

Aplicações de técnica estereotáctica para a neurocirurgia molecular: uma revisão.

Use of stereotactic procedures in molecular neurosurgery: a review

Ivan Soares de Araujo *

Resumo

Avanços consideráveis foram obtidos na compreensão das bases moleculares de várias doenças neurológicas. Embora a biologia molecular dos tumores cerebrais e doenças neurodegenerativas tenham se tornado mais conhecidas, a utilização desses conhecimentos para alcançar resultados terapêuticos melhores permanece um desafio. Os procedimentos estereotáticos na neurocirurgia molecular constituem um método adequado de introdução de material gênico na estrutura tissular cerebral. Numerosas doenças resistentes a qualquer tratamento são passíveis de cura em um futuro próximo devido a terapia genética incuráveis abrem perspectivas para num futuro próximo serem manuseadas pela terapia gênica, apesar das limitações no presente como a rejeição imunológica e a ausência de um vetor ideal.

palavras-chave: *biologia molecular, neurocirurgia estereotáctica, doenças neurodegenerativas, terapia gênica, terapia celular.*

Abstract

Remarkable advances have been made in the understanding of the molecular basis of many neurological diseases. Although the molecular biology of brain tumors and neurodegenerative diseases are better understood, the use of this information to achieve better therapeutic results remains a challenge. The stereotactic procedure for molecular neurosurgery constitutes an adequate method of delivery of genetic material to cerebral tissue. A number of diseases resistant to any treatment are amenable to be cured in a short future due to genetic therapy although the present limitations that include immunological rejection and the lack of an ideal vector.

keywords: *molecular biology, stereotactic neurosurgery, neurodegenerative diseases, genic therapy, cellular therapy.*

*Neurocirurgião do Instituto de Neurologia Deolindo Couto/UFRJ.

Endereço para correspondência: Av. Wenceslau Brás, 95 Botafogo – 22290-140 Rio de Janeiro-RJ E-mail: i.s.araujo@uol.com.br

Introdução

Até recentemente a neurocirurgia tem sido uma disciplina cirúrgica dirigida para procedimentos ablativos nas doenças do sistema nervoso: clipagem de aneurismas, evacuação de hematomas, remoção de hérnias de disco, descompressão na estenose de canal, extirpação de tumores, dentre outros. Entretanto, o esclarecimento das bases moleculares de muitas doenças neurológicas mudou o procedimento unicamente ablativo da neurocirurgia para uma atitude terapêutica voltada também para a restauração e melhora da função no sistema nervoso. Destarte, uma variedade de técnicas provenientes da biologia molecular foram introduzidas na neurocirurgia^{1,4, 6, 8}.

Neuro-oncologia

O tratamento de tumores cerebrais de uma maneira típica compreende ressecção, radioterapia e quimioterapia. A ressecção cirúrgica tem evidenciado melhora da sobrevivência em certos tumores tais como o glioblastoma multiforme, ao passo que outros são definitivamente tratados por radiação, como o germinomas. Outros ainda, tais como os oligodendrogliomas, respondem favoravelmente á quimioterapia^{2, 10-11, 20}. A despeito dos avanços terapêuticos, a sobrevivência dos pacientes com tumores deixa a desejar. A sobrevivência no caso do glioblastoma multiforme, o mais comum dos tumores primários, não tem melhorado por décadas. O tumor apresenta difusão ampla de suas células pela substancia branca e pode ser encontrado no hemisfério contralateral partindo de um foco tumoral primário. A terapia definitiva para tumores cerebrais primários irá requerer inativação da oncogênese aberrante ou restabelecimento da atividade de genes supressores perdidos ou não-ativos. O progresso na malignidade de um glioma envolve um acúmulo gradativo de alterações genéticas que geralmente afeta as vias de transdução ativada pelos receptores tirosina-kinase, fatores de crescimento/receptor derivados das plaquetas, fator de crescimento do fibroblasto 2, receptor do fator de crescimento insulino-símile, o receptor do fator de crescimento epidérmico e reguladores do ciclo celular^{9, 12}. De uma maneira geral os gliomas malignos são resistentes ao tratamento cirúrgico, radiação e quimioterapia^{31, 34-35}. Com raras exceções todos esses tumores recidivam após o tratamento inicial, requerendo repetição da cirurgia e tratamentos coadjuvantes. Independente das intervenções, a sobrevida média dos glioblastomas

permanece em 47 semanas, mostrando o pouco progresso no tratamento dos astrocitomas malignos. A falha no tratamento convencional tem propiciado a utilização de estratégias tais como a terapia gênica, a imunoterapia e a “terapia anti-sense” que é uma forma de tratamento quando a seqüência de um gene particular é a causa de uma afecção determinada e que utiliza os oligonucleotídeos, que agem no citoplasma ou núcleo celular, para impedir a reprodução do agente causador da doença. O ácido nucléico “sintetizado” é cognominado oligonucleotídeo “antisense” porque sua seqüência de base é complementar ao mensageiro do gene ARN (mARN) que é chamado a seqüência “sense” de tal maneira um segmento sense do mARN “5”-AAGGUC-3 seria bloqueado pelo segmento do ARN anti-sense “3-UUCCAG-5”. Esse tipo de terapia gerou medicamentos, como o fomivirgen, usado no tratamento da retinite pelo vírus citomegálico. Doenças como a esclerose lateral amiotrófica, diabetes, glioma maligno, melanoma, carcinoma pancreático, dentre outras, estão sendo também pesquisadas^{14, 18, 23-24}.

Adenomas hipofisários são comumente benignos e são satisfatoriamente tratados pelos meios clássicos: farmacoterapia, cirurgia e radioterapia. Mas ocasionalmente os tumores não respondem a uma dessas formas de tratamento, ou o paciente desenvolve intolerância a essas formas de terapia, ou o tumor se torna invasivo, ou recidiva e torna o tratamento difícil. Isso vai depender da natureza do tumor se funcionante ou não funcionante, sua dimensão e o tipo da célula hormonal que o originou. Nesses exemplos, a terapia gênica pode prover uma nova modalidade para tratar esses tumores^{11-13, 16, 23-24, 36}.

A terapia gênica também está sendo estudada para meningiomas que se tornam inacessíveis ou agressivos³³ e que não podem ser curados com as estratégias correntes de tratamento. A transferência gênica com adenovírus dirigido para receptores específicos de tumores é muito eficiente em meningiomas primários. Esses vetores são agentes promissores para a terapia gênica dos meningiomas^{4-5, 7}.

É afirmado por alguns autores que o herpes simples oncolítico e outros vírus similares podem infectar e matar células cancerosas humanas sem afetar as células normais ou produzir doenças. Aqui se incluem o neuroblastoma pediátrico e tumores malignos da bainha de nervo periférico^{18-19, 21, 27}.

DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

As doenças neurodegenerativas, como a enfermidade de Alzheimer, envolvem a perda de um contingente de neurônios no córtex, nas partes basais cerebrais como lócus cerúleo e núcleo basal de uma maneira característica. Trabalho recente objetivando reduzir o progresso da demência de Alzheimer fez uso da derivação ventrículo-peritoneal do líquor céfalo-raquidiano, como opção neurocirúrgica, para desviar do encéfalo o peptídeo beta-amilóide principal componente das placas senis^{9, 22, 26, 29-30, 32}. A mesma perda difusa de neurônios acontece na doença de Parkinson, na qual os neurônios dopaminérgicos se acham esgotados²⁶ e a doença de Huntington na qual são os neurônios estriatais que se acham exauridos^{9, 18, 23, 37}. No caso dessas doenças, a disfunção de estruturas anatômicas específicas é um denominador comum. Há outras doenças neurodegenerativas no, entanto, como a esclerose múltipla, a doença de Tay-Sachs e doenças associadas à instabilidade de repetições trinucleotídicas como a atrofia dentato-rubro-palidolouisiana nas quais se identificam genes modificados reconhecidos como causadores de doença. A esclerose lateral amiotrófica envolvendo a degeneração dos cordões laterais e das células das pontas anteriores da medula proporcionam um desafio ao tratamento. A terapia definitiva para todas essas doenças provavelmente será atingida através de enxertos celulares, para restaurar a função, juntamente com estratégias para inocular fatores tróficos e de crescimento. Os procedimentos estereotáticos na neurocirurgia molecular proporcionam métodos adequados para a introdução de material genético no tecido cerebral. Microcateteres podem ser implantados estereotaticamente em direção a estruturas específicas, como na microinfusão de alto fluxo no globus pallidus (Figura 1). É também chamada de “convection-enhanced delivery” e constitui uma técnica eficiente de administração do vetor para sucesso na transferência gênica¹⁸⁻¹⁹. De uma maneira corrente as técnicas estereotáticas são aplicadas para procedimentos ablativos, neuroaumentativos e neuroendoscópicos, assim como dosagem radioativa, biópsia cerebral e terapia cirúrgica nas doenças psiquiátricas^{16, 21-24}.

Epilepsias

Um acesso neurocirúrgico estereotático para a terapia gênica em epilepsia pode ser utilizado para introduzir vetor viral transgênico ou células modificadas pela engenharia genética para atingir o foco



Figura 1. Microcateteres podem ser implantados por estereotaxia em direção a estruturas encefálicas, como no globus pallidus para objetivo terapêutico ou semiológico na sua visualização.

epileptógeno. O que a terapia gênica oferece como estratégia terapêutica na epilepsia é a possibilidade de corrigir o defeito epileptogênico subjacente e de uma maneira básica curar a epilepsia. As estratégias na terapia gênica têm sido aplicadas no tratamento de neoplasias cerebrais, doenças neurodegenerativas, doença de depósito lisossômico, doença de Parkinson e acidentes vasculares cerebrais com sucesso variável. Como medida terapêutica na epilepsia, a terapia gênica está ainda na sua infância, dependendo de extensa área de investigação^{17, 22}.

Introdução do ADN nas células cerebrais

Há vários métodos através dos quais o ADN pode ser introduzido nas células cerebrais. O acesso na terapia gênica é utilizado na introdução do material genético no sistema nervoso central. Esse procedimento admite dois protocolos, num, “in-vivo”, consiste em colocar o gene terapêutico dentro de um vetor e administrar diretamente no organismo; no outro, protocolo ex-vivo, algumas células-alvos são retiradas do organismo, essas células recebem o gene terapêutico e depois de tratadas são devolvidas para o organismo. No esquema da (Figura 2), o método ex-vivo é caracterizado pela introdução dos transgenes dentro da célula os quais são depois enxertados na medula, ao passo que no método in-vivo os vetores são empregados para introduzir os transgenes diretamente dentro da medula.

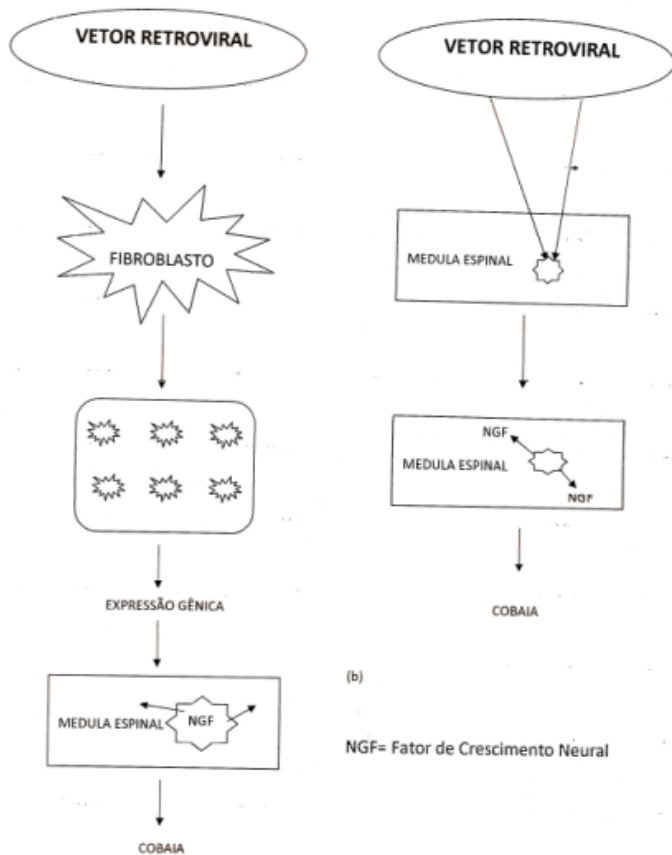


Figura 2. Transferência gênica ex-vivo(a): Após infecção viral in vitro com retrovírus conduzindo transgene terapêutico, fibroblastos crescessem em cultura. A expressão gênica pode ser verificada antes do transplante do fibroblasto para dentro da medula animal. Transferência gênico in vivo(b). Vetores retro virais conduzindo o transgene terapêutico são diretamente injetadas na medula da cobaia.

O vírus do herpes simples, o adenovírus, o vírus adenoassociado, o retrovírus e o vírus lento são os vetores mais usados na terapia gênica. A técnica chamada “convection-enhanced delivery”(CED) é eficiente na transferência gênica e a introdução do vetor adenoassociado é realizada de uma maneira atraumática num alvo escolhido no encéfalo (Figura 3). A natureza neurotrópica do vírus do herpes simples torna-o um bom candidato para a introdução do material genético no cérebro, mas seu longo período de latência e a resultante expressão gênica transitória constituem o maior obstáculo para o seu uso efetivo como um vetor genético^{17,19}.

Lesão traumática da medula espinhal

Os reforços moleculares do processo normal de cicatrização que se segue a uma lesão traumática da medula sugerem uma variedade de etapas havendo aí uma susceptibilidade de intervenção. Enquanto algumas dessas formas de intervenção na lesão medular como os corticosteróides possam ser introduzidas sistemicamente futuras terapias envolverão proteínas e moléculas que vão necessitar de introdução local. A necessidade de criar um alvo terapêutico na medula pode expandir o papel da neurocirurgia estereotáctica^{20,15}.

Estudos das células progenitoras neurais são amplamente divididos em estudos na ativação de células-tronco neurais “in situ”, ou estudos envolvendo transplante de células-tronco-neurais isoladas do cérebro

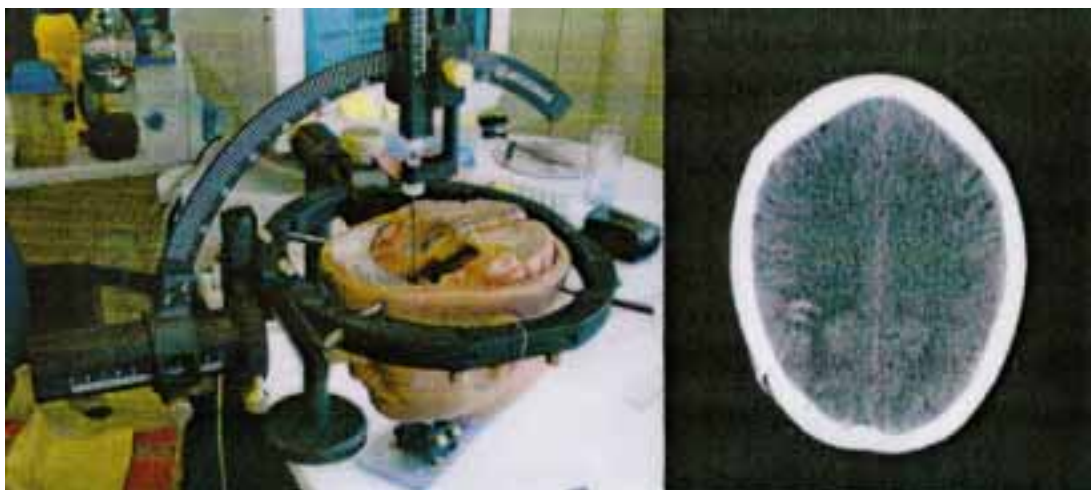


Figura 4. Técnica das neuroesferas. Tipo de cultivo celular sem soro no corpo estriado e medula de embrião murino. Este método é um estudo avançado da célula-tronco. Embora muitas dessas células não sobrevivam num meio sem soro, as sobreviventes se desenvolvem como agregados flutuantes ou “neuroesferas”.

ou medula. Pelo menos dentro da medula, as estratégias terapêuticas usando ativação de células-tronco neurais endógenas não se mostraram práticas, porque as células-tronco endógenas conquanto proliferem, só se diferenciam em astrócitos na medula traumatizada. Entretanto, a estratégia promissora para tratar a medula traumatizada ainda é a terapêutica de reposição neuronal^{10, 23-24, 30}.

Definição e cultura seletiva das células-tronco neurais

Estas células foram definidas como células neurais com potencialidade para se renovar e gerar os três tipos majoritários de células do sistema nervoso: os neurônios, os astrócitos e os oligodendrócitos. A figura 4 mostra num esquema uma técnica de cultura celular sem soro procedente do corpo estriado e medula espinal do embrião murino. Embora muitas dessas células não sobrevivam num meio sem soro, as sobreviventes se desenvolvem como agregados flutuantes ou “neuroesferas”. Este método se constituiu no maior avanço dentro da pesquisa da biologia das células-tronco. Trata-se de uma expansão clonogênica de células-tronco neurais em cultura flutuante, a cultura de neuroesferas, num meio isento de soro contendo fator epidérmico de crescimento e/ou fator de crescimento fibroblástico 2. Uma neuroesfera derivada de uma célula única é capaz de gerar as três linhagens majoritárias de células do sistema nervoso: neurônios, astrócitos e oligodendrócitos, indicando a multipotencialidade da célula iniciante da neuroesfera. Se a neuroesfera for dissociada em células únicas, cada célula dá início a uma neuroesfera secundária com alta frequência, mostrando a renovação celular^{22, 20, 24}.

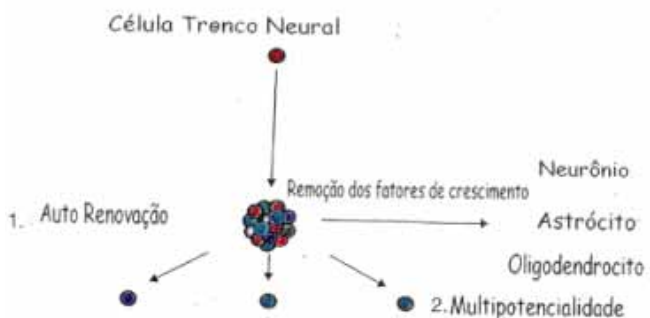


Figura 3. Em (A) o cálculo para emprego do esterotático num alvo atingido para a aplicação do CED (Convection-Enhanced Delivered) que em última análise é uma forma de introdução eficiente de material genético para o sucesso da transferência gênica.

Engenharia genética

Ou modificação genética são termos para designar o processo de manipulação dos genes num organismo, geralmente fora do processo reprodutivo normal. A engenharia genética a partir do estudo e manuseio biomolecular oferece a possibilidade de produzir materiais orgânicos sintéticos. A clonagem de genes é uma técnica largamente utilizada em microbiologia celular na identificação e na cópia de um gene determinado num organismo simples, como uma bactéria, empregado como receptor. Esse processo é usado na síntese de alguns subprodutos para o tratamento de várias doenças^{23, 29}.

Está no histórico da engenharia genética, o trabalho laureado de Crick e Watson que em 1953 receberam o premio Nobel, ao demonstrar a estrutura espacial do ADN, o código genético. Em 1972, na Universidade de Standford, California, Paul Berg ligou duas cadeias de ADN: uma animal e a outra bacteriana. Essa experiência é considerada o começo da criação sintética de produtos de engenharia genética^{10, 17, 20, 29}.

Conclusões

Durante a última década do século passado e os primeiros anos do século atual, a neurocirurgia tem passado por uma enorme mudança. Enquanto nos concentrávamos no manejo de hematomas, aneurismas, tumores cerebrais, hérnias de disco e tratamento de distúrbios do movimento, o futuro se delineava na aplicação de uma variedade de novos conhecimentos. Chamados simplesmente de moleculares esses conhecimentos começaram a mostrar-se amplamente aplicáveis ao manejo, diagnóstico e prevenção de doenças neurológicas graves. Como resultado tais conhecimentos vem modificando os paradigmas da neurocirurgia. Algumas técnicas da neurocirurgia estereotática e funcional, nascidas no século passado, passam a se integrar à biologia molecular e juntamente com a terapia gênica vem a se tornar multidisciplinar. De uma disciplina cirúrgica puramente ablativa, a neurocirurgia passa a ser também restaurativa comprometendo-se com as técnicas da terapia celular.

Referências

1. Bressel TAB, Paz AH, Baldo G, Lima EOC, Matte U, Saraiva-Pereira ML. An effective device for generating alginate microcapsules. *Genet Mol Biol* 31:136-140, 2008.
2. Bufo A, Zagrebelsky M, Huber AB, Skerra A, Schwab ME, Strata P, Rossi F. Application of neutralizing antibodies

- against NI-35/250 myelin-associated neurite growth inhibitory proteins to the adult rat cerebellum induces sprouting of uninjured purkinje cell axons. *J Neurosci* 20:2275-2286, 2000.
3. Caroni P, Schwab ME. Antibody against myelin-associated inhibitor of neurite growth neutralizes nonpermissive substrate properties of CNS White matter. *Neuron* 1:8-96, 1988.
 4. Cheney IW, Johnson DE, Vaillancour MT, Avancini J, Morimoto A, Demers GW, Wills KN, Shabram PW, Bolen JB, Tavitgian SV, Bookstein R. Suppression of tumorigenicity of glioblastoma cells by adenovirus-mediated MMAC gene transfer. *Cancer Res* 58:2331-2334, 1998.
 5. Dirven CM, Grill J, Lamfers ML, Van der Valk P, Leonhart AM, Van Beusechem VW, Haisma HJ, Pinedo HM, Curiel DT, Vandertop WP, Gerritsen WR. Gene therapy for meningioma: improved gene therapy delivery with targeted adenoviruses. *J Neurosurg*. 97:441-449, 2002.
 6. Coura RS, Nardi NB. A role for adeno-associated viral vectors in gene therapy. *Genet Mol Biol* 31:1-11, 2008.
 7. Dettweiler U, Simon P. Points to consider for ethics committees in human gene therapy trials. *Bioethics* 15:491-500, 2001.
 8. Fan X, Alto Y, Sanko SG, Knuutila S, Klatzmann D, Castresana JS. Genetic profile, PTEN mutation and therapeutic role of PTEN in glioblastomas. *Int J Oncol* 21:1141-1150, 2002.
 9. Freed WJ, Perlow MJ, Karoum F, Seiger A, Olson L, Hoffer BJ, Wyatt RJ. Restoration of dopaminergic function by grafting of fetal rat substantia nigra to the caudate nucleus: long-term behavioral, biochemical and histochemical studies. *Ann Neurol* 8:510-519, 1998.
 10. House P, Rao G, Coudwell W. Contemporary applications of functional and stereotactic techniques for molecular neurosurgery. *Principles of Molecular Neurosurgery* 18:124-145, 2005.
 11. Frisk T, Foukakis T, Dwight T, Lundberg J, Hoog A, Wallin G, Eng C, Zendenius J, Larsson C. Silencing of the PTEN tumor-suppressor gene in anaplastic thyroid cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 35:74-80, 2002.
 12. Fulst D, Pedone C. Immunocytochemical mapping of the phosphatase and tensin homolog (PTEN/MMAC1) tumor suppressor protein human gliomas. *Neuro-oncol* 2:71-79, 2000.
 13. Glenn GM, Cartterge S. Generation of adenovirus encoding the herpes simplex virus VHS gene: A novel strategy to generate adenovirus expressing genes toxic to produce cells. *Cancer Gene Ther* 8:566-572, 2001.
 14. Hemmings-Mieszczyk M, Dorn G, Natt FJ, Hall J, Wishart, WL. Independent combinatorial effect of antisense oligonucleotides and RNA-mediated specific inhibition of the recombinant rat P2X(3) receptor. *Nucleic acids Res* 31:2117-2126, 2003.
 15. Koutrouvelis PG, Lang E, Heilen R, Koulizakis EN. Stereotactic percutaneous lumbar discectomy. *Neurosurgery* 32:582-586, 1993.
 16. Levy, D. Reversão do fenótipo de resistência a múltiplas droga em células de sarcoma uterino humano: utilização de emulsão lipídica como veículo de oligonucleotídeos antisense. 2007. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Departamento de Clínica Médica, Universidade de São Paulo, São Paulo.
 17. Mandel RJ, Snyder RO, Leff SE. Recombinant adeno-associated viral vector-mediated glia cell line-derived neurotrophic factor gene transfer protects nigral dopamine neurons after onset of progressive degeneration in a rat model of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 160:205-214, 1999.
 18. Moura JC, Marinho AMN, Moura SM, Carlotti Jr CG. Avaliação do RNAm dos receptores de NMDA (NR1, NR2A e NR2B), e gaba (alpha 1, beta 1 e beta 2) em amígdalas de pacientes com esclerose mesial temporal (resultados preliminares). *Jr bras. Neurocirurg.*, 18:155, 2007.
 19. Ninsky C, Ganslandt O, Tomandi B, Buchfelder M, Fahlbusch R. Low field magnetic resonance imaging for intraoperative use in neurosurgery A 5-year experience. *Eur Radiol* 12:1690-2703, 2002.
 20. Nordhausen CT, Rousche PJ, Norman RA. Optimizing recording capabilities of the the Utah Intracortical Electrode Array. *Brain Res* 637:27-36, 1994.
 21. Okada T, Nomoto T, Shimazaki K, Lijun W, Lu Y, Matsushita T, Mizukami H, Urabe M, Hanazono Y, Kume A, Muramatsu S, Nakano I, Ozawa K. Adeno-associated virus vectors for gene transfer to the brain. *Methods* 28:237-247, 2002.
 22. Osberg S, Melien O, Tauboli E, Gjerstad L, Norwegian GenEpa Group. G protein beta3 subunit C825T polymorphism modifies the presentation of temporal lobe epilepsy. *Acta neurol Scand Suppl.* 188:62-66, 2008.
 23. Pereira LV. A importância do uso das células tronco para a saúde pública. *Cienc Saúde Coletiva*, 13:7-14, 2008.
 24. Perin EC. Terapia celular: novos conceitos-novas perspectivas. *Rev Bras Cardiol Invasiva* 16:10-11, 2008.
 25. Perlow MJ, Freed WJ, Hoffer BJ, Seiger A, Olson L, Wyatt RJ. Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science* 204:643-647, 1979.
 26. Prestel J, Gempel K, Hauser TK, Schweitzer K, Prokisch H, Ahting U, Fraudenstein D, Bueltmann E, Naegel T, Berg D, Kiopstock T, Gasser T. Clinical and molecular characterisation of a Parkinson family with a novel PINK1 mutation. *J Neurol* 255:643-648, 2008.
 27. Ramachandran S, Knickelbein JE, Ferco C, Hendricks RL, Kinchington PR. Development and pathogenic evaluation of recombinant herpes simplex virus type 1 expressing two fluorescent reporter genes from different lytic promoters. *Virology* 378:254-264, 2008.
 28. Rainov NG. A phase III Clinical evaluation of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase and ganciclovir gene therapy as an adjuvant to surgical resection and radiation in adults with previously untreated glioblastoma multiforme. *Hum Gene Ther* 11:2389-2401, 2000.
 29. Rosa MP, Baroni GV, Portal VL. Contribuição na prevenção da isquemia cerebral pelo cilostazol, um inibidor da fosfodiesterase III: revisão da literatura. *J.Vasc.bras* 7:49-55, 2008.
 30. Schwandt TT, Barnabé GF, Melo LEAM. Proliferar ou diferenciar? Perspectivas de destino das células-tronco. *J Bras Neurocirurg* 16:13-19, 2005.

31. Schulder M, Sernas TJ, Carmel PW. Cranial surgery and navigation with a compact intraoperative MRI system. *Acta Neurochir Suppl*, 85:79-86, 2003.
32. Silverberg GD, Levinthal E, Sullivan EV, Bloch DA, Chang SD, Leverenz J, Flitman S, Winn R, Marciano F, Saul T, Huhn S, Mayo M, McGuire D. Assessment of low-flow CSF drainage as a treatment for AD: results of a randomized pilot study. *Neurology* 59:1139-1145, 2002.
33. Sutherland GR, Kaibara T, Louw DF. Intraoperative MR at 1.5 Tesla-Experience and future direction. *Acta Neurochir Suppl*. 85:21-28, 2003
34. Taguchi A, Yanagisawa M, Cao K, Matsuyama Y, Goto H, Takahashi T. Identification of hypoxia-inducible factor-1 alpha as a novel target for miR-17-92 microRNA cluster. *Cancer Res* 68:5540-5545, 2008.
35. Vitz TW, Hushek S, Shields CB, Moriarty T. Intraoperative MRI for pediatric tumor management. *Acta Neurochir Suppl*. 85:73-78, 2003.
36. Wasco R, Jaskula M. Aspectos clínicos y moleculares de los tumores hipofisarios. *Salud cienc* 15:1250-1254, 2008.
37. Xia CF, Boado RJ, Zhang Y, Chu C, Pardridge WM. Intravenous glial-derived neurotrophic factor gene therapy of experimental Parkinson's disease with Trojan horse liposomes and a tyrosine hydroxylase promoter. *J Gene Med* 10:306-15, 2008.