

Universidad de La Laguna

Escuela de Doctorado y Estudios de Posgrado

Trabajo de Fin de Máster

Virus Zika: ¿Qué sabemos sobre las causas del síndrome congénito y las complicaciones neurológicas que ocasiona?

Florencia Giné

Máster en Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Tropicales
2019-2020

Tutor académico: Prof. Dr. Agustín Valenzuela Fernández

5 de julio de 2020

Índice

1. OBJETIVOS	3
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESUMEN Y ABSTRACT	3
4. RESULTADOS	4
4.1 Introducción y epidemiología de las manifestaciones neurológicas de ZIKV	4
4.2 Transmisión.....	8
4.3 Diagnóstico.....	10
4.4 ZIKV: estructura, inmunidad y fisiopatogenia de las complicaciones neurológicas.....	11
4.5 Complicaciones neurológicas y síndrome congénito: manifestaciones clínicas.	25
4.6 Tratamiento	27
5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	32
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

1. OBJETIVOS

El presente trabajo de fin de máster tiene como propósito abordar el problema de salud pública mundial asociado a la infección por el virus Zika (ZIKV) y, en concreto, la reciente descripción de las complicaciones neurológicas y el síndrome congénito relacionados con ella. En este sentido, los dos objetivos principales de este trabajo son:

- Revisar exhaustivamente el conocimiento sobre las causas, a nivel molecular, celular y viral, que subyacen a los efectos teratogénicos y complicaciones neurológicas debidas al ZIKV.
- Revisar las potenciales terapias que se desarrollan.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración de este trabajo, se realizó una búsqueda bibliográfica en la base de datos PubMed (National Library of Medicine) bajo los términos de búsqueda MeSH: "Zika virus infection", "Zika Virus Infection/complications"[MAJR], "Congenital Zika Syndrome", "Placenta/virology", "Antiviral agents", "Viral vaccines", con el uso del conector "AND", formato de vista resumen, orden por fecha de publicación, y con los filtros de publicaciones de los últimos 10 años. Se analizaron artículos y revisiones científicas, así como los documentos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y Organización Panamericana de la Salud (OPS).

3. RESUMEN Y ABSTRACT

Resumen: La infección emergente por el virus Zika (ZIKV) se ha convertido en la primera y más importante enfermedad infecciosa, en más de medio siglo, relacionada con defectos congénitos humanos, y de las pocas en ser declaradas por la OMS como Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional. Desde su descubrimiento en 1947, la modificación genómica sufrida a lo largo de su expansión geográfica mundial ha determinado su carácter neurovirulento, y la posibilidad de transmisión interhumana. Dado que no se conocen por completo las causas de las complicaciones neurológicas, tanto en adultos como recién nacidos, y tampoco se cuenta con un tratamiento específico, es objeto de este trabajo revisar el conocimiento actual a este respecto y realizar una propuesta de posibles dianas terapéuticas.

Abstract: Over the last half a century, the emerging Zika virus (ZIKV) infection has become the first and most important infectious disease in relation to human birth defects. Additionally, it is one of the few to be declared by the WHO as a Public Health Emergency of International Concern. Since its discovery in 1947, the genomic modification has fought through global geographic expansion which has determined its neurovirulent character, and the possibility of interhuman transmission. The causes of neurological complications are not fully understood in adults nor newborns and there is no specific treatment. Therefore, the objective of this work is to review current knowledge in this matter and make a proposal for possible therapeutic targets.

4. RESULTADOS

4.1 Introducción y epidemiología de las manifestaciones neurológicas de ZIKV

El virus ZIKV pertenece a la familia *Flaviviridae*, género flavivirus, fue descubierto en 1947 en un macaco rhesus del bosque Zika en Uganda¹ (Figura 1). Posteriormente, se aisló de mosquitos del género *Aedes* y se describieron los primeros casos en humanos en África y Asia². Los dos linajes principales de ZIKV, africano y asiático, se formaron en este tiempo, confirmado por estudios y análisis filogenéticos³.

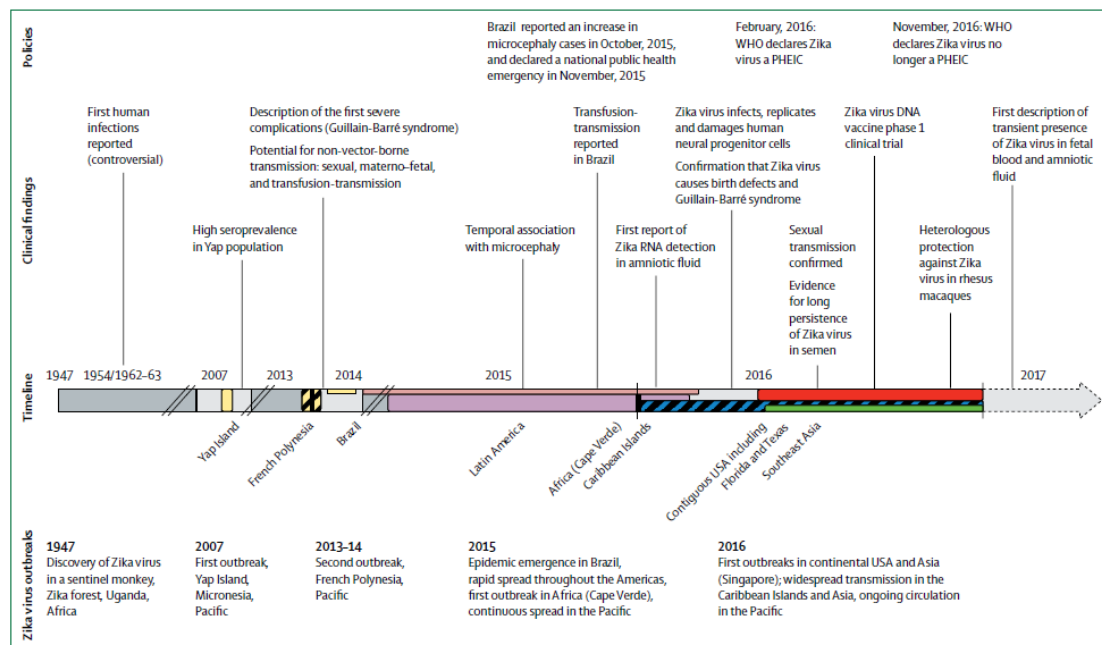


Figura 1. Cronología en la infección por ZIKV (1947-2017). Se resumen los principales eventos desde su aislamiento, hallazgos clínicos y complicaciones neurológicas en los sucesivos brotes en el mundo. Figura adaptada de Baud *et al.* (2017)¹.

Fue en el año 2007 con el brote en la Isla Yap (Micronesia), que afectó al 73% de su población, donde se dio comienzo a un nuevo capítulo en la historia epidémica de ZIKV^{1,3} (Figura 2). Mientras el virus se expandía, desde África y Asia, hacia la Polinesia y Micronesia, modificó su patogenicidad hacia un linaje asiático neurovirulento, con el consiguiente aumento de anomalías congénitas³. El primer caso de Síndrome de Guillain-Barré (SGB) como complicación de esta infección, no se describió hasta 2013, en el brote de la Polinesia Francesa (con un total de 42 casos²), junto a que la transmisión del ZIKV podría ocurrir a través de la sangre u otros fluidos corporales, y no sólo a través de las picaduras de mosquitos³. En marzo de 2014, la Polinesia Francesa reporta, por primera vez, evidencia de transmisión transplacentaria en la infección por ZIKV².

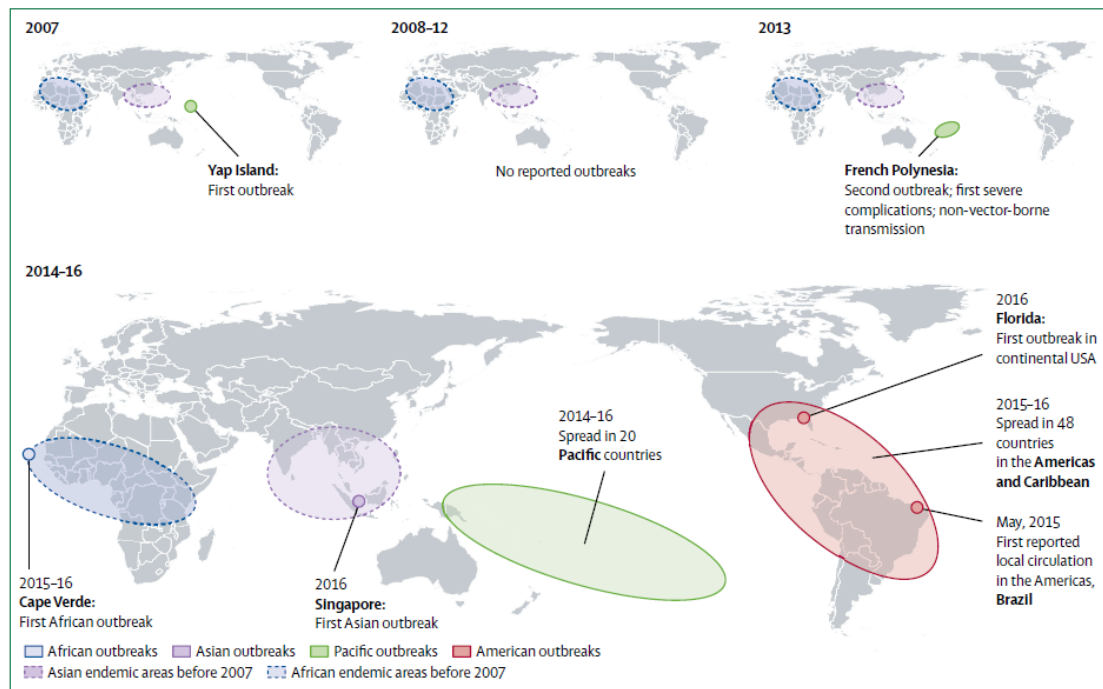


Figura 2. Distribución mundial de ZIKV. Se observa la distribución cronológica mundial de brotes entre los años 2007 y 2016. Ilustración adaptada de Baud *et al.* (2017)¹.

El ZIKV ha atraído la atención internacional debido a su rápida expansión mundial desde 2015, cuando se registró una epidemia en Brasil, que resultó en una patología recientemente identificada como Síndrome Congénito del ZIKV (SCZ)³. Esto condujo a que el 1 de febrero de 2016, la OMS declarase una de las pocas Emergencias de Salud Pública de Importancia Internacional (ESPII), y recomendase intensificar las actividades de vigilancia e investigación sobre la relación entre los nuevos clústeres de casos de microcefalia y otros trastornos

neurológicos⁴. Para enero de 2018, en las Américas, se reportaron más de 3.700 defectos congénitos asociados a la infección por ZIKV⁵.

La infección por ZIKV, se convirtió así en la primera y más importante enfermedad infecciosa, en más de medio siglo, relacionada con defectos congénitos humanos^{6,7} (Figura 3).

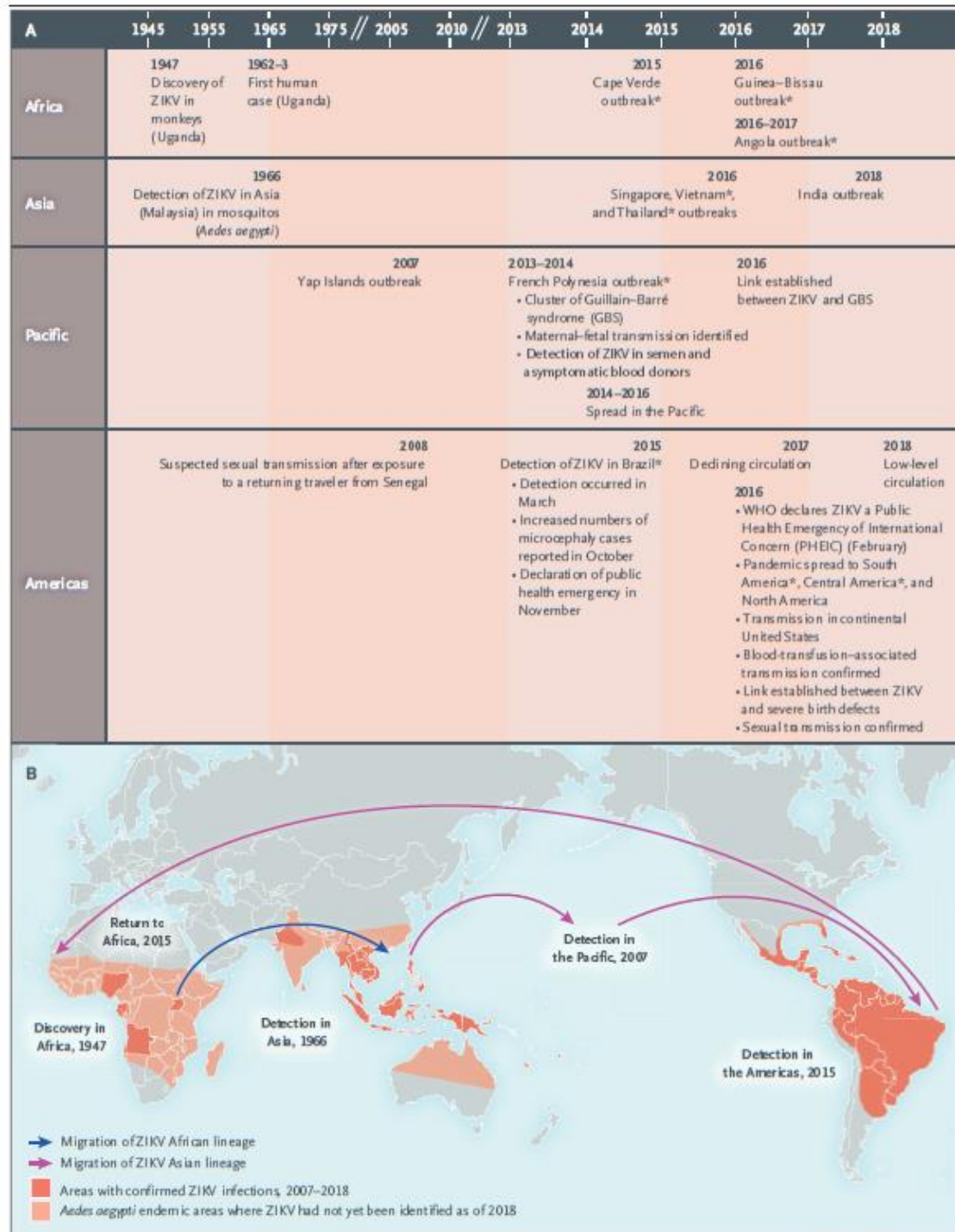


Figura 3. Emergencia y propagación de la pandemia por ZIKV. Panel A: muestra los eventos epidemiológicos relevantes desde su descubrimiento en 1947 hasta 2018, incluyendo los brotes asociados con defectos congénitos. **Panel B:** muestra el mapa de casos confirmados (rojo) y las áreas donde *A. aegypti* es endémico (rosa) pero donde ZIKV no había sido identificado hasta el 2018. Las flechas muestran la migración de los linajes africano (azul) y asiático (violeta) durante la emergencia mundial. Figura adaptada de Didier Musso *et al.* (2019)⁵.

4.2 Transmisión

Al considerar la forma de transmisión, pueden clasificarse en aquellas formas que presentan adecuada evidencia y aquellas con evidencia limitada⁸ (Tabla 1). En el primer caso se encuentra la forma de transmisión más frecuente, por mosquitos vectores, particularmente del género *Aedes* (Figura 4). Se ha descrito que el linaje africano se transmite mejor a través de los mosquitos, y que las cepas de ascendencia asiática, pudieran haber mejorado su capacidad de transmisión a través de las relaciones sexuales³. Es de destacar que la transmisión a través del semen, podría potencialmente dar acceso al virus a un estadio embrionario temprano⁹.

Tabla 1. Vías de transmisión de ZIKV: clasificación según el nivel de evidencia.

VÍAS DE TRANSMISIÓN DE ZIKV	
ADECUADA EVIDENCIA	ESCASA EVIDENCIA
<ul style="list-style-type: none">- VECTORIAL (mosquitos del género <i>Aedes</i>)- TRANSPLACENTARIA- SEXUAL	<ul style="list-style-type: none">- SANGRE Y HEMODERIVADOS (TRASPLANTE DE ÓRGANOS, TRANSFUSIÓN)- LACTANCIA MATERNA⁴- PERINATAL- OCULAR³- OTROS FLUIDOS CORPORALES (SUDOR)¹

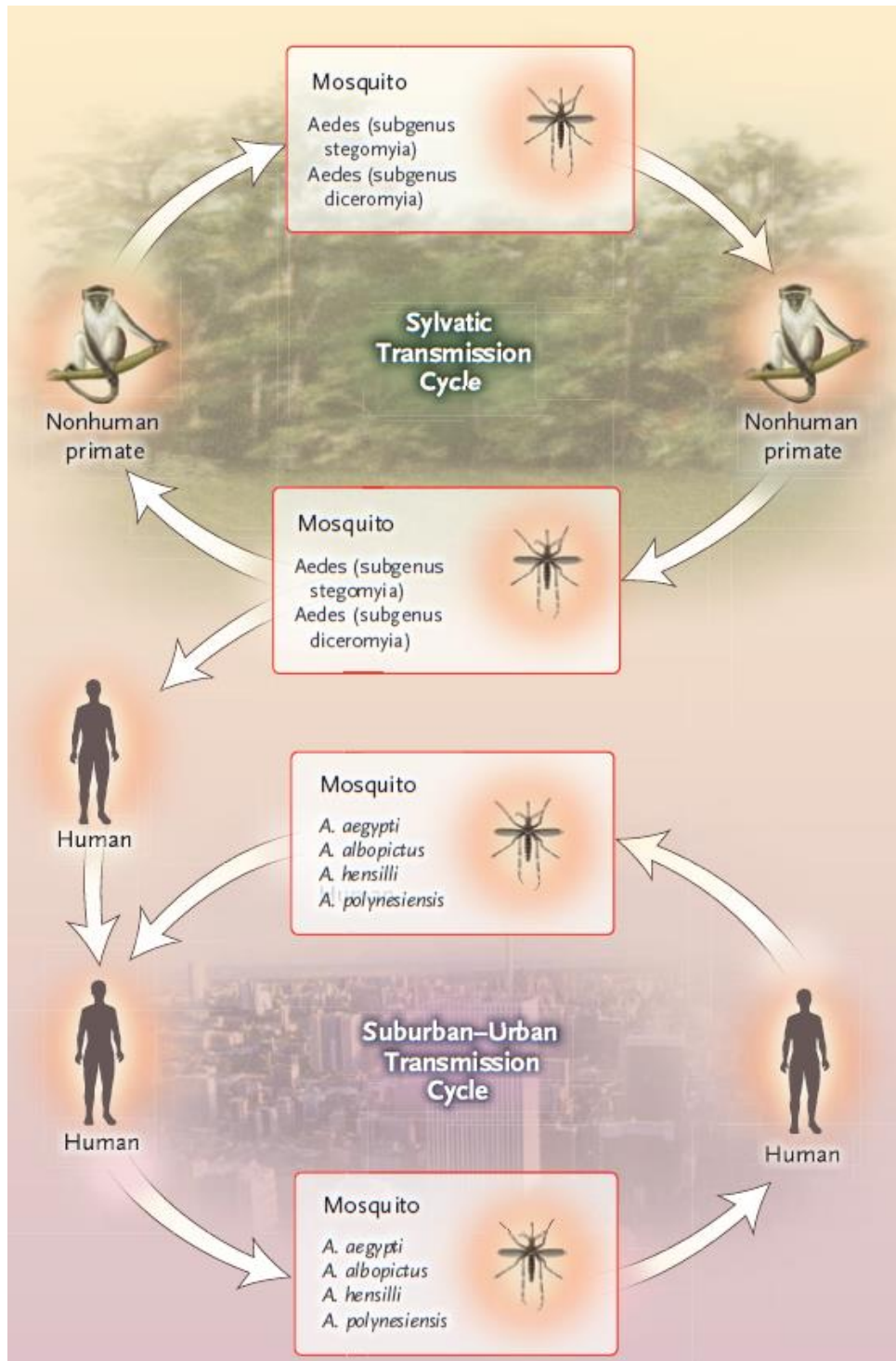


Figura 4. Ciclos de transmisión de ZIKV. Arriba: en África ZIKV circula en un ciclo selvático entre primates no humanos y ciertas especies del mosquito *Aedes*, y pueden ocurrir infecciones esporádicas en humanos. Abajo: en ciclos urbanos/suburbanos, se transmite desde mosquitos (principalmente *A. aegypti*) a humanos. Otras especies de *Aedes* implicadas son *albopictus*, *hensilli*, y *polynesiensis*. Figura adaptada de Petersen *et al.* (2016)⁶.

4.3 Diagnóstico

El diagnóstico se basa en aspectos clínicos y epidemiológicos, junto con técnicas de laboratorio que permiten demostrar la presencia o contacto con el virus. Para ello, se utiliza un algoritmo (Figura 5) que requiere, según la epidemiología local, de la detección en paralelo de otros arbovirus como Dengue y Chikunguyna⁴. Dada la similitud genómica entre los flavivirus, las técnicas utilizadas en la detección de esta infección pueden arrojar tanto resultados falsos positivos como falsos negativos^{4,5}, por lo que el diagnóstico resulta muchas veces de probabilidad.

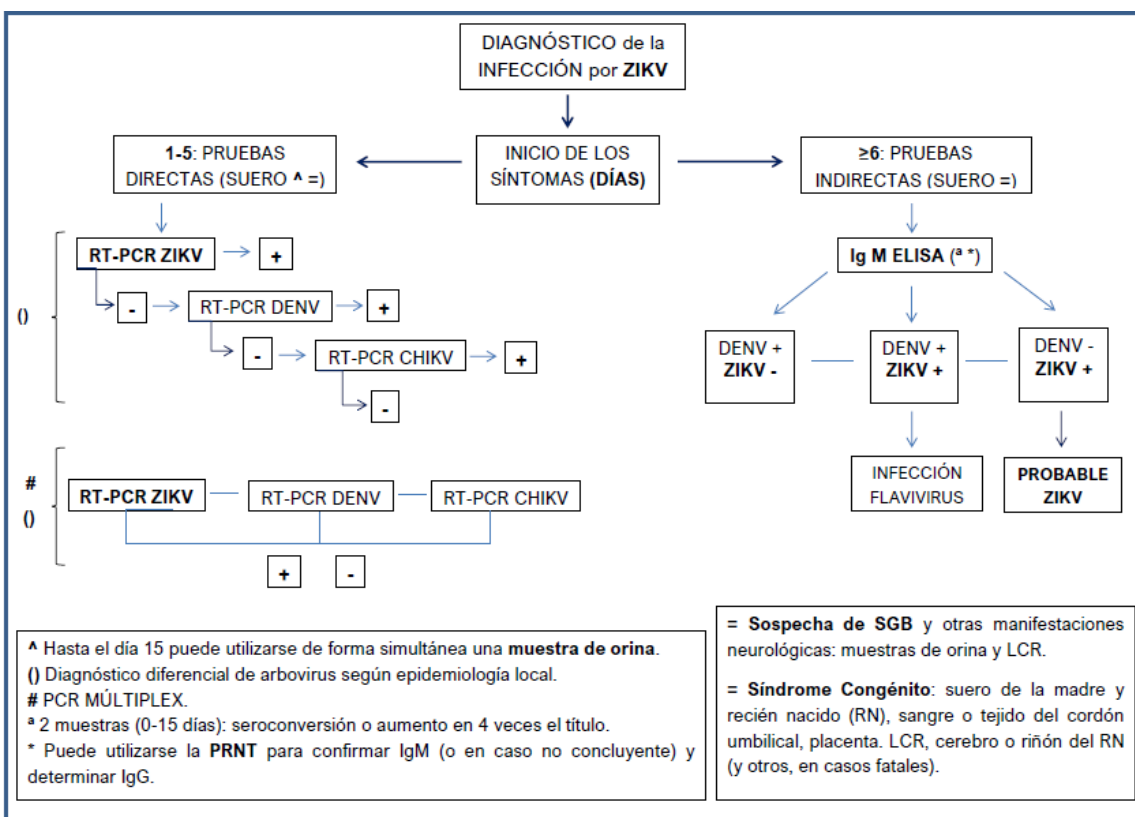


Figura 5. Algoritmo diagnóstico de la infección por ZIKV. El diagnóstico se basa, según el tiempo de inicio de los síntomas, en la detección del genoma viral por técnica de RT-PCR o mediante pruebas indirectas serológicas (ELISA Ig M e Ig G). La PRNT se realiza sólo en laboratorios de referencia⁴. Abreviaturas: RT-PCR: Transcripción Reversa y Reacción en Cadena de la Polimerasa; ELISA: enzimoimmunoanálisis de adsorción; PRNT: prueba de neutralización por reducción de placas; DENV: virus del dengue; CHIKV: virus Chikunguyna; LCR: líquido cefalorraquídeo.

La confirmación de una infección fetal durante el embarazo es un gran desafío, ya que la detección de ARN viral en sangre, líquido amniótico u orina, puede ser transitoria o negativa a pesar de una infección comprobada. Por el contrario, ZIKV puede detectarse en embarazadas o líquido amniótico en ausencia de

anormalidades fetales¹. Un test positivo denota la presencia de ARN viral, pero no necesariamente indica la presencia de una forma viral infecciosa⁵.

4.4 ZIKV: estructura, inmunidad y fisiopatogenia de las complicaciones neurológicas

Las bases moleculares del tropismo cerebral del ZIKV son poco conocidas¹⁰, y el mecanismo por el cual se dirige a las células placentarias en desarrollo es aún motivo de intenso estudio⁷. ZIKV parece tener una preferencia por células progenitoras neurales (NPC, por sus siglas en inglés) del cerebro en desarrollo y, en casos más raros, algunas áreas del cerebro adulto. La infección temprana se asocia con interrupción de la proliferación y muerte celular^{1,10}. ZIKV podría inducir la muerte celular propiciando un ambiente proinflamatorio citotóxico en el SNC¹¹. Mecanismos adicionales como la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica (BHE), el acceso a células cerebrales y/o inflamación asociada a la infección, podrían explicar la variedad y el alcance de las manifestaciones clínicas neurológicas¹⁰.

Si nos centramos en el virus, su genoma consiste en una única cadena de ARN positiva, que codifica una poliproteína que se divide en tres proteínas estructurales: cápside (C), precursor de membrana (prM) y envoltura (E), y siete proteínas no estructurales: NS1-5^{3,7} (Figura 6).

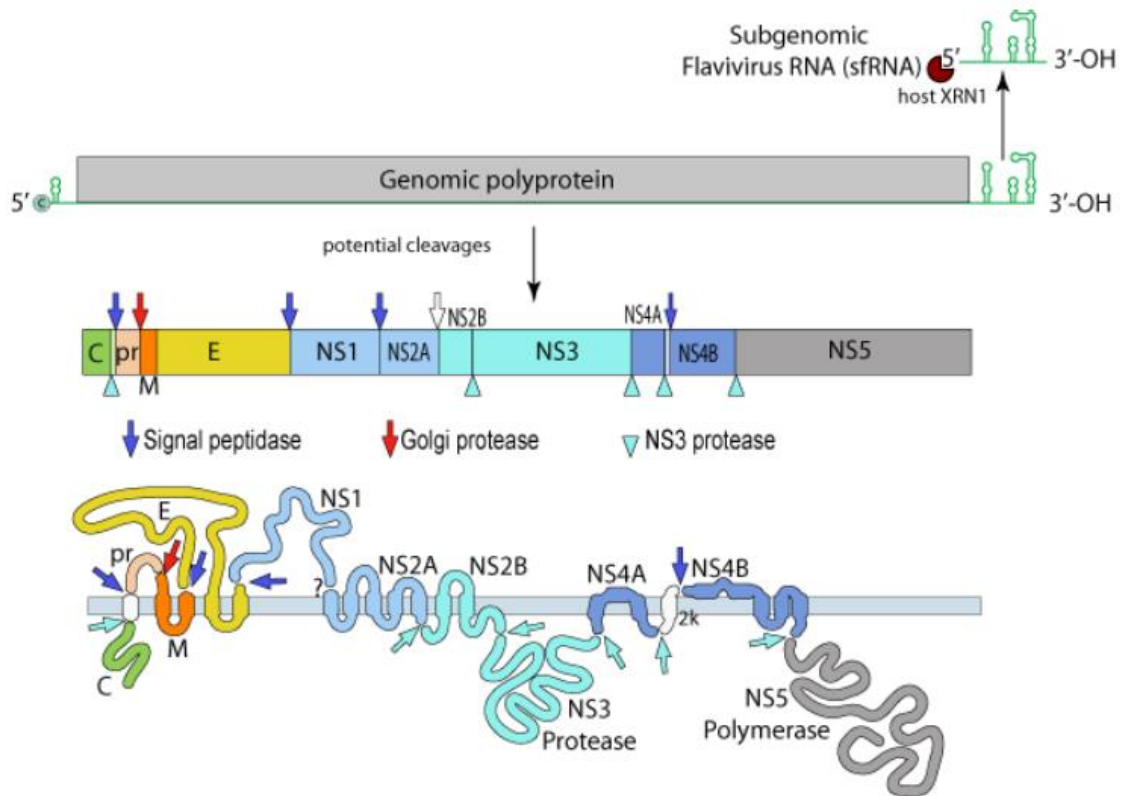


Figura 6. Estructura genómica de ZIKV: proteínas estructurales (C, prM, E), no estructurales (NS1-5) y ARN subgenómico (sfRNA). La proteína prM se procesa para formar viriones maduros, y la proteína E está implicada en la unión y fusión celular. Las proteínas NS1-NS5 participan en la replicación viral³. La estructura en bucle del extremo 3' conduce a la formación de ARN de flavivirus subgenómico (sfRNA), esencial para la patogenicidad y puede desempeñar un papel en la inhibición de la actividad antiviral del huésped³. Figura adaptada del fondo de ilustraciones del Swiss Institute of Bioinformatics¹².

ZIKV induce, como otros flavivirus, una respuesta humoral de anticuerpos que se cree duradera a lo largo de la vida, protegería frente a la reinfección (Figura 7) y la respuesta inmune sería protectora para ambos linajes¹.

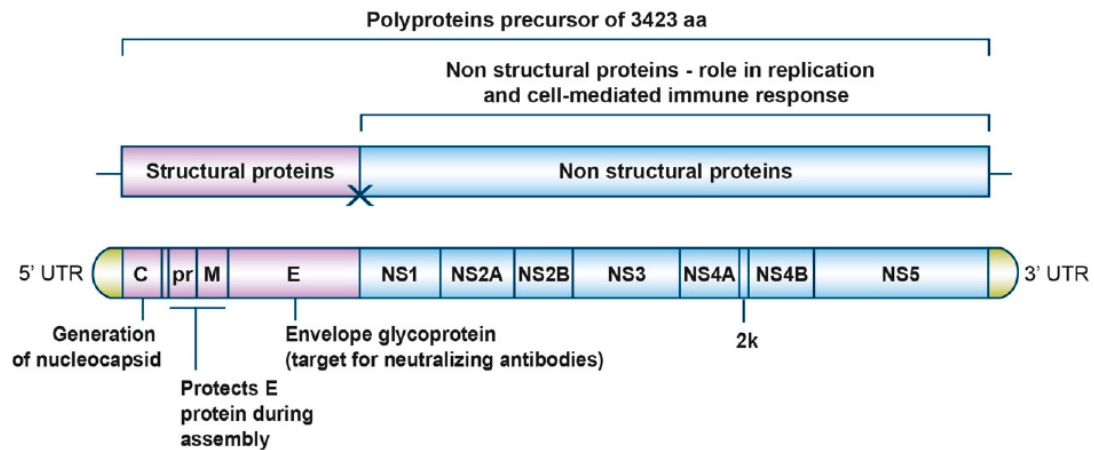


Figura 7. Estructura en detalle del genoma de ZIKV y su función en el ciclo viral. El ARN viral codifica una poliproteína que se escinde en proteínas estructurales (C, prM/M y E) y proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, and NS5). Destaca la importancia de la proteína E para la producción de anticuerpos neutralizantes y de las proteínas NS en la respuesta inmune mediada por células. Ilustración adaptada de Baz *et al.* (2019)¹³.

Estudios *in vitro* demuestran que la infección por ZIKV podría ser facilitada a través de la reacción cruzada con anticuerpos heterólogos inmunogenerados frente a otros flavivirus (DENV, por ejemplo)¹. Este fenómeno se conoce como amplificación dependiente de anticuerpos (ADE, por sus siglas en inglés). Se especula con la posibilidad que estos anticuerpos pudieran unirse a ZIKV y facilitar su ingreso al compartimiento fetal¹⁴. Por otra parte, otros estudios sugieren que los anticuerpos DENV de reacción cruzada podrían reducir el riesgo de infección y enfermedad, e incluso reducir la gravedad de la infección congénita por ZIKV^{5,7}.

Existe la sospecha de que los anticuerpos anti-ZIKV reaccionan de forma cruzada con ciertas proteínas del sistema nervioso central y periférico en adultos contribuyendo a la aparición de síntomas neuropatológicos.

La patogenia del SGB asociado a ZIKV es aún desconocida y se proponen mecanismos de daño directo, respuesta inmune hiperaguda, o mimetismo molecular frente a antígenos del sistema nervioso¹. Otro factor implicado podría ser la presencia a largo plazo de ZIKV en el líquido cefalorraquídeo durante semanas luego de la eliminación periférica del virus¹⁵.

De importancia, son los componentes subgenómicos no codificantes de ARN (sfARN) (Figura 6), relacionados con la reducción de la transcripción de interferón tipo I (INF). Este efecto sería más amplio para ZIKV que para otros flavivirus, y, en última instancia, la inhibición en la producción y señalización de la respuesta de INF tipo I resulta en una respuesta inmune innata atenuada y

una alteración de respuesta específica de células T³. La proteína NS5 genera una respuesta diferencial de INF tipo I y tipo II durante la infección, inhibiendo específicamente la señalización de IFN-β y funcionando simultáneamente como un activador de la señalización (Figura 8)³. Al interferir con la señalización de IFN, ZIKV puede suprimir el comportamiento antiinflamatorio de células inmunes de la interfaz materno-fetal, necesario para permitir un ambiente de tolerancia inmunológica para el desarrollo fetal¹⁴.

Es interesante el dato de Brasil, donde individuos que desarrollaron síntomas neurológicos, presentaron una mayor concentración de citoquinas proinflamatorias en sangre (IL-6, IL-7 e IL-8), así como mayores niveles de moléculas quimiotácticas (IP-10 y MCP-1)³.

ZIKV produce, además, la activación de dos vías mayores de señalización celular que controlan la producción de citoquinas inflamatorias, conocidas como NF-κB y STAT¹¹ (Figura 9).

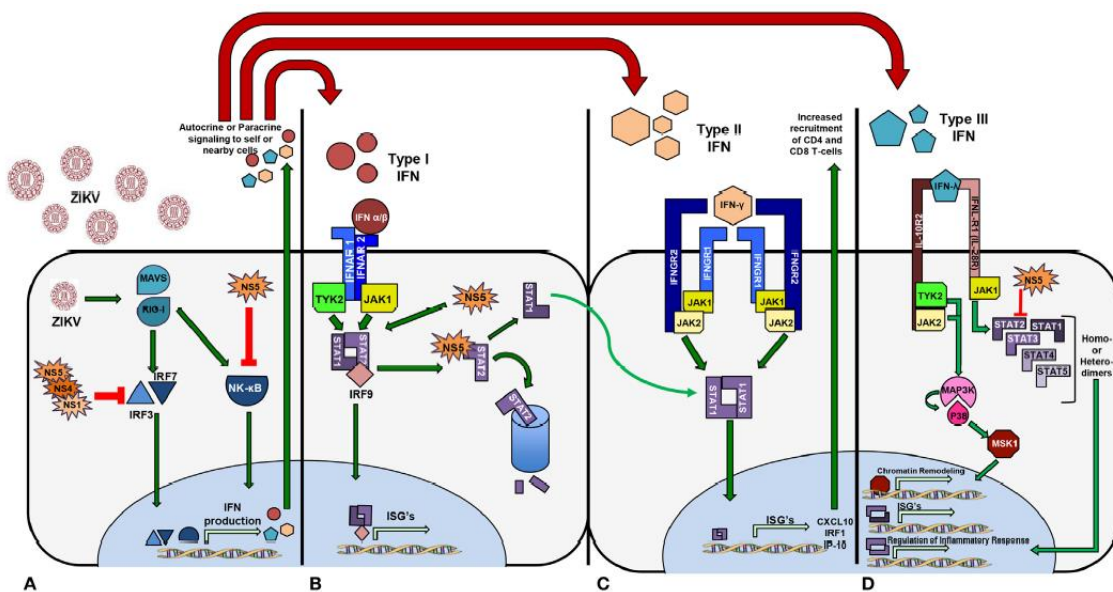


Figura 8. ZIKV e IFN: la activación diferencial de ZIKV sobre las vías de señalización promueve la transcripción de genes de interferón (IFN). **(A)** La proteína NS5, del linaje africano, inhibe la función NF-κB. Por su parte, NS5, NS4 y NS1, del linaje asiático, actúan inhibiendo la función de IRF3 e IRF7, y por tanto, la producción de IFN. **(B)** IFN tipo I fosforila STAT1 y STAT2. NS5 degrada a STAT2. **(C)** La activación de la señalización de IFN tipo II y la fosforilación de los heterodímeros STAT1, aumenta la transcripción de genes quimioatrayentes. **(D)** La degradación proteosómica de NS5 sobre STAT2 resulta en una mayor homodimerización de STAT, y, por ende, en una regulación positiva de citoquinas antiinflamatorias. Figura adaptada de Beaver *et al.* (2018)³.

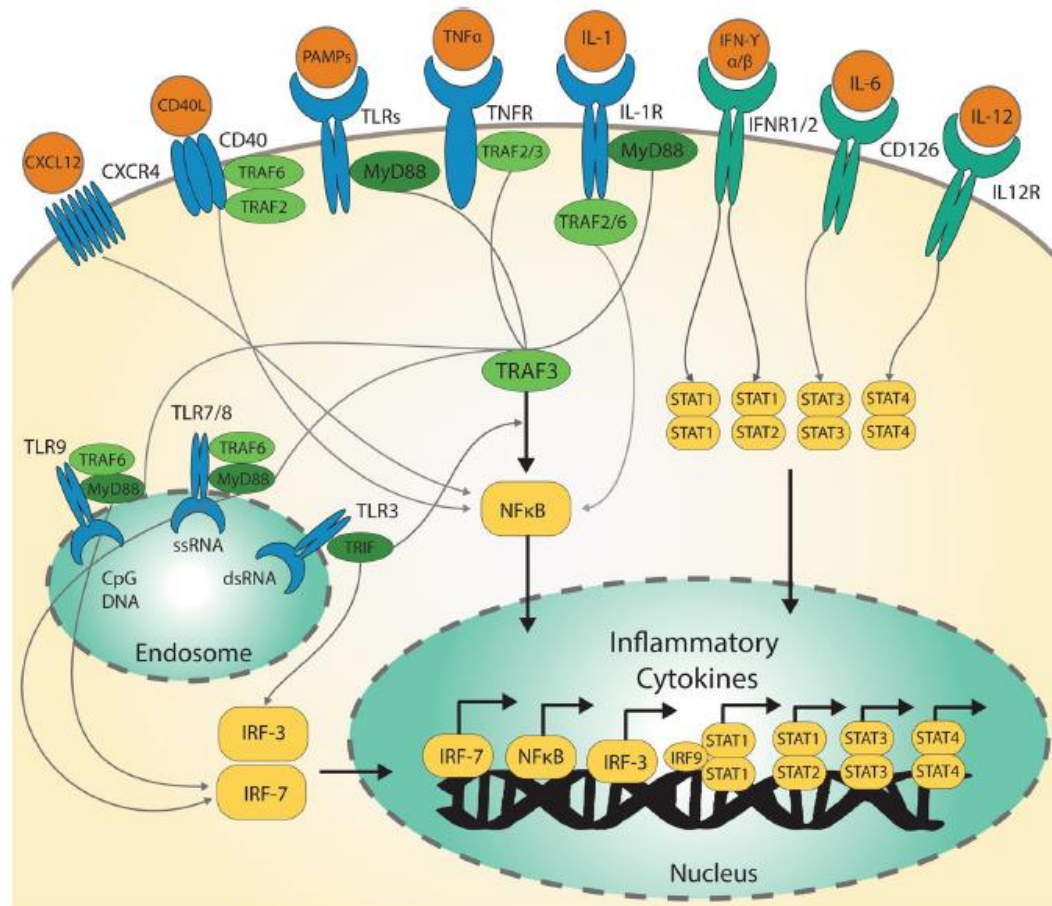


Figura 9. ZIKV y citoquinas inflamatorias. Se muestra la activación de las vías de señalización de NF-κB y STAT en NPCh infectadas con ZIKV. Las citoquinas (IL-1 y TNF-α), PAMP, CD40 y CXCL12 interactúan con sus receptores dando como resultado la activación de la vía NF-κB. La unión de IFN-γ, IL-6 e IL-12 a sus receptores induce la dimerización y translocación de STAT al núcleo. La activación de las vías de señalización canónicas NF-κB y STAT da como resultado la producción de numerosas citoquinas inflamatorias. Figura adaptada de Rolfe *et al.* (2016)¹¹.

Existen diferencias en las secuencias genómicas de cepas pre y pos epidémicas y entre los linajes africano y asiático, incluso este último, ha aumentado sus variantes desde el año 2007. Se cree que mínimas modificaciones pueden tener un gran impacto fenotípico, incluso en la evolución de una misma cepa³. Entonces, resulta evidente, que la evolución génica de ZIKV ha resultado en un incremento de su patogenicidad¹⁶. Asimismo, la continua divergencia del linaje asiático podría también favorecer la transmisión interhumana sin la participación de un vector³. Cabe destacar que la evolución de ZIKV depende además de las modificaciones del mosquito vector, y, por lo tanto, de factores como el crecimiento poblacional, dispersión geográfica (viajes y comercio internacional) o cambio climático³. El hecho de que la región noreste de Brasil mostrara una incidencia 10 veces superior de casos de SCZ comparada con otras regiones, sugiere la existencia de factores

adicionales desconocidos¹⁷. Un estudio reciente, describe que la saxitoxina (STX), una neurotoxina producida por cianobacterias de agua dulce (*Raphidiopsis raciborskii*), podría haber contribuido a empeorar la gravedad del SCZ durante la epidemia en esa región¹⁸.

Respecto de las proteínas virales, se cree que la neurovirulencia podría depender de la glicosilación de la proteína E (residuo Asn154), observada en las cepas asiáticas, pero no en las africanas. La cepa Natal RGN de Brasil fue aislada del cerebro de un feto con microcefalia, y contenía la mitad sus mutaciones en el gen NS1, sugiriendo que una evolución específica de tejido ha contribuido a la aparición del SCZ³.

La única sustitución del aminoácido serina por asparagina (S139N) en la proteína prM de ZIKV crea una adaptación funcional que facilita e incrementa sustancialmente su infectividad, correlacionándose con los reportes de microcefalia, SGB y otras alteraciones neurológicas severas. Este efecto ha sido demostrado sobre NPC tanto en modelos animales como humanos. Análisis evolutivos revelan que S139N surgió previo al brote de la Polinesia Francesa, manteniéndose estable durante su propagación por América¹⁹.

En consideración a los receptores potenciales de ZIKV y daño neurológico, modelos de secuenciación e inmunohistoquímica revelan que el receptor Axl se expresa en NPC humanas (NPCh), en células gliales y astrocitos del cerebro humano en desarrollo (Figura 10). Axl pertenece a un grupo de receptores de tirosín quinasa (TAM) involucrados mecanismos de apoptosis y regulación de la respuesta inmune innata^{10,20}. Axl promueve la entrada viral y también interfiere con la señalización de interferón tipo I (IFN) facilitando la infección¹⁰.

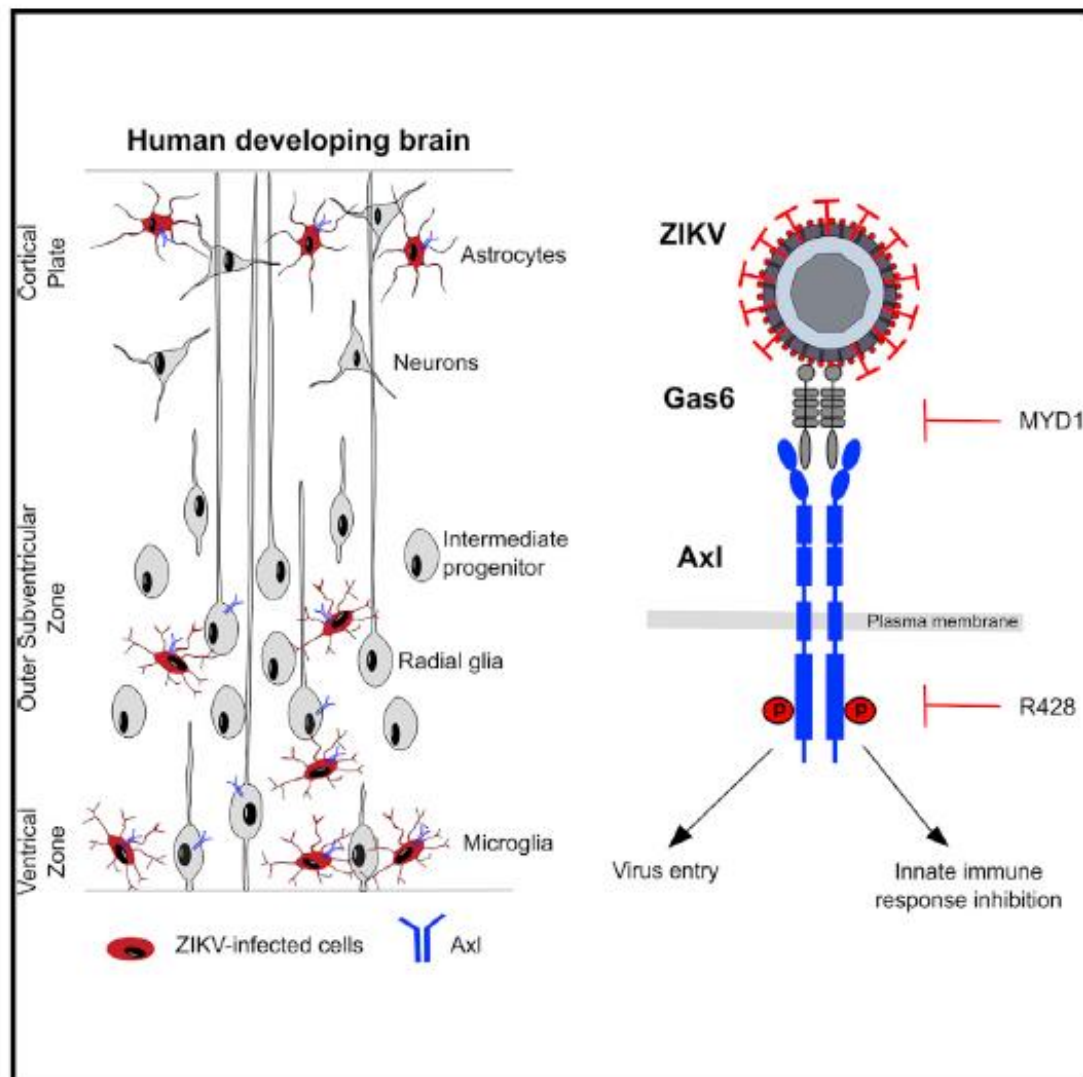


Figura 10. Izquierda: se observa el sitio de infección de diferentes células del tejido nervioso humano en desarrollo. Las células microgliales y los astrocitos en el cerebro humano en desarrollo expresan Axl. **Derecha:** interacción entre ZIKV y el receptor Axl (responsable de la entrada viral y respuesta inmune inhibitoria), su ligando (Gas6) e inhibidores (del receptor señuelo: MYD1; y de la quinasa Axl: R428). Ilustración adaptada de Meertens *et al.* (2017)¹⁰.

En adición a lo anterior, luego de la infección de células madre neurales fetales humanas (NSC, por sus siglas en inglés), las proteínas NS4A y NS4B de ZIKV cooperan e inhiben la vía de señalización Akt-mTOR (Figura 11), con la consecuente irrupción de la neurogénesis e inducción aberrante de autofagia. Akt es la molécula de señalización central en la vía PI3K, y juega papeles críticos en el desarrollo cerebral y la plasticidad sináptica²¹. Un estudio realizado en gemelos, indica que existiría una predisposición genética individual para incrementar la señalización de mTOR, y por tanto la autofagia y eliminación viral³.

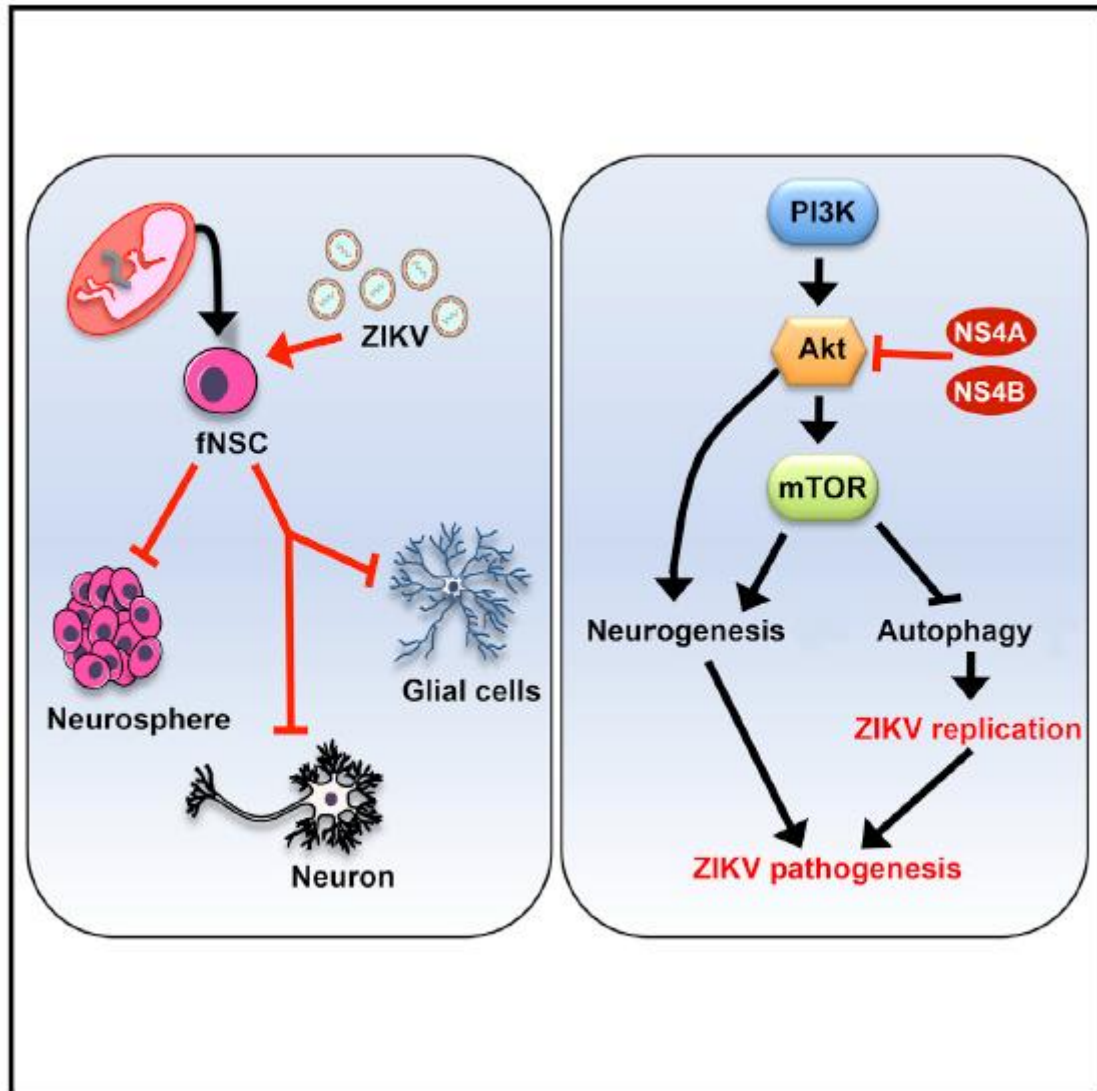


Figura 11. Izquierda: ZIKV infecta células madre neurales fetales (fNSC) alterando la neurogénesis normal. **Derecha:** se muestra la interacción entre ZIKV y la vía de señalización Akt-mTOR implicada en los mecanismos de neurogénesis y autofagia. Figura adaptada de Liang *et al.* (2016)²¹.

Por último, se ha reportado que ZIKV produce alteraciones en la regulación de numerosos genes y, por lo tanto, en sus perfiles de expresión. Se describe la regulación por ZIKV de genes involucrados en las respuestas inmune (innata y adaptativa) e inflamatoria (Figura 9) y de la biología y desarrollo celular^{11,20}.

Los genes expresados diferencialmente (DEG) inducidos por ZIKV, se compararon con aquellos relacionados con la patogénesis de enfermedades neurológicas humanas conocidas (Tabla 2) y la condición con la mayor representación fue la microcefalia (70%). Destacan además los desórdenes

congénitos del sistema nervioso central (60%), la epilepsia (43%), y con menor representación la encefalitis, el SGB y la enfermedad desmielinizante¹¹.

Tabla 2. Fenotipos clínico-neurológicos asociados con DEG de ZIKV. Se muestran, a modo de ejemplo, algunos de los fenotipos de enfermedades neurológicas humanas (microcefalia, desórdenes congénitos del sistema nervioso central y SGB) relacionados con los genes expresados diferencialmente (DEG) por ZIKV. Tabla adaptada de Rolfe *et al.* (2016)¹¹.

Disease	Gene symbol	Gene name
Microcephaly	DYRK1A	Dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 1A
	MCPH1	Microcephalin 1
	CASK	Calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase (MAGUK family)
	PHGDH	Phosphoglycerate dehydrogenase
	ARFGEF2	ADP-ribosylation factor guanine nucleotide-exchange factor 2
	ASPM	Asp (abnormal spindle) homolog, microcephaly associated
	CENPJ	Centromere protein J
	CEP152	Centrosomal protein 152 kDa
	SLC25A19	Solute carrier family 25 (mitochondrial thiamine pyrophosphate carrier), member 19
	WDR62	WD repeat domain 62
	CDK5RAP2	CDK5 regulatory subunit associated protein 2
	CASC5	Cancer susceptibility candidate 5
	NBN	Nibrin
	EFTUD2	Elongation factor Tu GTP binding domain containing 2
	IER3IP1	Immediate early response 3 interacting protein 1
	STIL	SCL/TAL1 interrupting locus
	CEP135	Centrosomal protein 135 kDa
	ZNF335	Zinc finger protein 335
	NDE1	nudE nuclear distribution E homolog 1
	DIAPH1	Diaphanous homolog 1
Congenital nervous system disorders	MCPH1	Microcephalin 1
	ARFGEF2	ADP-ribosylation factor guanine nucleotide-exchange factor 2 (brefeldin A-inhibited)
	TGIF1	TGFB-induced factor homeobox 1
	GRIN2B	Glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2B
	SLC12A5	Solute carrier family 12 (potassium/chloride transporter), member 5
	FLNA	Filamin A, alpha
	SIX3	SIX homeobox 3
	SHH	Sonic hedgehog
	CDK5RAP2	CDK5 regulatory subunit associated protein 2
	NDE1	nudE nuclear distribution E homolog 1
	WDR62	WD repeat domain 62
	ASPM	Asp (abnormal spindle) homolog, microcephaly associated
	CENPJ	Centromere protein J
	STIL	SCL/TAL1 interrupting locus
	FKTN	Fukutin
	POMGNT1	Protein O-linked mannose beta1,2-N-acetylglucosaminyltransferase
	CEP152	Centrosomal protein 152 kDa
	POMT2	Protein-O-mannosyltransferase 2
	GLI2	GLI family zinc finger 2
	ZNF335	Zinc finger protein 335
GBS	FAS	Fas (TNF receptor superfamily, member 6)

Es posible que el receptor TLR3 (Toll-like receptor 3) esté relacionado con la neuropatología del ZIKV, dado que su inhibición redujo los efectos fenotípicos

de la infección, y que su activación afectó a 41 genes del desarrollo neurológico¹⁵. Sumado a esto, un estudio reciente sugiere que la interacción específica de NS4A de ZIKV con proteínas humanas involucradas en el desarrollo cerebral, como ANKL2, contribuyen al desarrollo de neuropatía. Concretamente, las mutaciones de ANKLE2 causan una microcefalia autosómica recesiva en humanos²².

Se desconoce aún el momento preciso de la infección placentaria y fetal y la relación con la viremia materna, o mismo si existe una correlación entre viremia prolongada y desarrollo de SCZ¹⁴. Las diferencias en la permeabilidad de la BHE en las distintas etapas del desarrollo fetal, podrían explicar la mayor susceptibilidad frente a ZIKV en los meses tempranos de la gestación¹⁵.

La interfaz uterino-placentaria presenta múltiples objetivos celulares y mediadores candidatos en la infección por ZIKV⁷ (Figura 12). La capa formada por el sincitiotrofoblasto es la primera defensa epitelial de la barrera sanguínea materno-fetal, y son las primeras células que ZIKV encuentra durante la infección fetal. De hecho, el INF tipo III producido por el sincitiotrofoblasto, permite una protección autocrina, y subsecuentemente previene la infección del feto³.

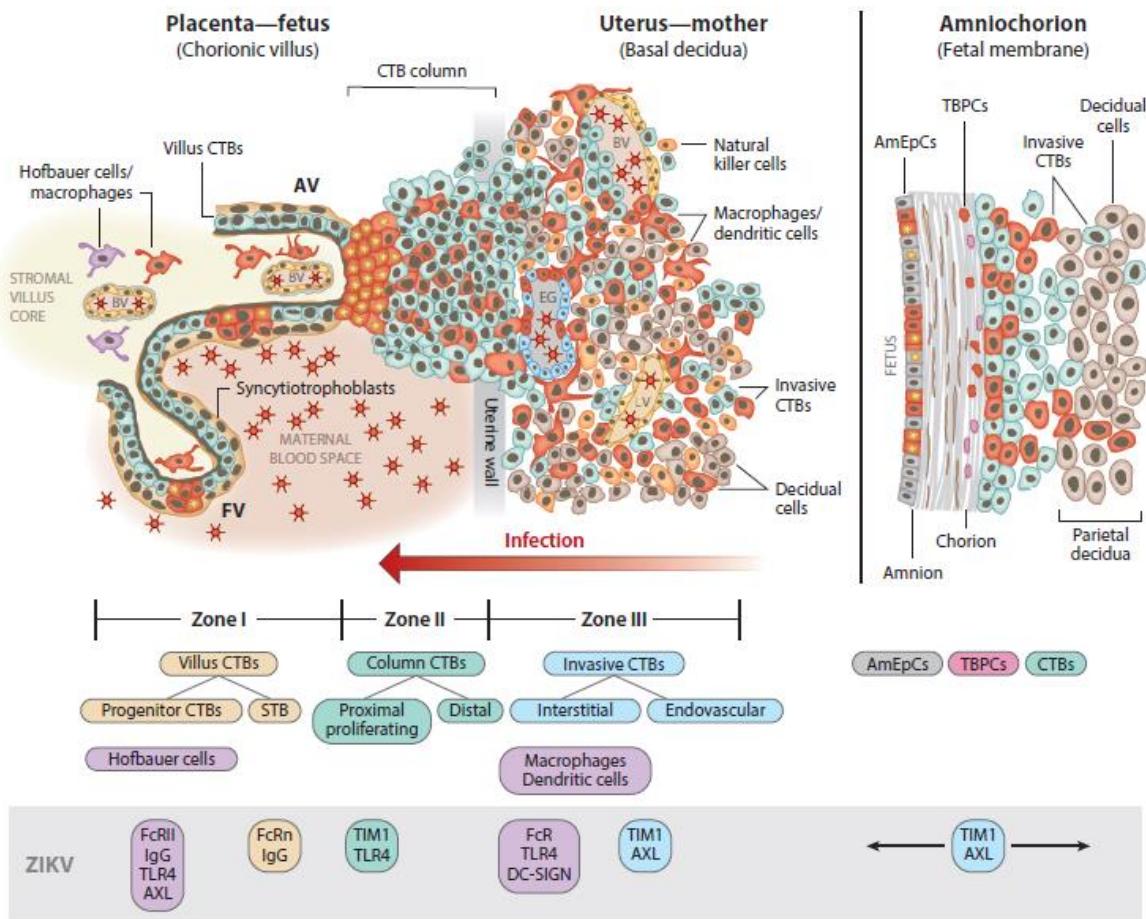


Figura 12. Objetivos celulares de ZIKV en la interfaz uterino-placentaria y mediadores candidatos. **Izquierda:** interfaz uterino-placentaria que representa la infección (citoplasma rojo) y replicación del ZIKV en explantes de vellosidades coriónicas (del primer trimestre) y células placentarias primarias. La flecha roja indica la dirección de transmisión de la infección. En explantes de vellosidades coriónicas del primer trimestre, ZIKV replica en células de Hofbauer (macrófagos fetales) (Zona I), en sitios de brotes de vellosidades (Zona I), y en columnas celulares proximales de CTB proliferante (Zona II). En la decidua basal, ZIKV se replica en células epiteliales de EG, macrófagos/células dendríticas, células deciduales estromales y leucocitos en LV (Zona III). **Derecha:** ZIKV infecta (citoplasma rojo) AmEpC proliferantes de la membrana amniótica y TBPC en la membrana coriónica (núcleos dentados amarillos). **Abajo:** cofactores celulares candidatos para infección en células placentarias infectadas por ZIKV mediada por la unión de IgG-virión a FcR, y receptores para respuestas inmunitarias antivirales (AXL, TIM1: inmunoglobulina de células T y proteína de dominio 1 de mucina; TLR4: receptor tipo Toll 4). Abreviaturas: AmEpC: células epiteliales amnióticas; AV: vellosidades de anclaje; BV: vaso sanguíneo; CTB: citotrofoblasto; EG: glándula endometrial; FcR: receptor Fc; FV: vellosidades flotantes; IgG: inmunoglobulina G; LV: vaso linfático; TBPC: células progenitoras de trofoblasto. Ilustración adaptada de adaptada de Pereira (2018)⁷.

Respecto de la infección por ZIKV y transmisión vertical, se consideran dos hipótesis sobre el papel de la placenta. La primera es que la placenta transmite directa o indirectamente el virus al embrión o feto. Alternativamente, la placenta

misma podría estar generando una respuesta a la exposición y contribuir o causar el defecto cerebral (Figura 13). Posiblemente estas teorías sean alternativas y/o complementarias, dependiendo de la edad gestacional⁹.

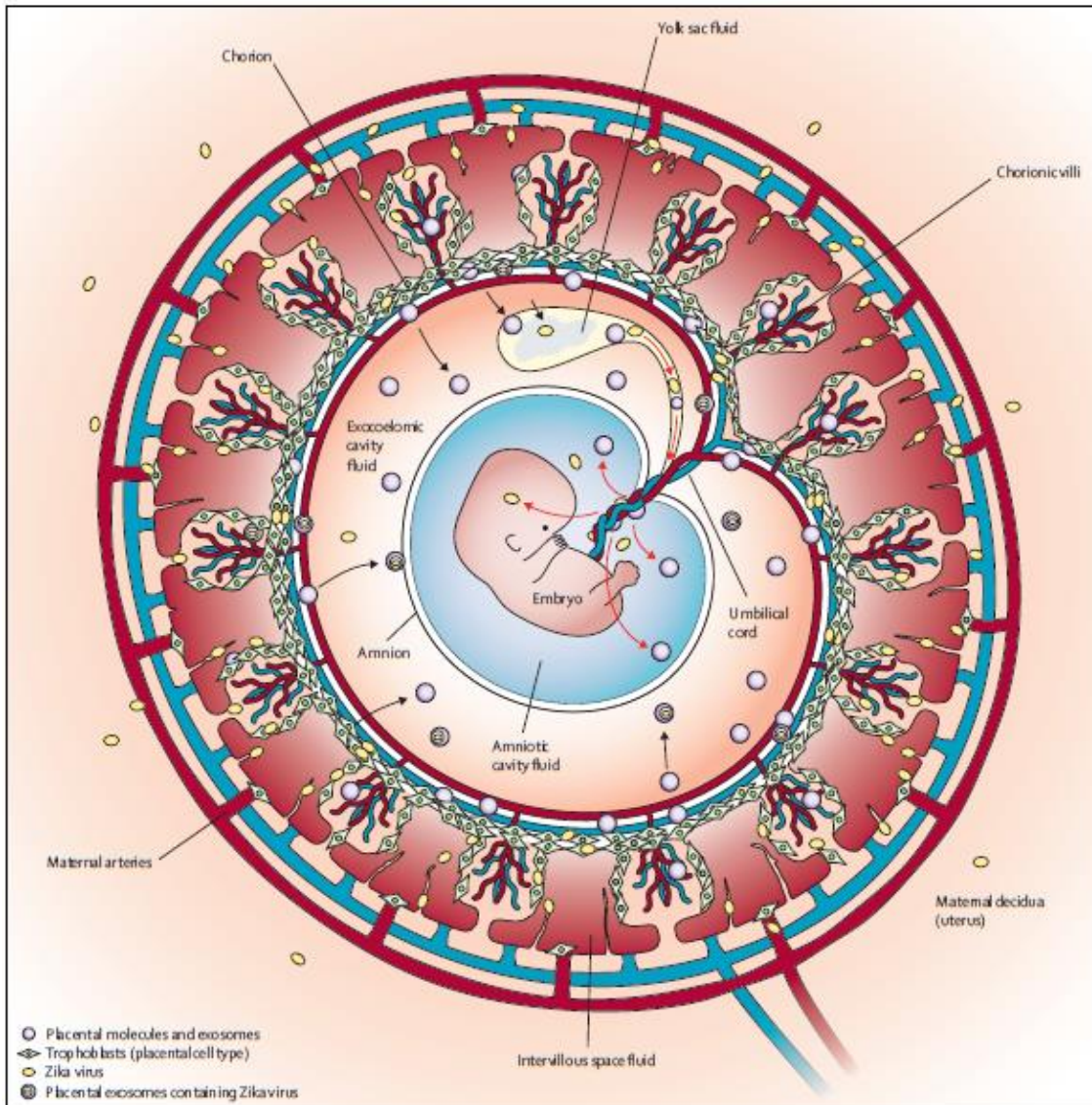


Figura 13. Interfaz materno-fetal y ZIKV. Se muestra el saco gestacional en el primer trimestre antes del inicio del flujo sanguíneo materno-placentario. La placenta formada por el corion y las vellosidades coriónicas rodean al embrión y llevan a cabo la síntesis y secreción de moléculas que pueden alcanzarlo. Se observan los diferentes tipos de transferencia de ZIKV: directa y libre a través de las capas de trofoblasto, e indirecta mediada por exosomas placentarios y transferencia mínima o nula. Ilustración adaptada de Adibi *et al.* (2016)⁹.

La teoría de la transferencia directa alude a la posibilidad de que ZIKV tenga propiedades neurotrópicas, acceda directamente y dañe el cerebro en

desarrollo. Implica la presencia del virus en etapas tempranas del desarrollo cerebral. El flujo sanguíneo materno hacia la placenta comienza a las 10 semanas de gestación, por lo tanto, el virus accedería desde las secreciones provenientes de glándulas uterinas, la filtración a través de los tapones trofoblásticos, o la difusión de concentraciones virales, en etapas previas a la concepción, hacia los sacos amniótico y vitelino en formación⁹. De forma indirecta, el virus como parte de un inmunocomplejo con anticuerpos maternos, podría ser transportado a través de la placenta con la ayuda de receptores gamma Fc (FcγR). Sin embargo, es menos probable que este proceso ocurra antes de las 16 semanas de gestación. La transcitosis (Figura 14) mediada por anticuerpos permitiría a ZIKV acceder al compartimento fetal sin dañar la barrera placentaria¹⁴. ZIKV podría, además, convertirse en una especie de cargo de exosomas placentarios y dirigirse al neuroepitelio embrionario o fetal⁹, causando infección como el virión y pasando, además, inadvertido para el sistema inmune. En fetos infectados, se ha observado que los macrófagos de Hofbauer permanecen por tiempo y con una densidad mayor a la habitual. Además, son capaces de infectarse y se especula con que pueden moverse libremente entre los tejidos coriónicos y actuar como un transportador permitiendo que ZIKV infecte al feto^{3,20} (Figura 12).

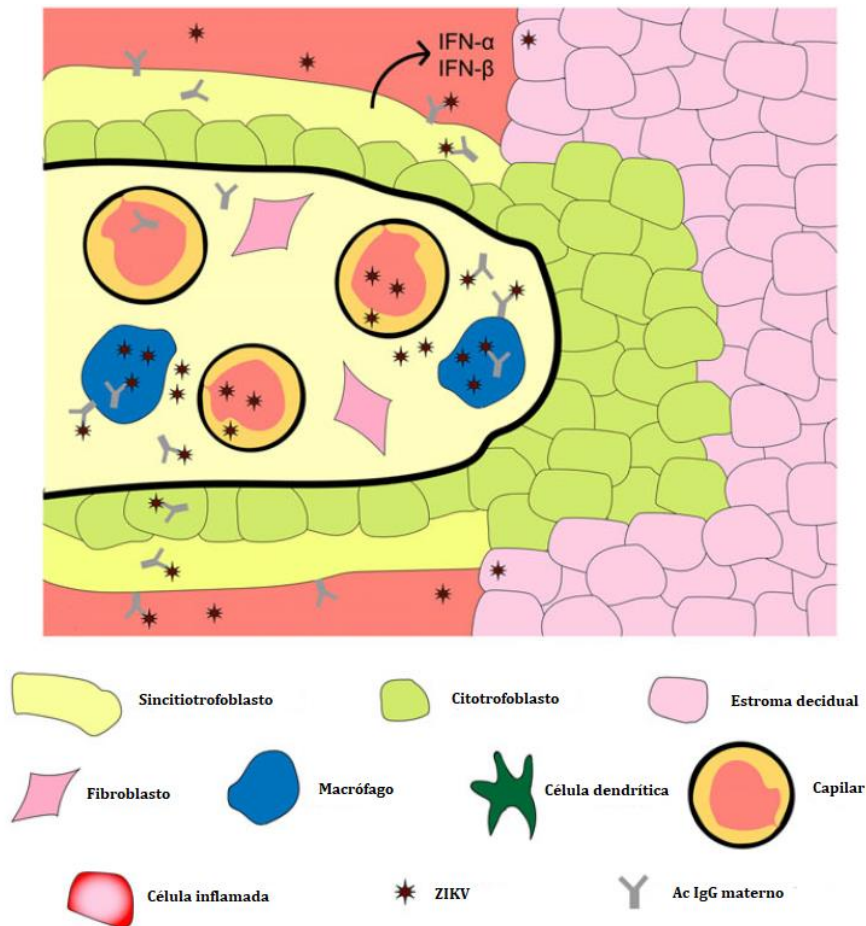


Figura 14. Transmisión indirecta de ZIKV. Se observa como los anticuerpos que se unen al ZIKV, con baja afinidad y baja avidéz, permiten la transmisión transplacentaria sin alterar la barrera placentaria. En este caso, los defectos congénitos podrían limitarse al sistema nervioso central del feto en desarrollo. Figura adaptada de Robinson *et al.* (2018)¹⁴.

La segunda hipótesis, la de mediación, alude a que la respuesta placentaria es la causa principal del defecto cerebral. El virus interrumpiría la síntesis molecular en las capas externas de la placenta antes de las 10 semanas de gestación. La interrupción de las señales placentarias al cerebro en desarrollo puede causar o contribuir a la microcefalia, incluso en ausencia del virus. La respuesta placentaria invocaría un cambio en el perfil de los marcadores inflamatorios dentro de los órganos fetales. Aún no está claro si las moléculas inflamatorias son producidas por el feto o son liberadas desde la placenta. Una teoría y datos modestos sugieren que la placenta sintetiza y secreta moléculas que son esenciales para el desarrollo normal del cerebro fetal. En otro escenario, vías específicas o moléculas sintetizadas por la placenta podrían ser interrumpidas, como la de los llamados genes de microcefalia (es decir, MCPH1-12, CEP63 y CASC5)⁹.

4.5 Complicaciones neurológicas y síndrome congénito: manifestaciones clínicas

Entre las complicaciones graves de la infección por ZIKV, por su impacto, severidad clínica y la posibilidad de afectar a individuos de cualquier edad, merecen una especial atención las de tipo neurológico (Figura 15).

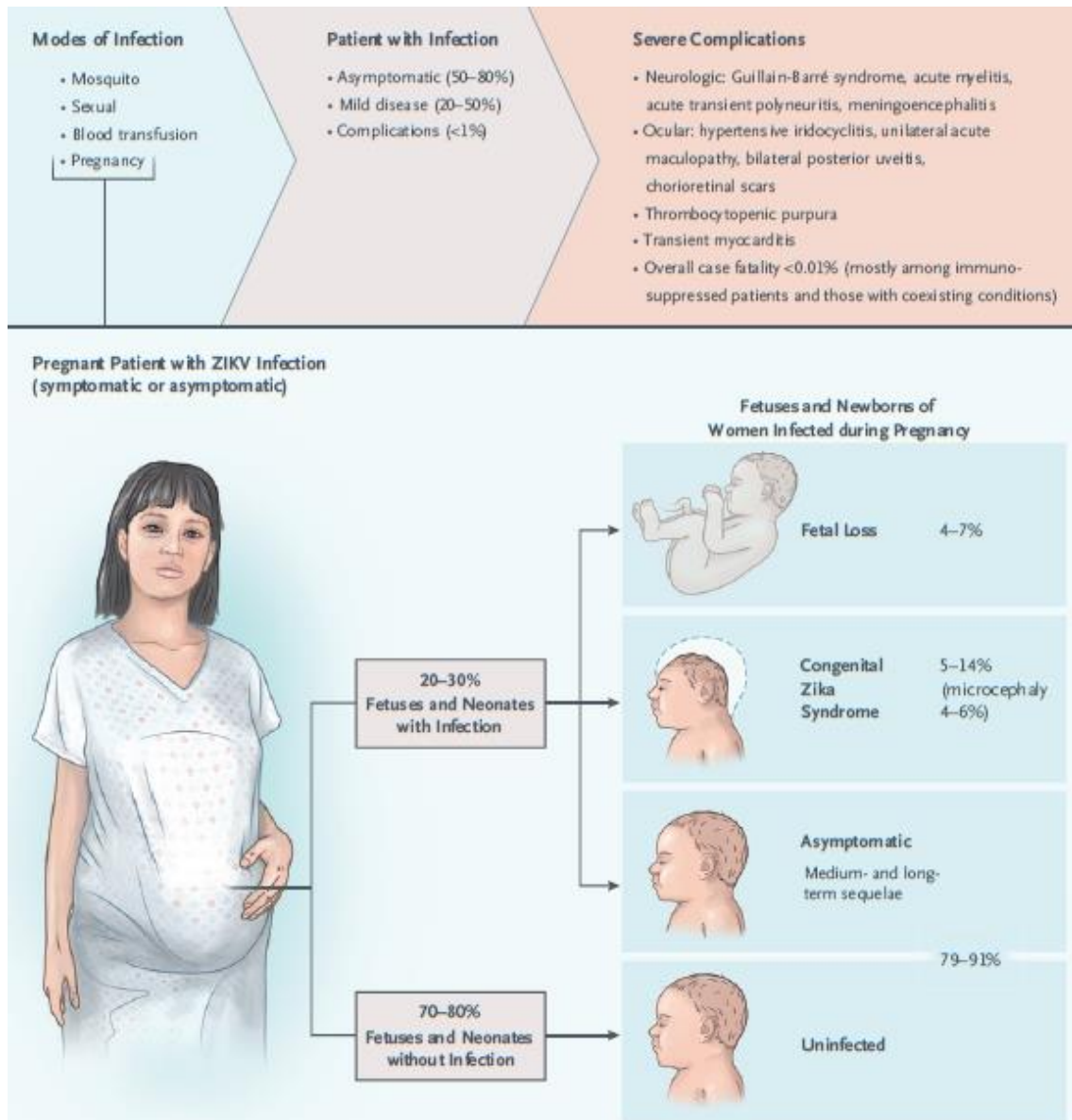


Figura 15. Características clínicas y transmisión de ZIKV. Se muestran los modos de transmisión, complicaciones observadas en los adultos y neonatos, la historia natural de la infección durante la gestación y el nacimiento, así como los porcentajes estimados de transmisión vertical, aborto, SCZ y secuelas a mediano y largo plazo. Ilustración adaptada de Dieder Musso *et al.* (2019)⁵.

El espectro y el riesgo de SCZ aún no se conocen por completo (Tabla 3). La afección fetal, ocurriría independientemente de la presencia de sintomatología materna⁵ o del trimestre de embarazo en el cual pueda ocurrir la infección^{1,23}. La evidencia indica que el mayor riesgo para el desarrollo de microcefalia sería en el primer trimestre⁶. La transmisión vertical no ocurrirá en todas las embarazadas infectadas, así como la infección congénita no será observada en todos los fetos expuestos a ZIKV (Figura 15). Así, algunos recién nacidos infectados permanecerán asintomáticos o con síntomas menores¹, mientras que otros presentarán alteraciones funcionales mayores (Tabla 3). La ausencia de microcefalia, así como de otras anomalías clínicas o de imágenes no descarta el riesgo de alteraciones a mediano y largo plazo³. Aunque se requieren mejores estimaciones, la mortalidad neonatal del SCZ podría ser de un 4 a 7%⁵.

Tabla 3. Aspectos clave del SCZ. Se describen las manifestaciones clínicas de las lesiones estructurales y funcionales. El * indica aquellas lesiones raramente observadas en otras infecciones congénitas. Tabla adaptada de Didier Musso *et al.* (2019)⁵.

Lesion Type	Manifestations
Structural lesions	
Fetal brain disruption sequence*	Severe microcephaly, premature closure of fontanelles, collapsed skull, overlapping sutures, redundant scalp skin
Brain abnormalities	Cortical atrophy with decreased myelination, cerebellar hypoplasia Neuronal migration disorder — lissencephaly, agyria, pachygyria, polymicrogyria, heterotopia, dysgenesis of corpus callosum Calcifications, mainly subcortical* Ventriculomegaly, increased posterior fossa and pericerebral spaces
Ocular abnormalities	Pigmented retinal mottling*, chorioretinal atrophy*, macular scarring, glaucoma, optic nerve atrophy and abnormalities, intraocular calcifications Microphthalmia, anophthalmia Iris coloboma, lens subluxation, cataract
Congenital contractures	Arthrogryposis, talipes equinovarus, hip dislocation
Intrauterine growth restriction	
Functional lesions	
Seizures	
Pyramidal or extrapyramidal abnormalities*	Body tone abnormalities (mainly hypertonia), swallowing disorder, movement abnormalities (dyskinesia, dystonia), hyperexcitability, impatient crying, sleep disorders
Neurodevelopmental abnormalities	Visual impairment (strabismus, nystagmus, vision loss) Hearing loss or deafness Developmental delay

Por su parte, en adultos, se han reportado casos de meningoencefalitis, mielitis aguda, SGB y alteraciones de la retina que dan cuenta del neurotropismo de ZIKV^{5,6,15} (Figura 15).

4.6 Tratamiento

No existe un tratamiento específico para la infección por ZIKV o sus complicaciones. El principal objetivo de una terapia es evitar el desarrollo del SCZ²⁴. Actualmente, se investigan fármacos antivirales (Figura 16, Tabla 4), algunos de los cuales se utilizan en otras patologías¹⁵.

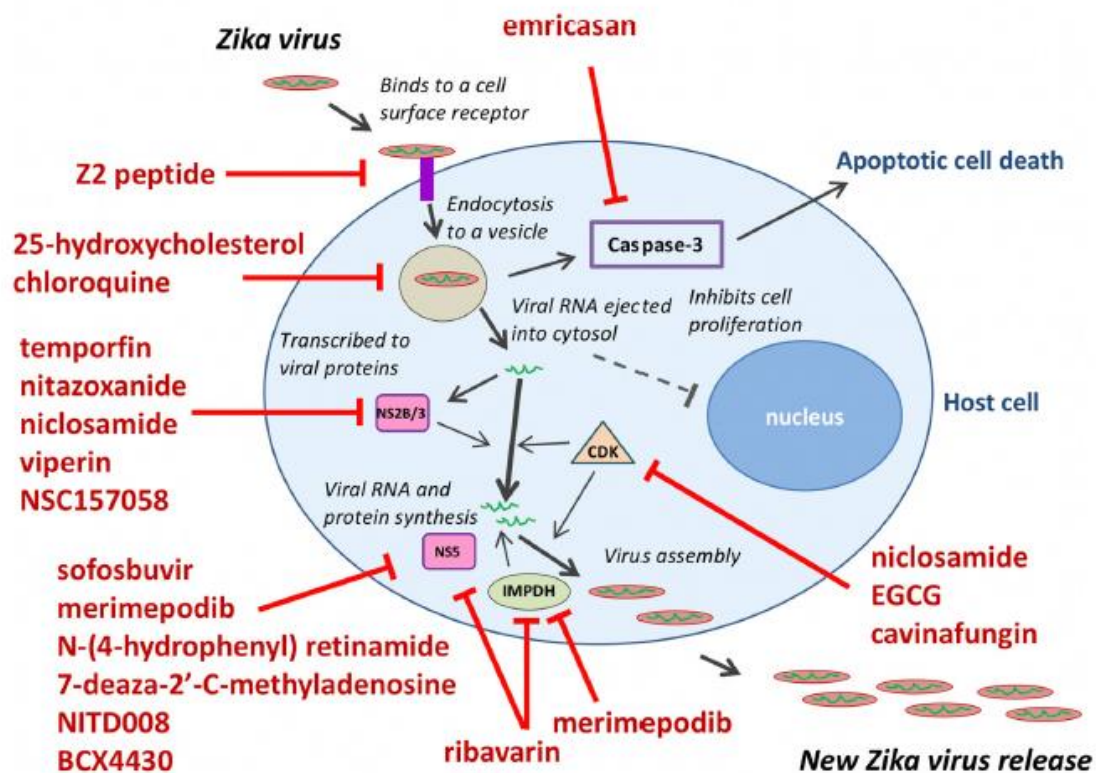


Figura 16. Potenciales fármacos anti-ZIKV dirigidos a los diferentes pasos del ciclo viral o procesos celulares: 1) actividad caspasa-3 y muerte celular (emricasan). 2) entrada viral (péptido Z2). 3) homeostasis de lípidos y autofagia que impide la liberación viral, luego de la endocitosis (25-hidroxicolesterol y cloroquina). 4) bloqueo de la actividad proteasa NS2B/NS3 y replicación viral (temporfin, nitazoxanida, niclosamida y viperina). 5) bloqueo de la actividad de la polimerasa NS5 y la replicación viral (sofosbuvir, merimepodib, N-(4-hidrofenil) retinamida, 7-deaza-2'-C-metiladenosina, NITD008, BCX4430 y ribavirina). 6) bloqueo de la enzima IMPDH involucrada en la síntesis de novo de los nucleótidos de guanina (ribavirina y merimepodib). 7) bloqueo de la quinasa dependiente de ciclina (CDK) y replicación viral (niclosamida, EGCG y cavinafungina). Figura adaptada de Gorshkov *et al.* (2019)¹⁵.

Tabla 4. Fármacos antivirales en investigación: mecanismo de acción (antivirales de acción directa, dirigidos contra objetivos virales, o antivirales dirigidos a los componentes celulares necesarios para el ciclo viral) y actividad in vivo e in vitro. La X indica prueba no realizada y el * señala la droga en ensayo clínico. Tabla adaptada de Baz *et al.* (2019)¹³.

Direct-Acting Antivirals			
Name	Mode of action	In vitro	In vivo
7-deaza-2-CMA	RdRp inhibitor	✓	✓
2-CMA, 2-CMC, 2-CMG, 2-CMU	RdRp inhibitor	✓	X
Favipiravir	RdRp inhibitor	✓	X
NITD008	Pyrimidine synthesis inhibitor	✓	✓
Sofosbuvir	RdRp inhibitor	✓	✓
BCX4430 *	RdRp inhibitor	✓	✓
Sinefungin	Pan-methyltransferase inhibitor	✓	X
Myricetin, quercetin, luteolin, isorhamnetin, apigenin, curcumin	NS2B-NS3 protease inhibitor	✓	X
Niclosamide, and nitazoxanide	NS2B-NS3 protease inhibitor	✓	X
Temoporfin	NS2B-NS3 protease inhibitor	✓	✓
Novobiocin	NS2B-NS3 protease inhibitor	✓	✓
Suramin	NS3 inhibitor	✓	X
Host-Targeting Antivirals			
Name	Mode of action	In vitro	In vivo
Ribavirin	Several mechanisms including purine synthesis inhibitor	✓	✓
Merimepodib and mycophenolic acid	Inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) inhibitors	✓	X
Azathioprine	Purine synthesis inhibitor	✓	X
6-azauridine, 5-fluorouracil	Pyrimidine synthesis inhibitor	✓	X
lovastatin	HMG-CoA reductase inhibitor	✓	X
Azithromycin	Unknown mechanisms of action against ZIKV	✓	X
Chloroquine	Inhibition of pH-dependent steps of viral replication	✓	X
Saliphenylalamide	Viral entry inhibitor	✓	X
Obatoclax mesylate (GX15-070)	Bcl-2 protein inhibitor	✓	X
PHA-690509	Cyclin-dependent kinase inhibitor	✓	X
MK-801, agmatine, and ifenprodil	Neuronal cell death inhibitor	✓	X
Memantine	Neuronal cell death inhibitor	✓	✓

Numerosas vacunas están siendo investigadas, y se encuentran en distintas fases de ensayos clínicos^{24,25,26} (Tabla 5). En la Tabla 6 se recogen las diferentes estrategias para el desarrollo de una vacuna contra el ZIKV. Por otra parte, el anticuerpo monoclonal (mAb) Tyzivumab, que reconoce epítopos en la proteína E, se encuentra en fase de ensayo clínico para el estudio de su seguridad y tolerabilidad en la infección aguda por ZIKV^{13,15,27}.

Tabla 5. ZIKV: Vacunas candidatas en ensayos clínicos. Se detalla el inmunógeno (prME o virus entero) y su plataforma (ADN, vector recombinante, organismo inactivado y mRNA), la fase del ensayo clínico (I o II) y estado correspondiente (abierto o en curso). Tabla adaptada de Makhluaf *et al.* (2018)²⁵.

Vaccine Candidate	Sponsor	Platform	Trial Registry ID	Immunogen	Phase	Status
VRC-ZKADNA085-00-VP	NIAID	DNA	NCT02840487	prME	1	Ongoing, not recruiting
VRC-ZKADNA090-00-VP	NIAID	DNA	NCT02996461	prME	1	Ongoing, not recruiting
VRC-ZKADNA090-00-VP	NIAID	DNA	NCT03110770	prME	2	Open, recruiting
GLS-5700	GeneOne Life Science/Inovio Pharmaceuticals	DNA	NCT02809443	prME	1	Ongoing, not recruiting
GLS-5700	GeneOne Life Science/Inovio Pharmaceuticals	DNA	NCT02887482	prME	1	Ongoing, not recruiting
MV-Zika	Themis Bioscience	Recombinant viral vector	NCT02996890	prME	1	Ongoing, not recruiting
mRNA-1325	Moderna Therapeutics	mRNA	NCT03014089	prME	2	Open, recruiting
ZIKV PIV	NIAID	Inactivated whole target organism	NCT02963909	whole virus	1	Ongoing, not recruiting
ZIKV PIV	NIAID	Inactivated whole target organism	NCT02952833	whole virus	1	Open, recruiting
ZIKV PIV	BIDMC	Inactivated whole target organism	NCT02937233	whole virus	1	Ongoing, not recruiting
ZIKV PIV	NIAID	Inactivated whole target organism	NCT03008122	whole virus	1	Open, recruiting

BIDMC: Beth Israel Deaconess Medical Center; NIAID: National Institute of Allergy and Infectious Diseases; PIV: purified inactivated vaccine; prME: premembrane and envelope proteins.

Tabla 6. Estrategias en el desarrollo de una vacuna contra el ZIKV. Se describe el inmunógeno empleado y su vía o estrategia para vehicular la vacuna, objetivo y retos a solventar.

Vacunas	Inmunización	Objetivo	Retos a solventar
Inmunógeno empleado para inmunizar	Vía o estrategia para vehicular la vacuna	- Estimular la inmunidad humoral (anticuerpos en concentración y por tiempo adecuados) y celular (LT CD4+, CD8+ ^{25,26,28}).	- Fenómeno ADE (riesgo de enfermedad atípica o grave ²⁵). - Estado proinflamatorio: tormenta de citoquinas. - Respuesta placentaria alterada.
El propio virus inerte	Inactivado químicamente, por calor o radiación, o combinaciones de estos tratamientos.		
El propio virus infectivo	Infectivo pero atenuado.		
Vector viral recombinante	Empleando virus conocidos no infectivos, para vehicular el gen de interés del ZIKV.		
Vector viral recombinante infectivo	Empleando virus conocidos infectivos, pero seguros, para vehicular el gen de interés del ZIKV.		
Ácido nucleico: ADN	Inyectado desnudo y codificando el gen de interés del virus.		
Ácido nucleico: ARN polaridad +	Encapsulado en liposomas y codificando el gen de interés del virus.		
Proteínas virales o subunidades de estas proteínas	Empleadas desnudas o incorporadas a liposomas, dendrímeros o VLP (virus like particles).		
mAb (anticuerpos monoclonales)	Purificados de animales y humanizados, o de pacientes convalecientes.		

Luego del análisis de la bibliografía y teniendo en cuenta los aspectos claves en la patogenia de las complicaciones neurológicas, se recogen en la siguiente tabla (Tabla 7) los mecanismos, herramientas y proteínas consideradas como posibles estrategias y/o dianas terapéuticas:

Tabla 7. Dianas terapéuticas: propuesta para el desarrollo de terapias anti ZIKV.

Propuesta de dianas terapéuticas	
Diana	Comentario
Proteína E	Glicosilación en residuo Asn154: neurovirulencia e infectividad de la cepa asiática ³ .
Proteína prM	Sustitución del aminoácido serina por asparagina (S139N): infectividad y virulencia ^{10,19} .
Proteína NS1	Evolución específica de tejido: SCZ ³ .
Proteínas NS4A y NS4B	Determinantes en la patogénesis. Glicosilación de NS4B: infectividad y virulencia de los flavivirus ³ .
Proteína NS5	Respuesta diferencial de INF tipo I y tipo II: ambiente proinflamatorio ³ .
sfARN	Resistencia a las exonucleasas y la reducción de la transcripción de INF tipo I ³ .
miARN	Los microARN desempeñan un papel durante la infección por ZIKV al regular procesos celulares e impactar en replicación viral ²⁰ .
Receptor Axl	Entrada viral, apoptosis y respuesta inmune innata. Anticuerpos neutralizantes o ARN interferentes (siRNA; "short interference RNA") dirigidos contra el ARNm del gen Axl y los Inhibidores, MYD1 y R428, han reducido drásticamente infección por ZIKV ¹⁰ .
Vía Akt-mTOR	Irrupción de la neurogénesis y autofagia aberrante ^{3,9} .
Autofagia	Su estimulación podría reducir los efectos neurotóxicos ⁹ .
Vías proinflamatorias en hNPC	El estudio de su perfil de expresión podría contribuir al desarrollo de nuevas terapias ¹¹ .
Ig G específica	Anticuerpos DENV: podrían reducir el riesgo de infección y enfermedad, e incluso reducir la gravedad de la infección congénita por ZIKV (IgG materna) ^{5,7} .
Receptores TIM1, TLR4, fracción Fc IgG, macrófagos de Hofbauer, mecanismos de transcitosis y exomas placentarios y fetales	Dianas de la interfaz materno-fetal y desarrollo neurológico ^{7,9,14,15} .
Receptor TLR3	Expresión de genes del neurodesarrollo ¹⁵ .
Proteína ANKL2	Desarrollo de microcefalia autosómica recesiva ²² .

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Conclusiones: Podemos concluir que ZIKV es un virus neurotrópo y neurovirulento. Su expansión geográfica y mutaciones han determinado su patogenicidad, y su reciente forma de transmisión interhumana, denota la complejidad de esta infección. ZIKV interacciona con receptores y vías específicas de daño neurológico, a la vez que modifica la expresión génica de vías de la inflamación, inmunidad, biología y desarrollo celular. El papel de la placenta es determinante, no solo en la permisividad sino en su posible efecto teratógeno y consecuente daño fetal inducido por ZIKV. El diagnóstico de infección debe ser inequívoco y fiable, permitir la asignación de causalidad ante la aparición de una complicación neurológica, y por lo tanto, debe mejorarse.

Perspectivas: Las graves complicaciones y secuelas neurológicas por ZIKV suponen un gran desafío para cualquier sistema sanitario, y aún existen brechas de conocimiento que deben estudiarse (Tabla 8). Los casos parecen haber disminuido en los últimos años, pero el virus permanece como una amenaza para la salud pública, por lo que su investigación debe mantenerse como una prioridad. Estudiar el ZIKV supone también comprender a otros flavivirus que en el futuro puedan ocasionar complicaciones similares.

Dada la gravedad de las manifestaciones clínicas, deben desarrollarse y ampliarse las dianas terapéuticas. Se requiere de una vacuna que estimule tanto la inmunidad humoral como celular, que evite la tormenta de citoquinas proinflamatorias y una respuesta placentaria alterada. La implicancia de los anticuerpos, como factores de riesgo (ADE) o de protección, se considera clave para la obtención de una terapia eficaz.

Por último, pero no por ello menos importante, cabe decir que esta pandemia deja al descubierto aspectos críticos de justicia social, como la pobreza, los derechos reproductivos de las mujeres, el acceso al aborto seguro, así como el estigma que generan. Problemática que se debe abordar con la misma fuerza que los aspectos epidemiológicos, sintomatológicos y moleculares de la enfermedad.

Tabla 8. . Brechas de conocimiento de la infección por ZIKV.

Brechas de conocimiento	
Conocimiento	Brecha
Epidemiología	- Incidencia y prevalencia de complicaciones neurológicas. - Seroprevalencia en embarazadas.
Linaje	- Neurovirulencia de la cepa africana.
Inmunidad	- Impacto del fenómeno ADE. - Efecto de la infección o vacunación por otros flavivirus en la infección por ZIKV.
Transmisión	- Porcentajes de transmisión materna y afección fetal. - Infectividad y duración de las secreciones genitales femeninas y semen ¹ . - Nuevos reservorios virales y capacidad infectiva (por ejemplo sudor o secreción ocular). - Vía de transmisión como condicionante de la gravedad clínica.
Diagnóstico de laboratorio	- Dinámica de la carga viral y posibilidad de diagnóstico. - Test rápido (adaptado a países de bajos recursos) ¹ . - Especificidad, sensibilidad y valor predictivo negativo de RT-PCR en líquido amniótico ¹ . - Marcadores predictivos de infección materno-fetal.
Manifestaciones clínicas	- Espectro e incidencia de complicaciones y secuelas a mediano y largo plazo en recién nacidos asintomáticos, con sintomatología inaparente o indetectable.
Regulación génica	- Predisposición genética individual. - Mecanismo de ZIKV de regulación de genes del neurodesarrollo. - Genes afectados por ZIKV asociados al riesgo de complicaciones neurológicas. - Impacto de la regulación génica de ZIKV en el adulto, niño o recién nacido.
Cofactores	- Espectro de cofactores que colaboran en el desarrollo de complicaciones neurológicas.
Tratamiento	- Impacto a nivel sistémico en la manipulación de vías de inflamación, anticuerpos monoclonales o silenciamiento génico como dianas terapéuticas. - Tratamiento sintomático de las complicaciones y secuelas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Baud D, Gubler DJ, Schaub B, Lanteri MC, Musso D. An update on Zika virus infection. *Lancet*. 2017;390(10107):2099-2109. doi:10.1016/S0140-6736(17)31450-2.
- 2) McCloskey B, Endericks T. The rise of Zika infection and microcephaly: what can we learn from a public health emergency?. *Public Health*. 2017;150:87-92. doi:10.1016/j.puhe.2017.05.008.
- 3) Beaver JT, Lelutiu N, Habib R, Skountzou I. Evolution of Two Major Zika Virus Lineages: Implications for Pathology, Immune Response, and Vaccine Development. *Front Immunol*. 2018;9:1640. doi:10.3389/fimmu.2018.01640.
- 4) Organización Panamericana de la Salud (OPS). Guía para la vigilancia de la enfermedad por el virus del Zika y sus complicaciones. 2016. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/28234>.
- 5) Musso D, Ko AI, Baud D. Zika Virus Infection - After the Pandemic. *N Engl J Med*. 2019;381(15):1444-1457. doi:10.1056/NEJMra1808246.
- 6) Petersen LR, Jamieson DJ, Powers AM, Honein MA. Zika Virus. *N Engl J Med*. 2016;374(16):1552-1563. doi:10.1056/NEJMra1602113.
- 7) Pereira L. Congenital Viral Infection: Traversing the Uterine-Placental Interface. *Annu Rev Virol*. 2018;5(1):273-299. doi:10.1146/annurev-virology-092917-043236.
- 8) Runge-Ranzinger S, Morrison AC, Manrique-Saide P, Horstick O. Zika transmission patterns: a meta-review. *Trop Med Int Health*. 2019;24(5):523-529. doi:10.1111/tmi.13216.
- 9) Adibi JJ, Marques Jr. ETA, Abigail Cartus A, Beigi RH. Teratogenic effects of the Zika virus and the role of the placenta. *Lancet* 2016;387: 1587–90. doi:10.1016/S0140-6736(16)00650-4.
- 10) Meertens L, Labeau A, Dejarnac O, et al. Axl Mediates ZIKA Virus Entry in Human Glial Cells and Modulates Innate Immune Responses. *Cell Rep*. 2017;18(2):324-333. doi:10.1016/j.celrep.2016.12.045.
- 11) Rolfe AJ, Bosco DB, Wang J, Nowakowski RS, Fan J, Ren Y. Bioinformatic analysis reveals the expression of unique transcriptomic signatures in Zika virus infected human neural stem cells. *Cell Biosci*. 2016;6:42. doi:10.1186/s13578-016-0110-x.

- 12) Swiss Institute of Bioinformatics. *Viral Zone* 2020. <https://viralzone.expasy.org/6756>.
- 13) Baz M, Boivin G. Antiviral Agents in Development for Zika Virus Infections. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2019;12(3):101. doi:10.3390/ph12030101.
- 14) Robinson N, Mayorquin Galvan EE, Zavala Trujillo IG, Zavala-Cerna MG. Congenital Zika syndrome: Pitfalls in the placental barrier. *Rev Med Virol*. 2018;28(5):e1985. doi:10.1002/rmv.1985.
- 15) Gorshkov K, Shiryaev SA, Fertel S, et al. Zika Virus: Origins, Pathological Action, and Treatment Strategies. *Front Microbiol*. 2019;9:3252. doi:10.3389/fmicb.2018.03252.
- 16) Sharma A, Lal SK. Zika Virus: Transmission, Detection, Control, and Prevention. *Front Microbiol*. 2017;8:110. doi:10.3389/fmicb.2017.00110.
- 17) Melo AS, Aguiar RS, Amorim MM, et al. Congenital Zika Virus Infection: Beyond Neonatal Microcephaly. *JAMA Neurol*. 2016;73(12):1407-1416. doi:10.1001/jamaneurol.2016.3720.
- 18) Pedrosa CDSG, Souza LRQ, Gomes TA, et al. The cyanobacterial saxitoxin exacerbates neural cell death and brain malformations induced by Zika virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(3):e0008060. doi:10.1371/journal.pntd.0008060.
- 19) Yuan L, Huang XY, Liu ZY, et al. A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly. *Science*. 2017;358(6365):933-936. doi:10.1126/science.aam7120.
- 20) Lee JK, Shin OS. Advances in Zika Virus-Host Cell Interaction: Current Knowledge and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2019;20(5):1101. doi:10.3390/ijms20051101.
- 21) Liang Q, Luo Z, Zeng J, et al. Zika Virus NS4A and NS4B Proteins Deregulate Akt-mTOR Signaling in Human Fetal Neural Stem Cells to Inhibit Neurogenesis and Induce Autophagy. *Cell Stem Cell*. 2016;19(5):663-671. doi:10.1016/j.stem.2016.07.019.
- 22) Shah PS, Link N, Jang GM, et al. Comparative Flavivirus-Host Protein Interaction Mapping Reveals Mechanisms of Dengue and Zika Virus Pathogenesis. *Cell*. 2018;175(7):1931-1945.e18. doi:10.1016/j.cell.2018.11.028.
- 23) Lucey D, Cummins H, Sholts S. Congenital Zika Syndrome in 2017. *JAMA*. 2017;317(13):1368-1369. doi:10.1001/jama.2017.1553.

- 24) Abbink, P, Stephenson KE, Barouch DH. Zika virus vaccines. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(10): 594–600. doi:10.1038/s41579-018-0039-7.
- 25) Makhluף H, Shresta S. Review Development of Zika Virus Vaccines. *Vaccines* 2018;6, 7. doi:10.3390/vaccines6010007.
- 26) Shan C, Xie X, Shi PY. Zika virus vaccine: Progresses and challenges. *Cell Host Microbe.* 2018;11; 24(1):12–17. doi:10.1016/j.chom.2018.05.021.
- 27) U.S. National Library of Medicine. Clinicaltrial.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03776695?cond=tyzivumab&draw=2&rank=2>.
- 28) Pattnaik A, Sahoo BR, Pattnaik AK. Current Status of Zika Virus Vaccines: Successes and Challenges. *Vaccines (Basel).* 2020;8(2):E266. Published 2020 May 31. doi:10.3390/vaccines8020266.