

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
7. Mai 2009 (07.05.2009)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2009/056131 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:  
A61B 19/00 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2008/001883

(22) Internationales Anmeldedatum:  
31. Oktober 2008 (31.10.2008)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
10 2007 054 317.6  
31. Oktober 2007 (31.10.2007) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): NEUROSTAR GMBH [DE/DE]; c/o Alexander  
Breit, Dachsklingeweg 17, 71067 Sindelfingen (DE).

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: BREIT, Alexander [DE/DE]; Rosenstr.  
29, 70191 Stuttgart (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,  
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY,  
BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,  
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ,  
LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,  
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG,  
PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM,  
ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,  
VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,  
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,  
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,  
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,  
MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,  
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,  
TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-  
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

(54) Title: STEREOTACTIC INSTRUMENT COMPRISING A RETROFITTED DIGITAL MOTOR CONTROLLER AND IN-  
TEGRATION OF COMPUTER-AIDED BRAIN ATLASES

(54) Bezeichnung: STEREOTAKTISCHES INSTRUMENT MIT NACHGERÜSTETER DIGITALER MOTORANSTEU-  
ERUNG UND INTEGRATION MIT RECHNERGESTÜTZTEN HIRN-ATLANTEN

(57) Abstract: The invention relates to a stereotactic instrument comprising a retrofitted digital motor controller and integration  
of computer-aided brain atlases in order to position a tool in a computer-controlled, atlas-based, motor-driven manner in the brain.  
Said inexpensive solution allows the manipulators to be comfortably operated while improving the accuracy and reproducibility of  
the tool positioning process by using the motor controller. At the same time, advanced software applications such as the integration  
of digital atlases or the integration into control surfaces of experiments are supported and promoted.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Stereotaktisches Instrument mit nachgerüsteter digitaler Motoransteuerung  
und Integration mit rechnergestützten Hirn-Atlanten, zur computergesteuerten, Atlas-basierten, motorisierten Positionierung eines  
Werkzeugs im Gehirn. Diese kostengünstige Lösung ermöglicht eine komfortable Bedienung der Manipulatoren bei gleichzeitig  
verbesserter Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Werkzeug-Positionierung durch den Einsatz der Motorsteuerung. Gleichzeitig  
werden fortgeschrittene Software-Anwendungen wie Integration digitaler Atlanten oder Einbindung in Experiment-Kontrolloberflä-  
chen unterstützt und vorangetrieben.

WO 2009/056131 A2

Titel: Stereotaktisches Instrument mit nachgerüsteter digitaler Motoransteuerung und Integration mit rechnergestützten Hirn-Atlanten.

Die Erfindung betrifft ein Stereotaktisches Instrument mit nachgerüsteter digitaler Motoransteuerung und Integration mit rechnergestützten Hirn-Atlanten, zur computergesteuerten, Atlas-basierten, motorisierten Positionierung eines Werkzeugs im Gehirn.

#### Stand der Technik:

Unter der Bezeichnung Stereotaktisches Instrument ist eine Vorrichtung bekannt geworden, mit deren Hilfe ein Werkzeug an einer vorgegebenen Stelle innerhalb eines Körpers plaziert wird. Wesentlich dabei ist, dass der Körper rigide mit einem vordefinierten Koordinatensystem verbunden ist. Unter Körper versteht man einen Körper oder Körperteil in anatomischem Sinne, z.B. das Gehirn. Als Werkzeuge werden insbesondere Elektroden, Nadeln oder Kanülen eingesetzt.

Herkömmliche stereotaktische Instrumente, die in der tierexperimentellen Hirnforschung eingesetzt werden, basieren auf ein kartesisches Koordinatensystem und sind für jede der drei Achsen des x,y,z-Koordinatensystems mit jeweils einem Manipulator ausgerüstet, dessen linearer Vorschub durch manuelle Bedienung eines Handrads erfolgt. Das Werkzeug wird üblicherweise entlang der vertikalen z-Richtung in das Gewebe vorgeschoben.

In der Regel wird zur Ansteuerung der Hirnstrukturen ein Atlas herangezogen. Dieser liefert dreidimensionale Koordinaten für die Hirnstrukturen, die durch ein, üblicherweise kartesisches, Koordinatensystem gegeben sind, das sich an einem oder mehreren anatomischen Merkmalen orientiert. Die Planung der Werkzeugansteuerung erfolgt aufgrund des Atlas, die konkrete Ansteuerung hat jedoch im Koordinatensystem des Stereotaktischen Instruments zu erfolgen. Polare oder zylindrische Koordinatensysteme können gelegentlich zur Anwendung kommen.

Eine Standardausführung eines Stereotaktischen Instruments ist in Fig.1 gezeigt: Dieser besteht aus einer Halterungs Baugruppe (100), einer Manipulator Baugruppe (200), und einer Werkzeug Baugruppe (300). Zur Halterungs Baugruppe (100) gehören Grundplatte (110) und U-Rahmen (120). Dazu werden zur etablierten 3-Punktfixierung des Tieres ein Mundstück (121) und zwei Ohrenstifte (122, 123) eingesetzt. Hinzu kommt ein Sockel (130), der ein Gleiten der x-Manipulatorschiene (140) ermöglicht. Die Manipulator Baugruppe (200) setzt sich aus Drehkreuz (210) mit Klemmschraube (211), horizontalem y-Manipulatorarm (250), vertikalem z-Manipulatorarm (240), verfahrbarem Block (260) und V-Block (270) zur Befestigung der

Werkzeuggruppe (300). Zur Werkzeug Baugruppe (300) gehören Sicherungsklemme (310), Werkzeugschaft (320) und Werkzeughalter (330).

Das Stereotaktische Instrument ermöglicht die Fixierung des Versuchstieres und die Positionierung des Werkzeugs in alle 3 orthogonalen Richtungen, durch manuelle Steuerung der x,y,z-Manipulatoren.

Die Koordinaten werden von einem Nonius abgelesen, dessen Genauigkeit 0.1 mm beträgt. Die Einstellung der Position erfolgt über einen Drehknopf, wodurch die Präzision der Positionierung nicht garantiert werden kann.

Ein weiterer Nachteil der Stereotaktischen Instrumente dieser Art stellt die Tatsache dar, dass die aktuelle Position von einer Nonius-Skala abgelesen werden muss. Diese Positionsbestimmung wird während eines Experiments häufig durchgeführt. Das Ablesen erfolgt von den drei zueinander orthogonalen Achsen. Dies ist mit erheblichem Aufwand verbunden, wenn man bedenkt, dass solche Versuche unter anderem unter Abzugshauben oder ähnlichen Anordnungen stattfinden können, die ein Ablesen erschweren und Lese- und Übertragungsfehler ermöglichen.

Aus der US 2003/0120282 A1 ist eine verbesserte Ausführung eines Stereotaktischen Instruments bekannt geworden, bei der nachgerüstete lineare Skalen mit Positionssensoren und digitaler Anzeige an einem Standardversion eines Stereotaktischen Instruments angebracht werden. Diese Ausführung ist unter der Bezeichnung Digitaler Stereotaktischer Manipulator bekannt. Ein wesentlicher Vorteil besteht in der sogenannten Null-Setz-Funktion, die eine Kalibrierung der Anzeige vorsieht, so dass die angezeigten Koordinaten nicht mehr die absoluten Koordinaten des Koordinatensystems des Stereotaktischen Instruments darstellen, sondern

In der US 2007/0055289 A1 wird eine Ausführung beschrieben, die das System durch zwei Rotationssensoren und durch ein Vorschubmodul zur Feineinstellung entlang der z-Achse ergänzt.

Aus der US 2006/0052689 A1 ist eine weitere Verbesserung bekannt geworden, bei der ein Digitaler Stereotaktischer Manipulator die durch o.g. Sensoren ermittelten Koordinaten über eine digitale Schnittstelle an ein Computersystem übertragen, welcher eine direkte Visualisierung dieser Positionsdaten in einem digitalisierten Hirn-Atlas ermöglicht. Die Verbindung des Digitalen Stereotaktischen Manipulators zum Computersystem kann entweder direkt oder über einen programmierbaren logischen Controller (PLC) mit Touch-Screen-Möglichkeit erfolgen. Der Einsatz von Hirn-Atlanten stellt ein gängiges Hilfsmittel in der

Hirnforschung dar. Für sämtliche in der Hirnforschung eingesetzten Spezies stehen Atlanten in stereotaktischen Koordinaten zur Verfügung, beispielsweise für Ratte (Rat Brain Atlas, 5th ed., 2004, Paxinos and Watson), Maus (Mouse Brain Atlas, 2nd ed., 2001, Paxinos and Franklin), Affe (Rhesus Monkey Brain Atlas, 1999, Paxinos, Huang and Toga), die sowohl in Druck- als auch in digitaler CD-Version verfügbar sind.

#### Problem:

Diese Vorrichtungen weisen allesamt nicht unerhebliche Nachteile auf. Insbesondere ist die manuelle Positionierung über Drehknopf unkomfortabel und aufgrund impliziter Limitierung der Feinmotorik hinsichtlich Genauigkeiten und Reproduzierbarkeit eingeschränkt. Ferner ist eine aktive Integration in übliche Experimentieroberflächen, die über das passive Einlesen von Positionierungsdaten und deren Visualisierung in Atlanschnitten hinausgehen, nicht möglich. Die Anwahl einer Zielposition und die anschließende gezielte Ansteuerung unter automatisierten anwenderunabhängigen Bedingungen sind mit den bisher verfügbaren Anordnungen nicht durchzuführen.

#### Lösung:

Es ist ein wichtiges Ziel der Erfindung, diese und weitere Nachteile des Standes der Technik zu überwinden.

Die Kernidee der Erfindung ist die Nachrüstung eines Stereotaktischen Instruments mit einer digitalen Motoransteuerung mit dem Ziel einer aktiven, direkt Atlas-basierten, computergesteuerten, motorisierten Positionierung eines Werkzeugs im Gehirn.

Sämtliche Vorteile der vorbeschriebenen Ausführungen im Vergleich zur Standardausführung des Stereotaktischen Instruments sind auch durch die vorliegende Erfindung gegeben, so dass im Folgenden nur die zusätzlichen Vorteile erörtert werden.

Wesentliche Vorteile der Erfindung sind eine komfortablere Bedienung der Manipulatoren bei gleichzeitig verbesserter Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Werkzeug-Positionierung durch den Einsatz der Motorsteuerung anstelle der manuellen Bedienung (Fig.2, Fig.3, Fig.4). Eine praktikable Ausführung sieht Schrittmotoren vor, mit beispielsweise 24 Schritte/Motorumdrehung, sowie einem Motorgetriebe mit einer Untersetzung von ca. 100:1. Bei einer Steigung der Gewindespindel von 0.2 Zoll/Umdrehung ergibt sich eine

Positionierungsgenauigkeit von ca. 2  $\mu\text{m}$ . Die Motoren werden von einem Controllermodul angesteuert, welcher über eine USB-Schnittstelle an einen Laptop-Computer angeschlossen ist.

Ein weiterer Vorteil ist die Möglichkeit der Nachrüstung eines bestehenden Stereotaktischen Instruments, was eine kostengünstige und sinnvolle Erweiterung des Anwendungsspektrums darstellt.

Eine vorteilhafte Ausführung, sieht eine vereinfachte Alternative vor, bei der die Computeransteuerung durch einen programmierbaren Mikrocontroller mit digitaler Eingabemöglichkeit ersetzt wird.

Ein weiterer Vorteil der Erfindung besteht darin, dass über die Software-Integration des Hirn-Atlas eine aktive, Atlas-basierte Positionierung des Werkzeugs unter optimaler Visualisierung möglich ist (Fig. 5).

Die Anwahl einer Zielposition und die anschließende gezielte Ansteuerung unter automatisierten, anwenderunabhängigen Bedingungen werden aufgrund der Erfindung erstmalig realisierbar.

Darüber hinaus können durch eine geeignete Adaptierung der Software zur Atlas-Integration anwendungsbedingte Ungenauigkeiten, beispielsweise Verkippungen bei der Fixierung des Körpers oder individuelle Abweichungen vom Atlas-Standard, kompensiert werden.

Eine praktikable Variante der Erfindung sieht vor, dass gemäß Anspruch 3 eine Integration des Stereotaktischen Instruments in allgemeine tierexperimentelle Softwareapplikationen ermöglicht wird (Fig. 6). Applikationen dieser Art sind beispielsweise elektrophysiologische Anwendungen oder Injektionsexperimente.

Vorteilhaft kann ein modifiziertes konstruktives Design eines Stereotaktischen Instruments mit bereits integrierter Motoransteuerung darstellen, bei der beispielsweise eine geringere Steigung der Gewindespindel der Manipulatoren zu einer verbesserten Genauigkeit der Positionierung führt.

Eine vorteilhafte Ausgestaltung der Erfindung sieht vor, dass das übliche Positionierungsprinzip, bei dem das Werkzeug mittels dreier zueinander orthogonalen x,y,z-Manipulatoren relativ zum fixierten Körper bewegt wird, durch ein abgeändertes Positionierungsprinzip ersetzt wird, bei dem sowohl der Körper, beispielsweise mittels eines x,y-Tisches, als auch das Werkzeug, beispielsweise mittels eines z-Manipulators, relativ zueinander bewegt werden können. Die aus dem geänderten Positionierungsprinzip sich ergebenden konstruktiven Änderungen führen zu

einer erhöhten mechanischen Stabilität und Positionierungsgenauigkeit, zu einer verbesserten Kinematik, sowie zu einer verbesserten Handhabung.

Um das Einsatzgebiet der Erfindung zu erhöhen, erstreckt sich diese auch auf Stereotaktische Instrumente, die auf alternative polare oder zylindrische Koordinatensysteme basieren.

Beschreibung eines Ausführungsbeispiels:

Im Folgenden wird die Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Dabei zeigen:

Fig.1 eine Standardausführung eines Stereotaktischen Instruments

Fig.2 ein Ausführungsbeispiel der Erfindung eines Stereotaktisches Instruments mit nachgerüsteter digitaler Motoransteuerung

Fig.3 eine detaillierte Zeichnung des x-Manipulators gemäß Erfindung

Fig.4 eine detaillierte Zeichnung der y- und z-Manipulatoren gemäß Erfindung

Fig.5 ein coronales Atlasschnittbild welches die Atlas-basierte Positionierung der Werkzeugspitze und deren Visualisierung darstellt.

Fig.6 eine beispielhafte Softwareapplikation zur Kontrolle und Management eines elektrophysiologischen Experiments, bei der die erfindungsgemäße Atlas-basierte Motoransteuerung in die Gesamtanwendung integriert ist.

Die in Fig.1 dargestellte Standardausführung eines Stereotaktischen Instruments wurde bereits im Abschnitt Stand der Technik erläutert.

Fig. 2 zeigt ein Ausführungsbeispiel der Erfindung eines Stereotaktischen Instruments mit nachgerüsteter digitaler Motoransteuerung. Im Vergleich zur Standardausführung aus Fig.1 lassen sich folgende Ergänzungen hervorheben: als Nachrüstung für den x-Achsen-Manipulator den Aufsatz Motoransteuerung (150), Motorstecker (155), Motorkabel (156), als Nachrüstung für den y-Achsen-Manipulator den Aufsatz Motoransteuerung (290), Motorstecker (295), Motorkabel (296), als Nachrüstung für den z-Achsen-Manipulator den Aufsatz Motoransteuerung (280), Motorstecker (285), Motorkabel (286). Die übrigen Bezeichnungen entsprechen denen aus Fig.1. Nicht dargestellt sind die Werkzeug Baugruppe, das Controllermodul für die 3 Motoren mit Netzteil und USB-Kabel, sowie der Laptop-Computer mit integriertem, digitalisiertem Atlas.

Fig.3 zeigt ein Detail des Ausführungsbeispiels der Erfindung, den x-Manipulator betreffend. Der x-Manipulator besteht aus einem Sockel (130), der ein Gleiten der x-Manipulatorschiene

(140) ermöglicht. Die x-Manipulatorschiene (140) setzt sich aus Gleitschiene (147), Gewindespindel (142), Buchse (145), Endstück (146), einem Paar Federscheiben (143a,b) und einem Paar Kunststoffscheiben (144a,b), sowie aus einem Drehknopf (141), der erfindungsgemäß mit der x-Motoransteuerung ausgetauscht wird. Die Montage der x-Motoransteuerung setzt sich aus folgenden Schritten zusammen: Entfernung des Drehknopfs (141), Verbindung der Gewindespindel (142) mit dem Motor mit integriertem Getriebe für die x-Achse (151) über eine Kupplung (nicht gezeigt) nach erfolgter Vorspannung, Anbringen des Aufsatzes (150, Fig.2) dessen Fixierung sowohl an Motor (151) als auch an das Endstück (146).

Fig.4 zeigt ein Detail des Ausführungsbeispiel der Erfindung, die y- und z-Manipulatorarme betreffend. Der z-Manipulatorarm (240) setzt sich aus Gewindespindel (242), Buchse mit Innengewinde (245), Endstück (246), Noniusstange (247), Stabilisierungsstange (248), einem Paar Federscheiben (243a,b) und einem Paar Kunststoffscheiben (244a,b), sowie aus einem Drehknopf (241), der erfindungsgemäß mit der z-Motoransteuerung ausgetauscht wird. Die Montage der z-Motoransteuerung setzt sich aus folgenden Schritten zusammen: Entfernung des Drehknopfs (241), Verbindung der Gewindespindel (242) mit dem Motor mit integriertem Getriebe für die z-Achse (281) über eine Kupplung (nicht gezeigt) nach erfolgter Vorspannung, Anbringen des Aufsatzes (280, Fig.2) dessen Fixierung sowohl an Motor (281) als auch an das Endstück (246). Der y-Manipulatorarm (250) setzt sich aus Gewindespindel (252), Buchse mit Innengewinde (255), Endstück (256), Noniusstange (257), Stabilisierungsstange (258), einem Paar Federscheiben (253a,b) und einem Paar Kunststoffscheiben (254a,b), sowie aus einem Drehknopf (251), der erfindungsgemäß mit der y-Motoransteuerung ausgetauscht wird. Die Montage der y-Motoransteuerung setzt sich aus folgenden Schritten zusammen: Entfernung des Drehknopfs (241), Verbindung der Gewindespindel (242) mit dem Motor mit integriertem Getriebe für die y-Achse (281) über eine Kupplung (nicht gezeigt) nach erfolgter Vorspannung, Anbringen des Aufsatzes (280, Fig.2) dessen Fixierung sowohl an Motor (281) als auch an das Endstück (246). Abgebildet sind noch der verfahrbare Block (260) und der V-Block (270), der zur Montage der Werkzeug Baugruppe dient.

Fig.5 zeigt ein coronales Atlasschnittbild welche die Atlas-basierte Positionierung der Werkzeugspitze und deren Visualisierung widerspiegelt. In diesem Anwendungsbeispiel befindet sich die Werkzeugspitze an der x,y,z-Position (-3.6, 1.8, 5.8), wie aus den Atlasbildern ersichtlich.

Fig.6 zeigt eine beispielhafte Softwareapplikation zur Kontrolle und Management eines elektrophysiologischen Experiments, bei der die erfindungsgemäße Atlas-basierte Motoransteuerung in die Gesamtanwendung integriert ist. In einem Atlasausschnitt (600) wird die Position der Elektrode (Werkzeug) (710) visualisiert, sowie die bisherigen

Zwischenpositionen im Verlauf des Experiments. Die Tiefenangabe (z-Koordinate) wird nochmal als Skaleneintrag (720) und als Zahlenwert (730) dargestellt. Des Weiteren wird das Signal (750) abgebildet, welches von der Elektrode an der genannten Position abgeleitet wird. Die Motoransteuerung (760) erfolgt komfortabel über die Pfeiltasten-Schaltflächen (761a, 761b), die Motorschrittweite (762) kann ebenfalls komfortabel angewählt werden.



## Patentansprüche

1. Stereotaktisches Instrument mit nachgerüsteter digitaler Motoransteuerung zur computergesteuerten, motorisierten Positionierung eines Werkzeugs im Gehirn.
2. Stereotaktisches Instrument nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine Integration mit rechnergestützten Hirn-Atlanten zur Atlas-basierten, aktiven Positionierung eines Werkzeugs im Gehirn und durch eine rechnergestützte Kompensation anwendungsbedingter Ungenauigkeiten.
3. Stereotaktisches Instrument nach Anspruch 2, gekennzeichnet durch die zusätzliche Integration in eine allgemeine tierexperimentelle Softwareapplikation, beispielsweise bei elektrophysiologischen Messungen oder bei Injektionen.
4. Stereotaktisches Instrument nach Anspruch 1, wobei die Computeransteuerung durch eine vereinfachte Ansteuerung über einen programmierbaren Mikrocontroller mit digitaler Eingabemöglichkeit ersetzt wird.
5. Stereotaktisches Instrument nach einem der vorhergehende Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung nicht eine nachgerüstete Motoransteuerung besitzt, sondern bereits konstruktiv mit integrierter Motoransteuerung ausgestattet ist.
6. Stereotaktisches Instrument nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass statt der über motorisierte x,y,z-Manipulatoren realisierten Positionierung des Werkzeugs relativ zum fixierten Körper ein geändertes Positionierungsprinzip zur Anwendung kommt, bei der sowohl der Körper mittels eines motorisierten x,y-Tisches als auch das Werkzeug mittels eines motorisierten z-Manipulators sich relativ zueinander bewegen können.
7. Verwendung einer Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass es nicht auf einem kartesischen Koordinatensystem basiert, sondern mit alternativen (polaren oder zylindrischen) Koordinatensystemen arbeitet.

**Zeichnungen**

Fig. 1:

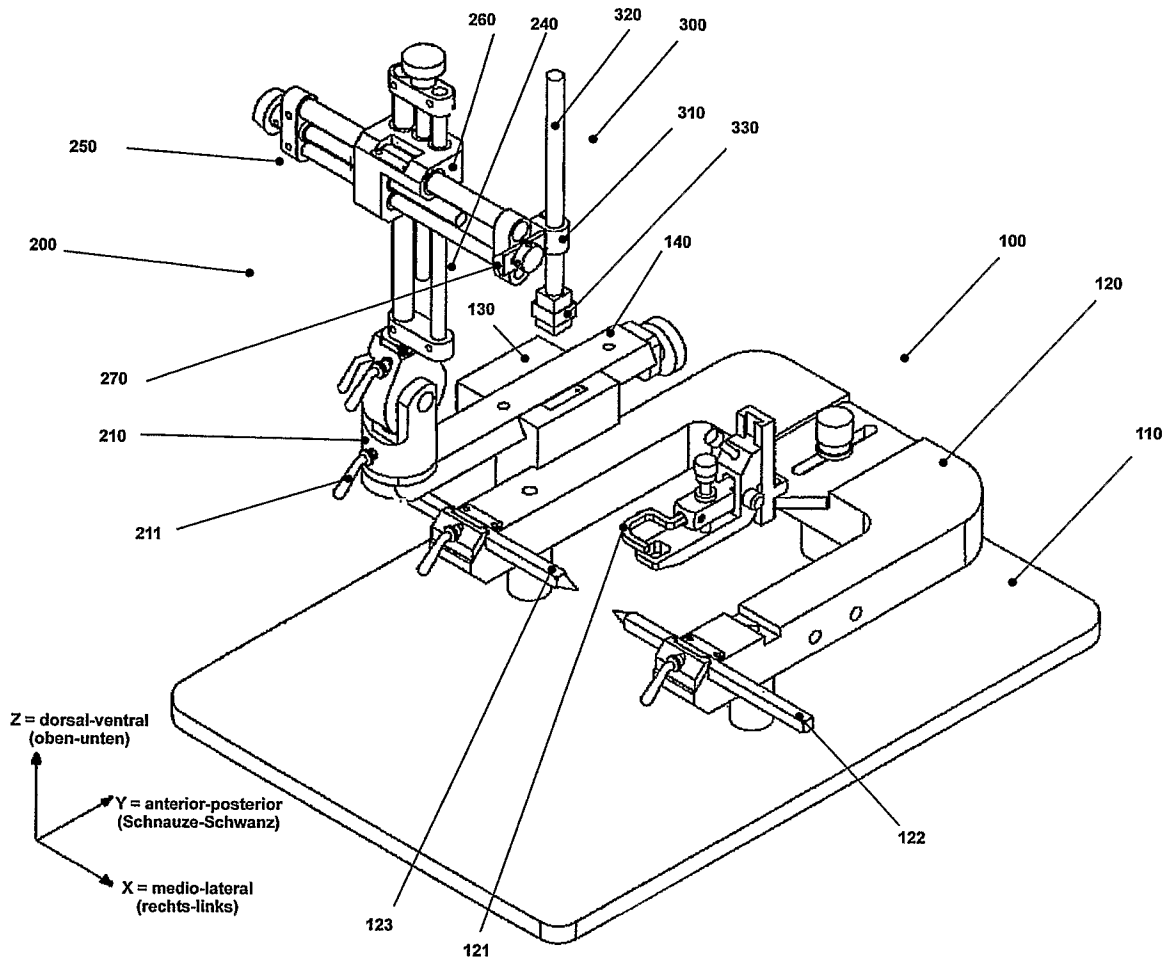


Fig. 2:

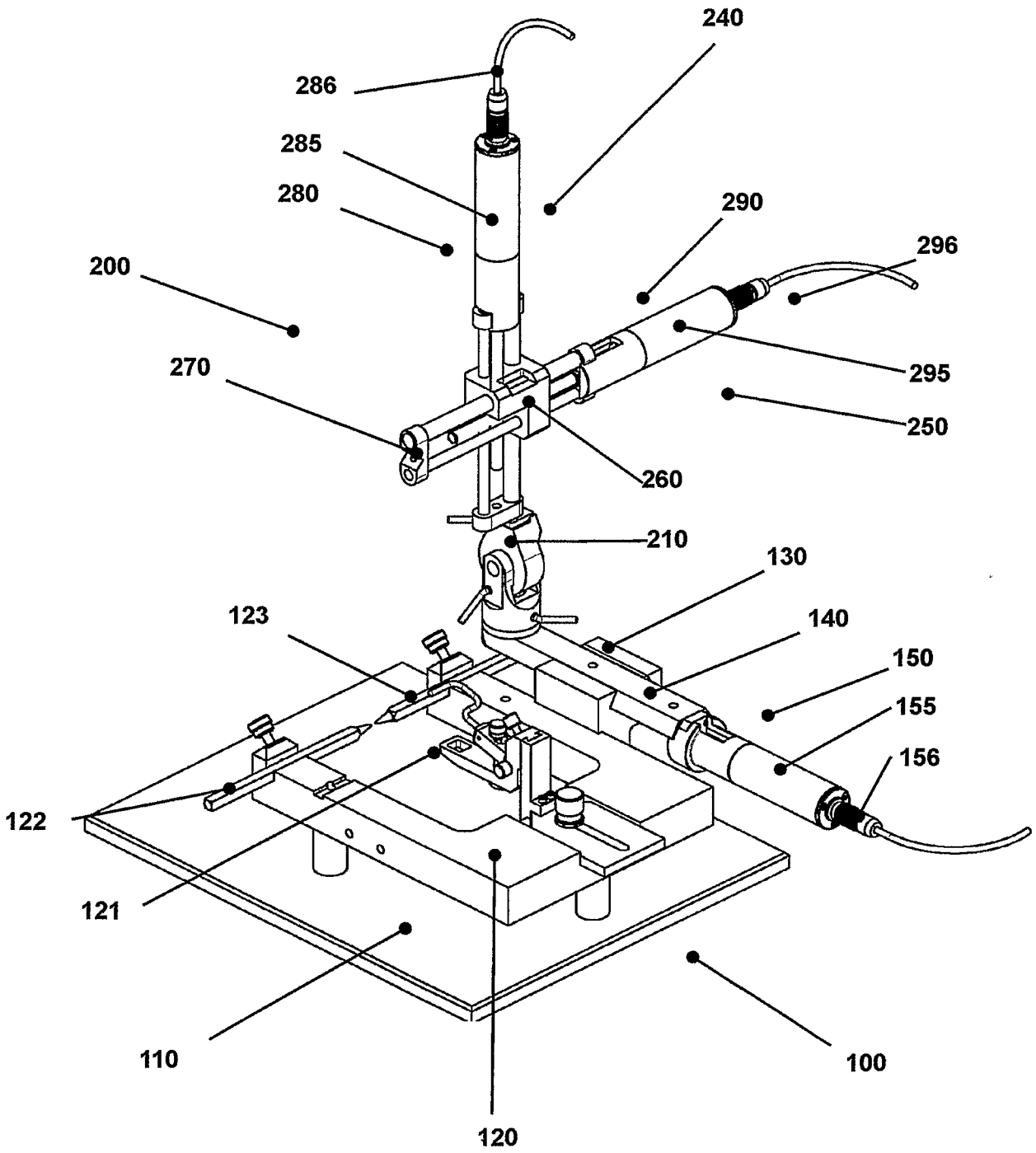


Fig. 3:

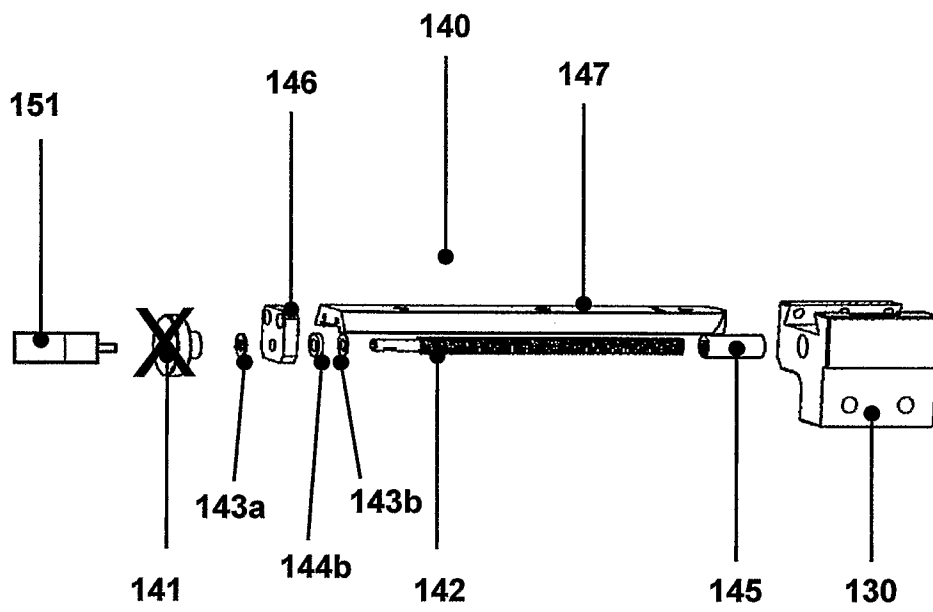


Fig. 4:

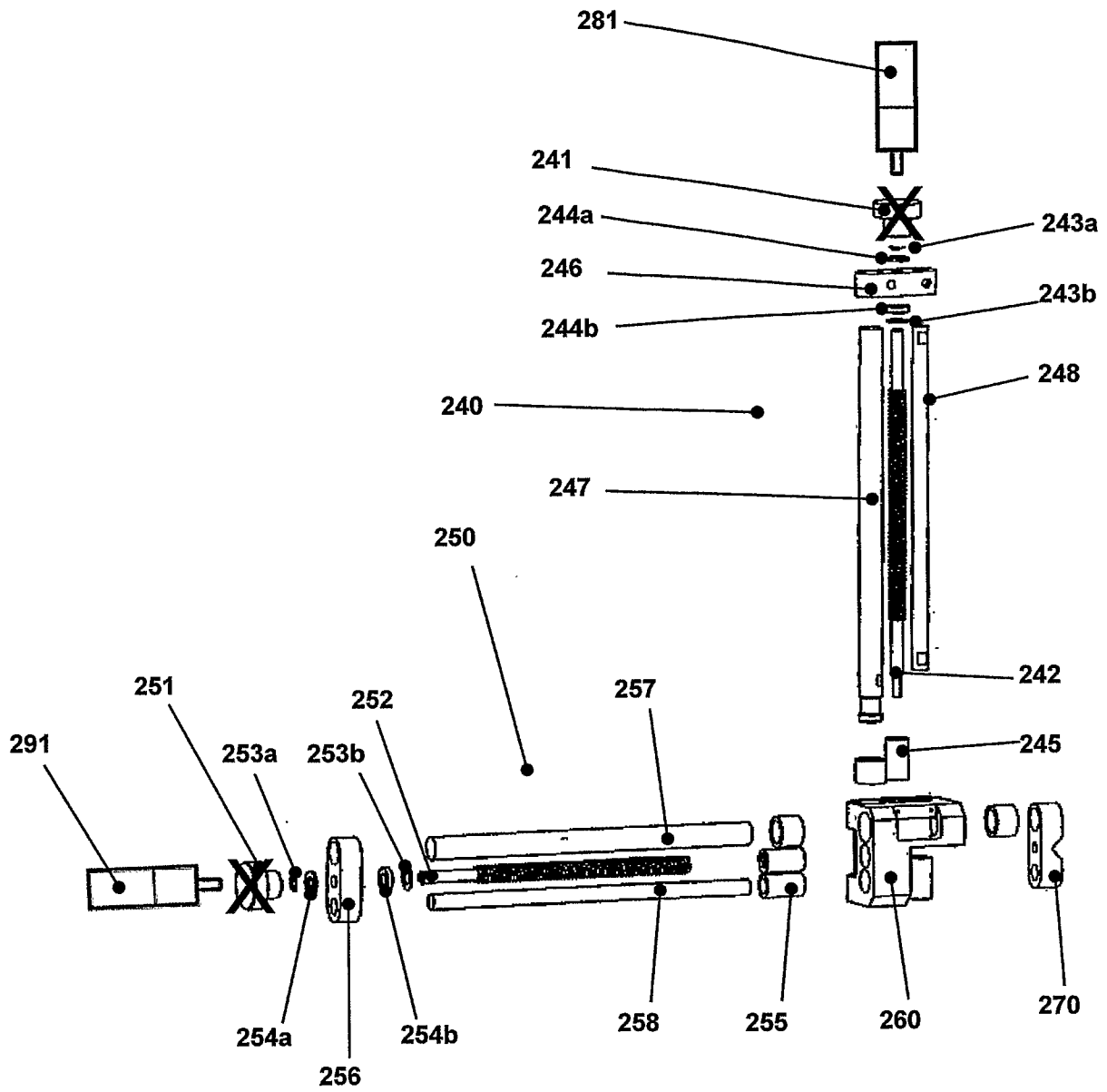


Fig 5:

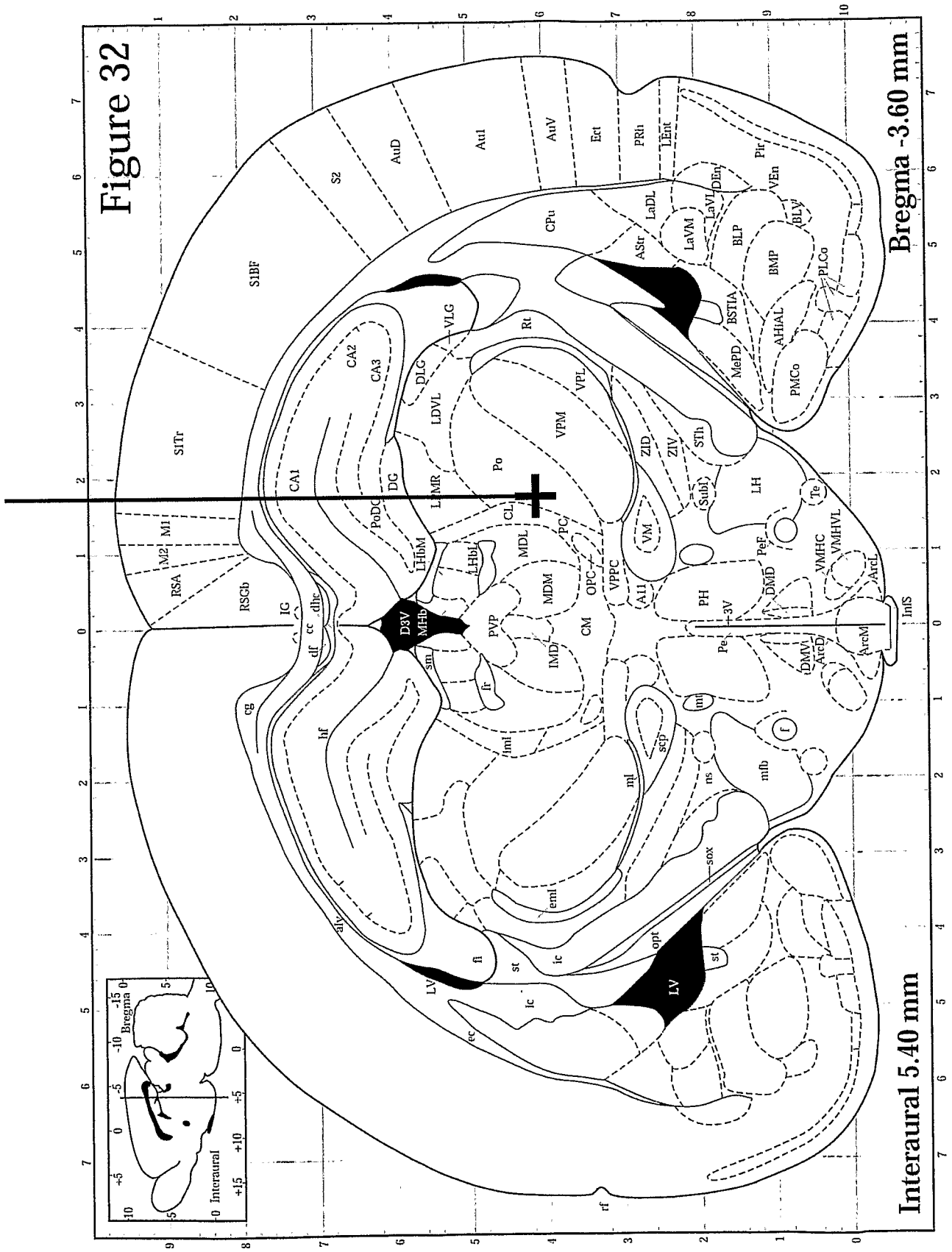


Fig.6:

