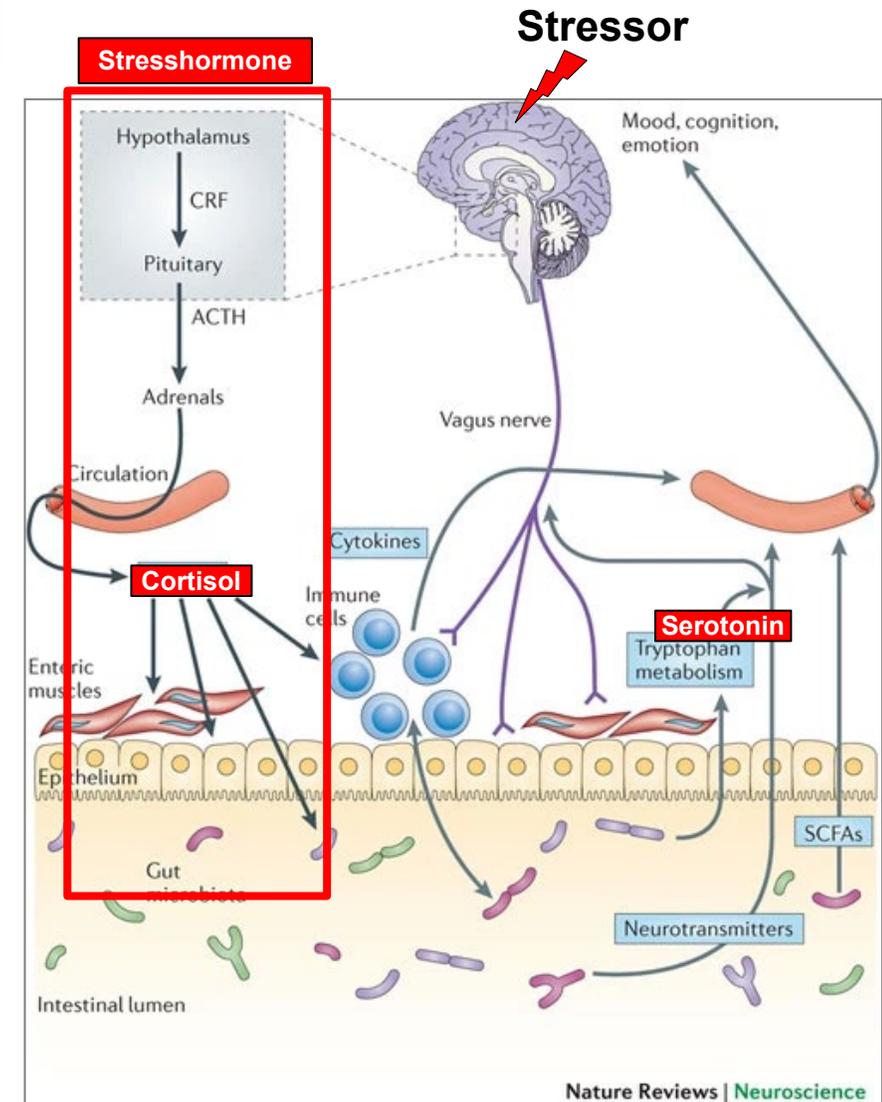
- Fördern Wachstum enteropathogener Keime
- Verstärken Bildung von pathogenen Virulenzfaktoren
- Erhöhen Bakterienmigration zur Darmschleimhaut

➤ Serotonin

- Beeinflusst Angstverhalten
- Reguliert Schlaf
- Reguliert Appetit

➤ Gamma-aminobutyric acid (GABA)

➤ Darmbakterien erkennen und reagieren auf Neurotransmitter des Wirtes

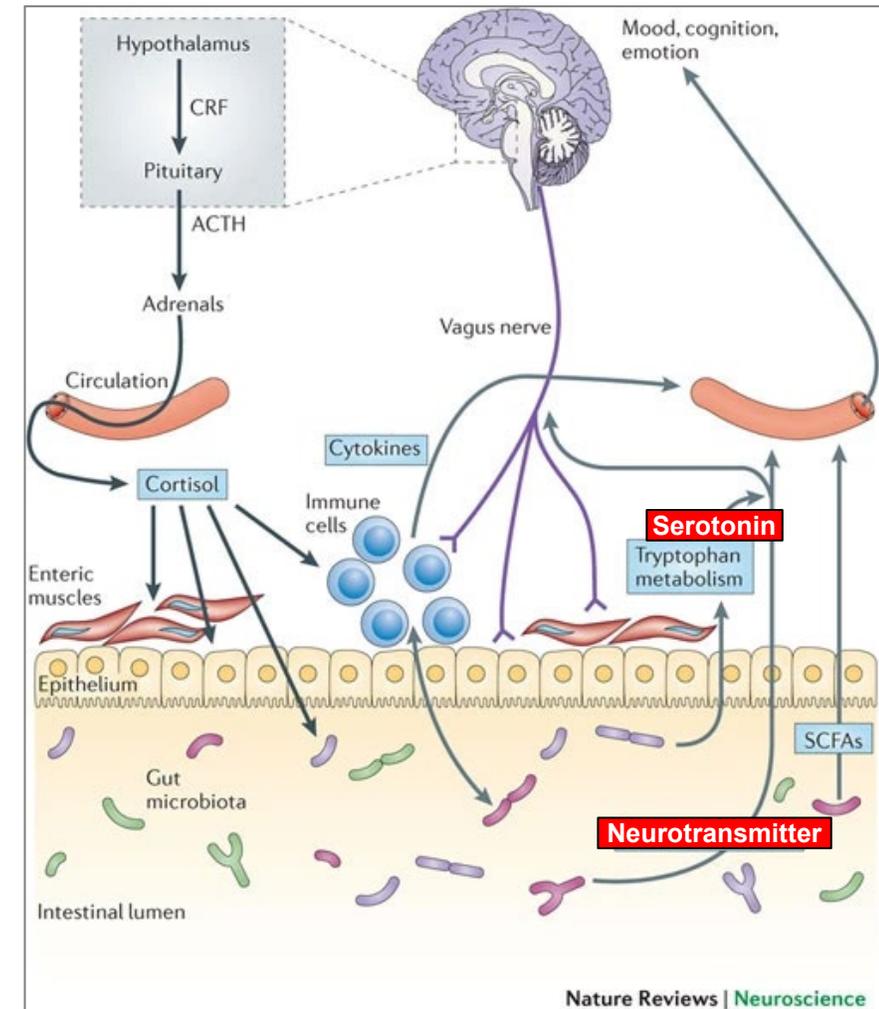


Cryan & Dinan, 2012, <https://doi.org/10.1038/nrn3346>

NEUROENDOKRINES SYSTEM

- Darmmikrobiota synthetisieren strukturell identische Neurotransmitter
- Der Wirt erkennt und reagiert auf bakteriellsynthetisierte Neurotransmitter
- Regulation von Stimmung (z.B. Furcht, Angst), Verhalten und Kognition

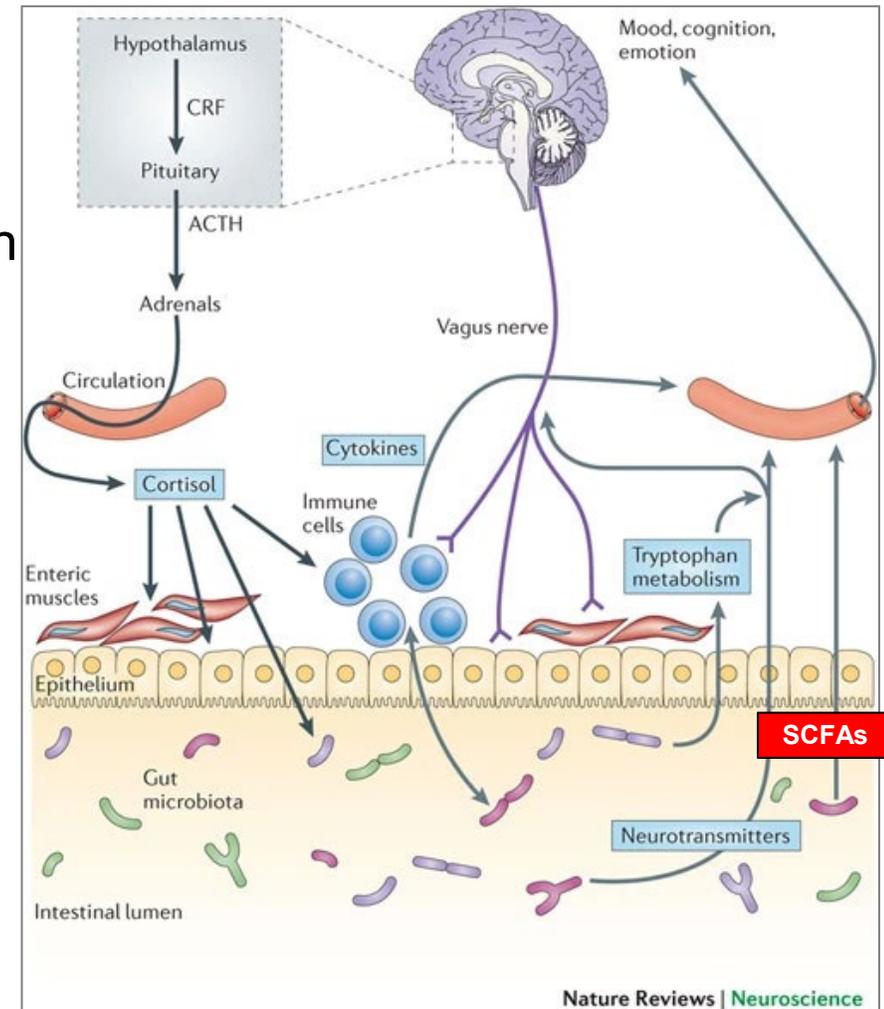
Neurotransmitter	Produzierende Bakterien
GABA	Bifidobacterium, Lactobacillus
Serotonin	Enterococcus, Escherichia, Lactobacillus, Spectrococcus
Dopamin	Bacillus, Escherichia, Lactobacillus, Lactococcus, Spectrococcus
Noradrenalin	Bacillus, Escherichia
Acetylcholin	Bacillus, Lactobacillus



Cryan & Dinan, 2012, <https://doi.org/10.1038/nrn3346>

KURZKETTIGE FETTSÄUREN (SCFA)

- Stoffwechselprodukte anaerober Fermentierung schwerverdaulicher Kohlenhydraten durch Darmbakterien im Dickdarm (z.B.: Acetat, Propionat, Butyrat)
- Funktion:
 - Substrat für Kolonozyten und Hepatozyten
 - Darmbarrierenintegrität (Tight Junction, Mucus Produktion)
 - Antiinflammatorisch
 - Neuropeptideproduktion durch EEC (PYY, GLP1)
- Direkter Einfluss auf Gehirn (insb. Butyrat)
 - Reifung von Mikroglia Zellen
 - Blut-Hirn-Schranken Integrität (Tight Junction)



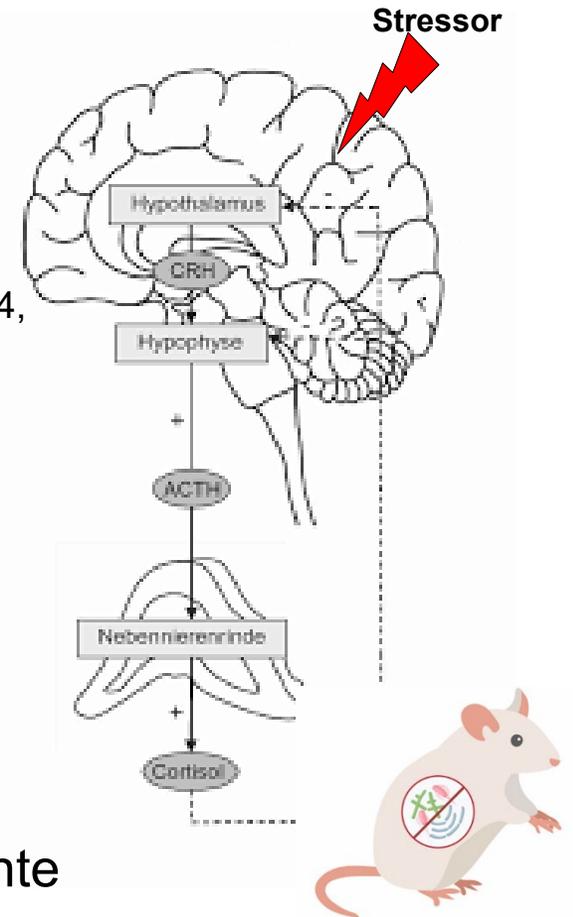
Cryan & Dinan, 2012, <https://doi.org/10.1038/nrn3346>

An illustration on a textured orange background. A person in a red jacket and dark pants is walking between two large, stylized plants. The plant on the left has a brain as its head, and the plant on the right has a large, coiled intestine as its head. Both plants have roots extending into a dark brown soil layer. The text 'MIKROBIOTA-DARM-HIRN ACHSE UND SCHWANZBEIßEN' is written in white, bold, sans-serif font across the soil layer.

**MIKROBIOTA-DARM-HIRN ACHSE UND
SCHWANZBEIßEN**

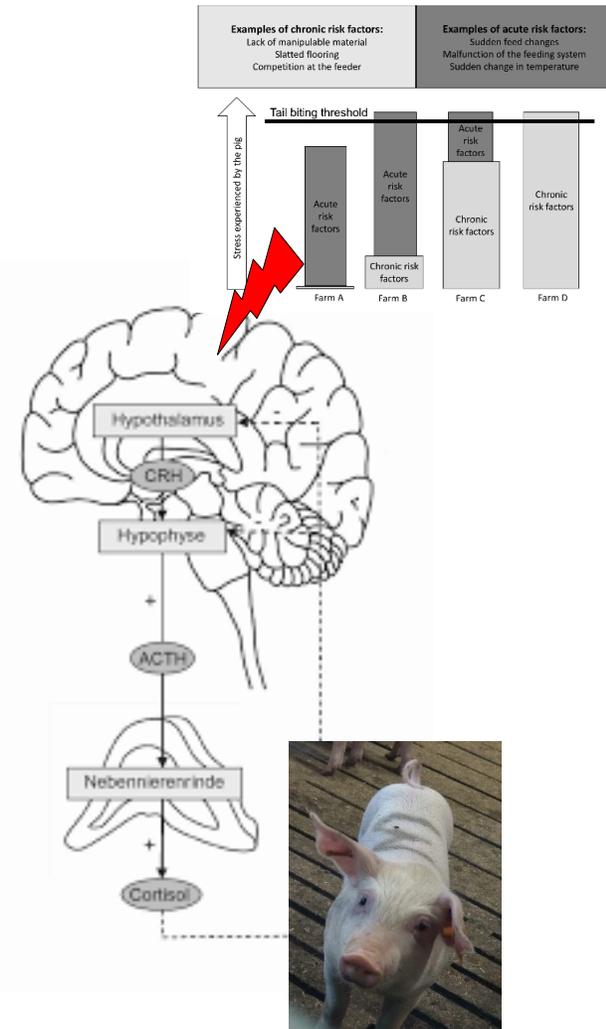
STRESS – DARMMIKROBIOT – VERHALTEN

- Stress (bes. in der frühen Entwicklung) verändert Darmmikrobiota
- Änderungen der Darmmikrobiota verändern Stressreaktion
 - Keimfreie Mäuse und Ratten zeigen erhöhte Stressreaktion (Sudo et al., 2004, Clark et al. 2013, Crumeyrolle-Arias et al., 2014)
 - Normalisierung durch Besiedlung mit Bifidobakterin (Sudo et al.2004), oder Milchsäurebakterien (Ait-Belgnaoui et al. 2012)
- Keimfreie Mäuse und Ratten zeigen Stimmungs- und Verhaltensänderungen
 - Mäuse: reduziertes Angstverhalten (Burokas et al, 2017, O'Mahony et al., 2015)
 - Ratten: erhöhtes Angstverhalten (Crumeyrolle-Arias et al., 2014)
- Unterschwellige Darmentzündung in Mäusen → Zytokinreaktion, erhöhte Kynurenin Produktion → verstärktes Angstverhalten (Bercik et al. 2010)



STRESS (SB) – DARMMIKROBIAT – VERHALTEN

- Chronischer Stress → Dysbiose → erhöhte Darmdurchlässigkeit → Zytokinausschüttung → „Sickness behaviour“
 - SB Risikofaktoren (z.B. Krankheitserreger, mangelnde Hygiene, Mykotoxine) → „Sickness behaviour“ (Nordgreen et al. 2020)
 - „Sickness behaviour“: Depression, Angst, Müdigkeit, Appetitlosigkeit, gering soziale Motivation, erhöhte Reizbarkeit (Hart, 1988, Dantzer, 2009)
- Beißer und Opfer sind stressempfindlicher (Munsterhjelm et al., 2013)
- Beißer und Opfer sind ängstlicher als neutrale Schweine (Ursinus et al., 2014)
- Verhalten in Buchten mit Schwanzverletzungen:
 - Gesteigerte Aktivität (Ursinus et al., 2014)
 - Erhöhtes Erkundungsverhalten (Wegner et al., 2020)
- **Beißer und Opfer weisen Veränderungen der Darmmikrobiota auf** (Rabhi et al., 2020, Verbeek et al., 2021)



MIKROBIOTA-DARM-HIRN ACHE IN SB

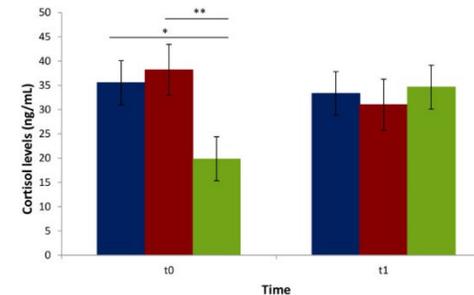


Association Between Tail-Biting and Intestinal Microbiota Composition in Pigs

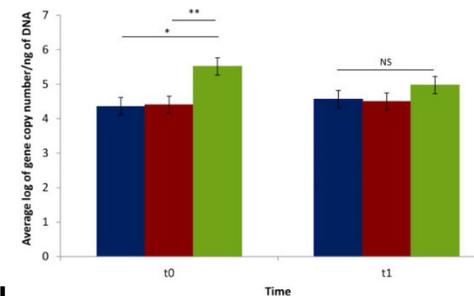
Nassima Rabhi^{1,2}, Alexandre Thibodeau^{1,2}, Jean-Charles Côté^{1,2}, Nicolas Devillers³, Benoit Laplante⁴, Philippe Fravallo^{1,2}, Guillaume Larivière-Gauthier^{1,2}, William P. Thériault^{1,2}, Luigi Faucitano³, Guy Beauchamp^{1,2} and Sylvain Quessy^{1,2*}

- Beißer und Opfer erhöhte Stressreaktion
- Darmmikrobiota Zusammensetzung verschieden zwischen Beißer vs. Neutral und Opfer vs. Neutral
- Höheres Vorkommen an Milchsäurebakterien in der Kontrollgruppe

Cortisol

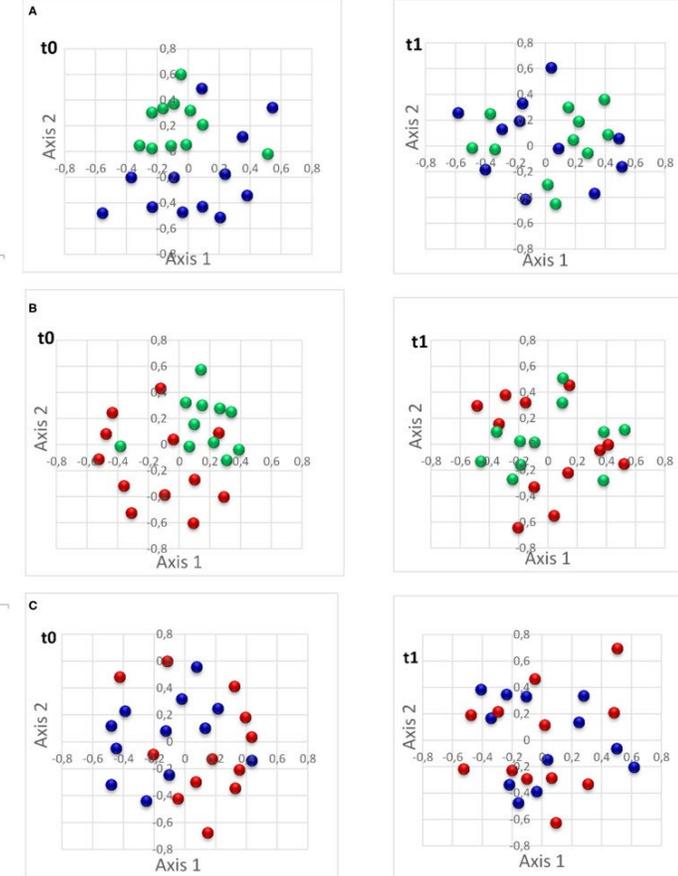


Lactobacillus



Blau: Beißer
Rot: Opfer
Grün: Neutral

Beta-Diversität



MIKROBIOTA-DARM-HIRN ACHES IN SB

www.nature.com/scientificreports

scientific reports

Check for updates

OPEN The gut microbiota and microbial metabolites are associated with tail biting in pigs

Else Verbeek^{1✉}, Linda Keeling¹, Rikard Landberg², Jan Erik Lindberg³ & Johan Dicksved³

Tail biting is an abnormal behaviour that causes stress, injury and pain. Given the critical role of the gut-microbiota in the development of behavioural problems in humans and animals, the aim of this study was to determine whether pigs that are biters, victims of tail biting or controls (nine matched sets of pigs) have a different microbiota composition, diversity and microbial metabolite

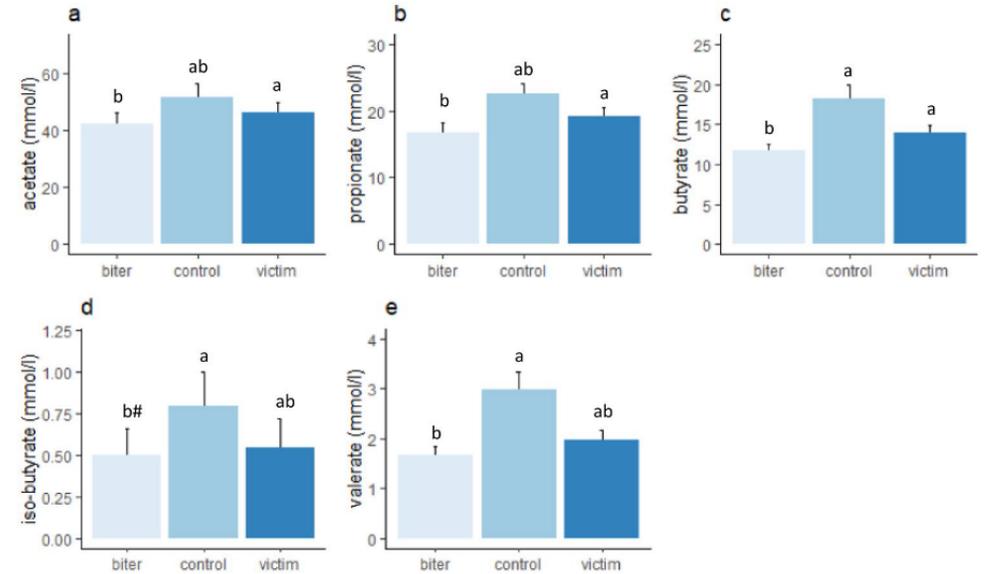


Figure 6. Faecal SCFA (mean \pm sem) in the biters, victims and control pigs, with (a) acetate, (b) propionate, (c) butyrate, (d) iso-butyrate, (e) valerate. Lower case letters indicate significant differences between category of pig, #a tendency for a difference ($p < 0.1$).

- Zusammenhang zwischen Darmmikrobiota und Schwanzbeißen
- Höheres Vorkommen an Firmicutes in Beißern
- Unterschiede in SCFA Profilen zwischen Beißern und Opfern
- Niedrigste SCFA Konzentrationen in Beißern

MIKROBIOTA-DARM-HIRN ACHESES IN SB

www.nature.com/scientificreports

scientific reports

OPEN

Supplementation of *Lactobacillus* early in life alters attention bias to threat in piglets

Else Verbeek^{1✉}, Johan Dicksved² & Linda Keeling¹

Gut microbes play an important role in regulating brain processes and influence behaviour, cognition and emotional states in humans and rodents. Nevertheless, it is not known how ingestion of beneficial microbes modulates emotional states in piglets and whether it can improve welfare. Here we use an

- Erhöhte Wachsamkeit und Bewegung in Kontrollgruppe in Folge auditiver Bedrohung
- Keine Veränderung der Wachsamkeit in der Probiotika Gruppe (Milchsäurebakterien)

Check for updates

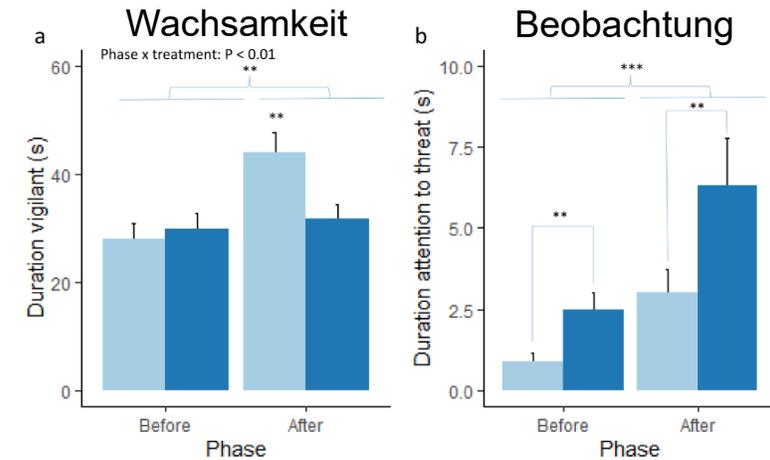


Figure 1. Mean \pm standard error of the mean (sem) duration of (a) vigilance behaviour and (b) attention towards the threat for the control (light blue bars) and probiotic supplemented (dark blue bars) piglets before and after the threat. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

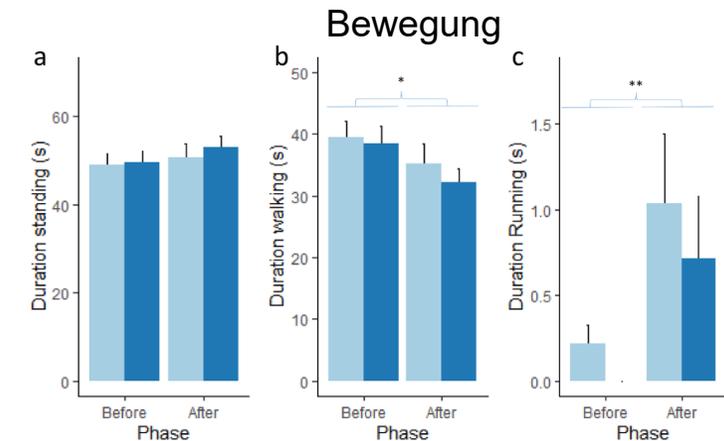


Figure 2. Mean \pm sem duration of (a) standing behaviour, (b) walking behaviour and (c) running behaviour for the control (light blue bars) and probiotic supplemented (dark blue bars) piglets before and after the threat. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

MIKROBIOTA-DARM-HIRN ACHE IN SB

- Der momentane Forschungsstand deutet darauf hin, dass:
 - Stress und Dysbiose sich beeinflussen
 - Veränderungen der Darmmikrobiota und SB in Verbindung gebracht werden können
- Ob Unterschiede der Darmmikrobiota die Ursache oder eine Folge von SB ist (Kausalität), ist nicht geklärt!
- Es gilt daher zu untersuchen ob:



- **durch gezielte Fütterung die Stressresilienz des Schweines gestärkt werden kann?**
- **eine verbesserte Stressresilienz das Risiko der Ausbildung von Schwanzbeißen reduzieren kann?**

Gesunde Darmmikrobiota = Gesundes Verhalten???

MIT FUTTER VERKNÜPFBARE RISIKOFAKTOREN



Applied Animal Behaviour Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/applanim



➤ Futterzusammensetzung/Inhaltsstoffe

- Niedriger Rohfasergehalt
- Proteinmangel oder Überschuß
- Aminosäureverfügbarkeit und Verhältnis (z.B. Trp Mangel, Lys:Trp-Verhältnis)

➤ Futterqualität (z.B. Mykotoxine)

➤ Fütterungsstrategien und Futtermenge (phase-feeding, Flüssigfutter)

➤ Futterart/Futterform

- Hoher Vermahlungsgrad/ geringe Partikelgröße

➤ Niedriges Tier-Fressplatz Verhältnis

- Konkurrenz → Aggression → plötzliche, gewaltsames SB
- Stress → Dybiose (geringere Diversität) → HPA-Achsenreaktion ↑ → Schwanzbeißen
- Weniger und längere Fresströge → weniger Sättigung → zweistufiges SB

Diet and microbiota-gut-brain axis in relation to tail biting in pigs: A review

Cecilie Kobek-Kjeldager^{*}, Anna A. Schönherz, Nuria Canibe, Lene Juul Pedersen

Department of Animal Science, Aarhus University, Blichers Allé 20, 8830 Tjele, Denmark



ROHFASERGEHALT UND RAUFUTTER

➤ Befriedigung des natürlichen Fressverhaltens und Sättigungsgefühl

- Befriedigung natürlichen Wühl- und Erkundungsverhaltens
- Verlängerte Fresszeiten
- Strukturierte Beschaffenheit → Magenschichtung und Füllung
 - ✓ Mechanische Sättigung
 - ✓ pH-Gradient → verringertes Risiko von Magengeschwüren

Reduziert
Frustration, Unruhe
und Stress

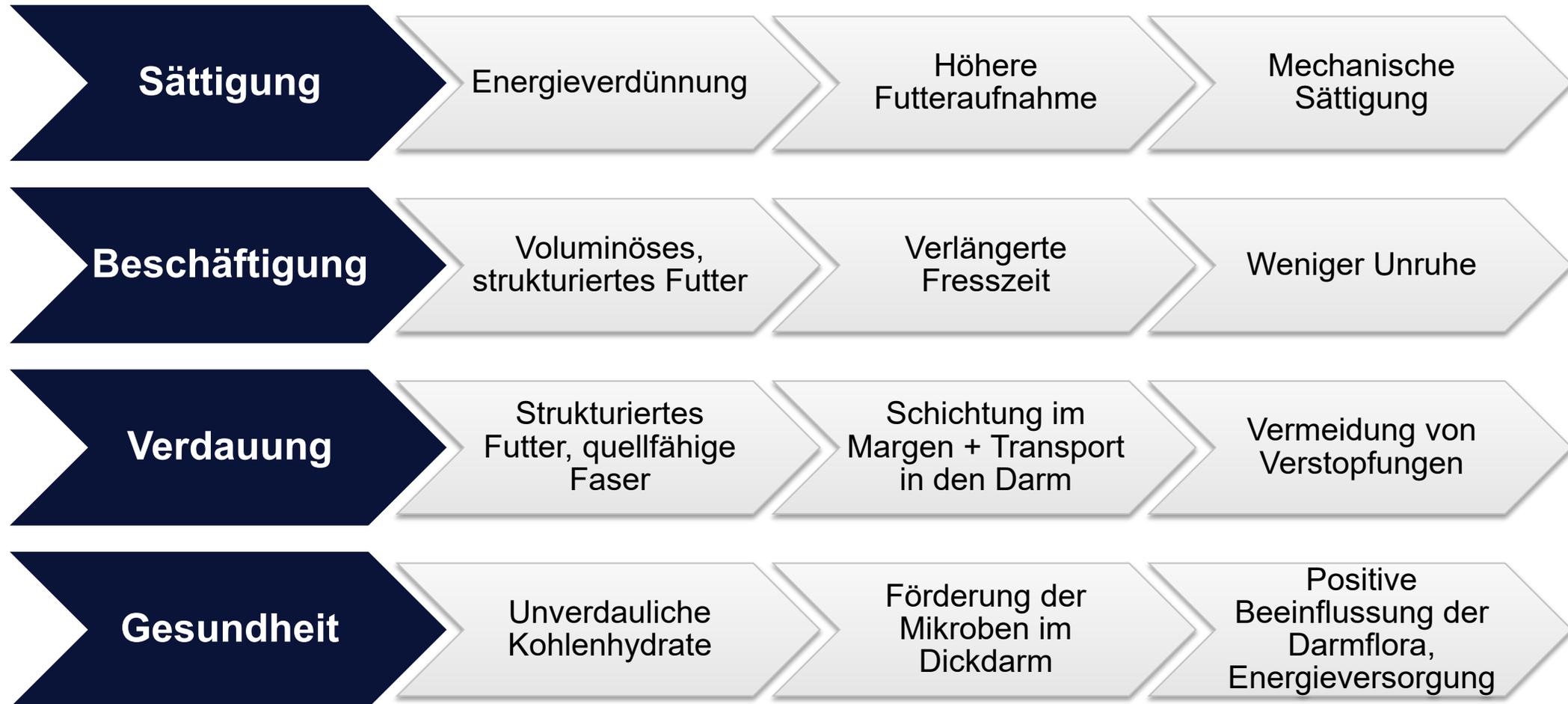
➤ Fördert Verdauungsprozesse (z.B. Beschleunigung der Darmpassage)

➤ Hoher Anteil un/schwer verdaulicher Faserbestandteile → Substrat für bakterielle Fermentierung im Dickdarm

- Etablierung einer „gesunden“ Mikrobiota (Milchsäure-/Bifidobakterien)
- Produktion von SCFA
- Reduktion des pHs → hemmt Etablierung pathogener Keime (E. coli)

Verbesserte
Darmgesundheit,
Stressresilienz

WIRKUNG VON ROHFASERN IM FUTTER



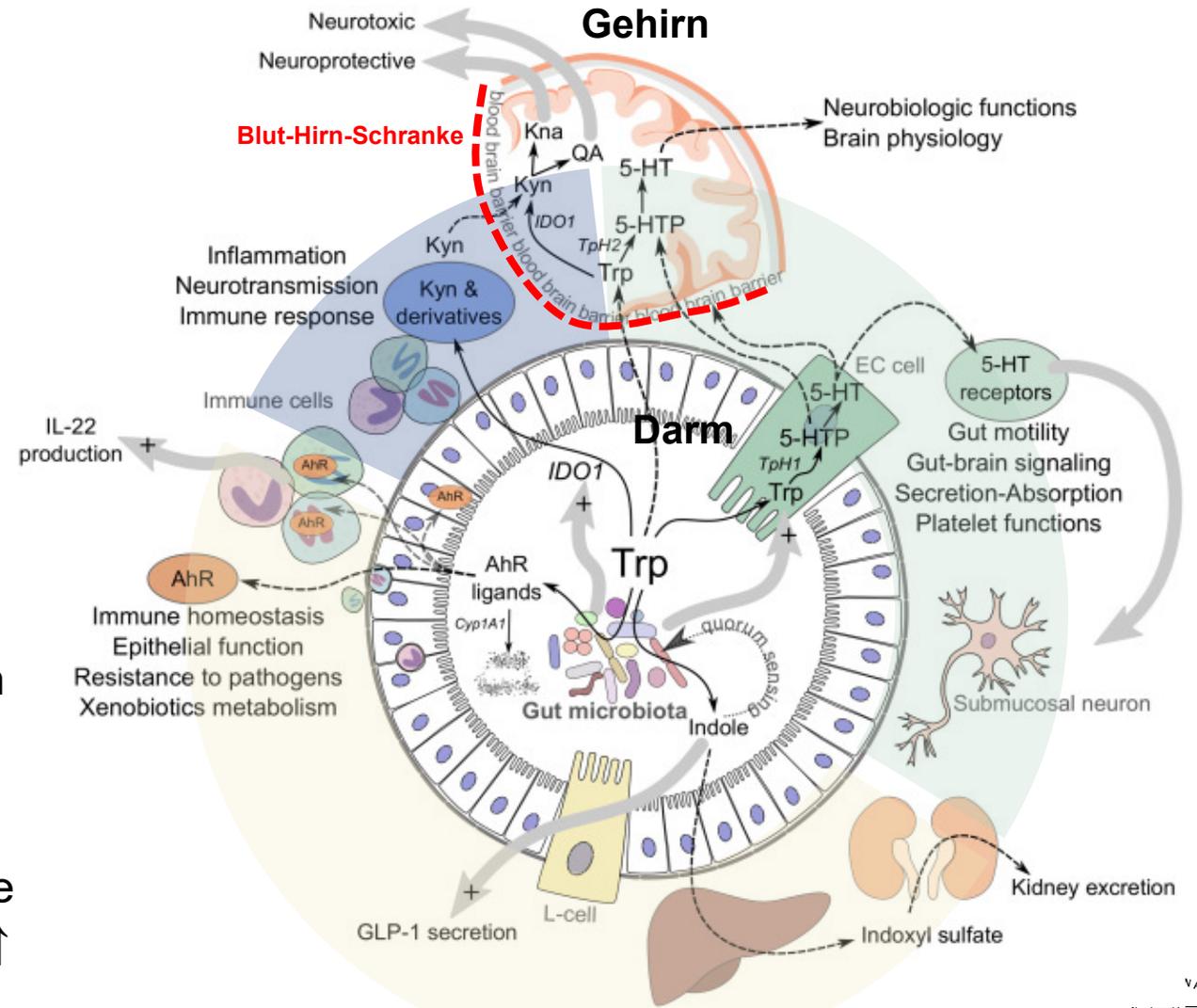
GRÜNEWALD und PREIßINGER, 2014

TRYPTOPHAN (TRP)

- Essentielle Aminosäure, die durch die Verdauung von Proteinen freigesetzt wird
- Gelangt über das Darmepithel in den Blutkreislauf
 - Baustein für die Proteinsynthese → Wachstum und Gesundheit von Tieren
 - Proteinsynthese ist abhängig von der Trp Verfügbarkeit
- Trp ist im Verdauungstrakt bedeutsam für die Regeneration der Darmschleimhaut und schützt vor einer Vermehrung potenziell pathogener Keime
- Großteil des Trp wird verstoffwechselt
 - Substrat für die Synthese von Serotonin und Melatonin
 - Serotonin ist ein wichtiger Neurotransmitter in der Gehirn-Darm-Achse
- Trp Stoffwechsel wird durch Darmmikrobiota, Immunaktivierung und Stress moduliert

TRYPTOPHAN STOFFWECHSEL

- **Serotonin** Produktion
 - Enterochromaffine Zellen (90%), Gehirn
 - Beeinflusst Stimmung, Stress- und Schmerzempfindlichkeit, Schlaf, Immunfunktion, Darmmotilität und Appetit
- **Kynurenin** Stoffwechsel (~90%)
 - Oxidation überschüssigen Trp
 - Kynurenin-Metaboliten können u.a. neurotoxisch wirken und depressive Symptomatiken fördern
- Direkte Umwandlung durch Darmmikroben
 - **Indol** Stoffwechselweg
 - Mikrobielle Serotoninsynthese
- Kynurenin-Weg wird durch proentzündliche Zytokine induziert (IFN- γ , TNF- α) \rightarrow IDO1 \uparrow



TRP EINFLUSS AUF ENTWICKLUNG DES SB

- Trp Mangel → Unruhe, erhöhte Nahrungssuche → Risiko für zweistufiges SB
- Erhöhte Trp-Versorgung mildert physiologische Stressreaktionen, und reduziert **Aktivitäts- und Aggressionverhalten** (Koopmans et al., 2005, 2006, 2009; Peeters et al., 2005; Li et al., 2006; Poletto et al., 2010; Liang et al., 2018)
- Serotoninmangel kann zu Pessimismus-ähnlichem Verhalten führen (Stracke et al., 2017)
- Beißer → niedrigere Serotoninkonzentration im Blut (Ursinus et al., 2014; Brunberg et al., 2016)
 - Mangel an TRP-Verfügbarkeit für die Serotoninsynthese (reduzierte Futteraufnahme)?
 - Verschiebung des Trp Stoffwechsels in Richtung des Kynurenin-Weges?
 - Trp Verbrauch durch Immunaktivierung?

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Tail Biting in Pigs: Blood Serotonin and Fearfulness as Pieces of the Puzzle?



Winanda W. Ursinus^{1,2*}, Cornelis G. Van Reenen², Inonge Reimert¹, J. Elizabeth Bolhuis¹

¹ Adaptation Physiology Group, Department of Animal Sciences, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, ² Animal behaviour & Welfare, Wageningen UR Livestock Research, Wageningen, The Netherlands

TRP EINFLUSS AUF ENTWICKLUNG DES SB

- Verbesserte Trp Versorgung könnte das Risiko des SB verringern

ABER!!!

- Optimale Fütterung ist individuell verschieden
- Trp Stoffwechsel durch Darmmikrobiota, Immun- und Stressaktivierung beeinflusst
- Erhöhte Stress- und Immunaktivität kann zur ungewünschten Verschiebung des Gleichgewichtes der Trp Stoffwechselwege führen (Aktivierung des Kynurenin-Weges und Reduzierung der Serotoninsynthese)

EMPFEHLUNGEN

- Regelmäßige Beobachtung der Tiere
- Vermeidung von Dysbiosen
 - Optimierung der Absetzfütterung um Absatzdurchfällen vorzubeugen
 - Anzeichen von Darmerkrankung frühzeitig erkennen und behandeln
- Optimierung der Fütterung um die Darmgesundheit zu fördern:
 - Erhöhen Sie den Rohfasergehalt und die Raufutter Verfügbarkeit
 - Passen Sie Proteingehalt an Gewicht der Tiere an → Unter- und Überversorgung vermeiden
 - ✓ Erhöhung des Tryptophangehaltes kann vorteilhaft sein
 - Vermeiden Sie geringe Futtervermahlungsgrade (verzichten Sie ggf. auf pelletiertes Futter)
- Vermeiden Sie abrupte Futterwechsel (schrittweise Änderungen über mehrere Tage)
- Erhöhen Sie des Tier-Fressplatz Verhältnis
- Sorgen Sie für eine hohe Futterqualität (von Misch- und Raufutter)



Diet and microbiota-gut-brain axis in relation to tail biting in pigs: A review

Cecilie Kobek-Kjeldager^{*}, Anna A. Schönherz, Nuria Ganibe, Lene Juul Pedersen

Department of Animal Science, Aarhus University, Blichers Allé 20, 8830 Tjele, Denmark

TAKE HOME MESSAGE

- Darm und Gehirn stehen in ständiger Verbindung
- Darmmikrobiota können Stimmung und Verhalten beeinflussen
- Darmmikrobiota, Stress und Angstverhalten stehen in wechselseitiger Beziehung
 - Gestörte Darmmikrobiota → gestörtes Verhalten → reduziertes Tierwohl
 - Eingeschränktes Wohlbefinden → Herabsetzung der Stressresilienz → suboptimale Produktion
- Erste Zusammenhänge zwischen Schwanzbeißen und Veränderungen der Darmmikrobiota dokumentiert (Kausalität noch nicht gelöst)
- Optimierung der Fütterung zur Förderung der Darmgesundheit sollte bei der Prävention und Behandlung des Schwanzbeißens stärker berücksichtigt werden



„Der Darm ist der Vater aller Trübsal.“

***„Es gibt Krankheiten, die nur durch richtige Ernährung
geheilt werden können.“***

(Hippokrates v. Kos, 460–377 v. Chr.)



AARHUS
UNIVERSITY